



A.D. MDLXII

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI SASSARI
FACOLTÀ DI MEDICINA E CHIRURGIA

Scuola di Dottorato in Scienze Biomediche - XXIII Ciclo

Direttore Prof. Eusebio Tolu

Indirizzo Genetica Medica, Malattie Metaboliche e Nutrigenomica
Responsabile Prof. Francesco Cucca

DIPARTIMENTO DI SCIENZE BIOMEDICHE, CENTRO DI GENETICA CLINICA
Direttore Prof. Andrea Montella

**VALUTAZIONE DELL'ATTIVITÀ DI UN
SERVIZIO DI GENETICA CLINICA:
PROBLEMI E PROSPETTIVE**

Tutor:

Prof. Francesco Cucca

Tesi di Dottorato della:

Dott.ssa Lucia Ulgheri

Anno Accademico 2010-2011

INDICE

1. Introduzione pag.	2
La consulenza genetica pag.	5
Fasi e durata pag.	7
Categorie di pazienti pag.	10
Tipologia pag.	11
Implicazioni psicologiche pag.	16
Implicazioni etiche pag.	19
Implicazioni culturali e legali pag.	21
2. Materiali e metodi pag.	27
3. Analisi Statistica pag.	29
4. Risultati pag.	29
5. Casi clinici pag.	39
Caso 1: Xantomatosi cerebro-tendinea pag.	39
Casi 2: ipercolesterolemia familiare recessiva pag.	46
6. Conclusioni pag.	56
7. Bibliografia pag.	57

INTRODUZIONE

La genetica è un settore della medicina in rapida evoluzione. Negli ultimi anni l'affinazione di metodiche già in uso e l'introduzione di nuove metodiche (analisi biochimiche, citogenetica standard, citogenetica molecolare, array-CGH, analisi molecolare e next generation sequencing), hanno portato ad un aumento esponenziale dell'inquadramento genetico di molte patologie. Malattie che un tempo erano ipotizzate su base genetica ma diagnosticate solo dal punto di vista clinico, hanno oggi la possibilità di essere confermate da indagini genetiche specifiche. Negli ultimi decenni sono state inoltre individuate nuove patologie su base genetica¹.

La genetica di laboratorio tuttavia, per quanto avanzata ed in costante progresso, non può sostituire la pratica clinica. L'anamnesi e l'esame obiettivo sono essenziali per la formulazione di un sospetto diagnostico, per la diagnosi differenziale e per la conseguente pianificazione degli esami di approfondimento clinici e genetici². In alcuni casi la diagnosi rimane ancora esclusivamente clinica non essendo ancora disponibili indagini genetiche specifiche che possano dare una conferma di laboratorio.

Attualmente, tutte le patologie possono essere classificate in rapporto all'influenza che fattori ambientali e/o genetici esercitano sull'eziologia della patologia stessa.

Patologie comuni: sono frequenti nella popolazione generale (frequenza superiore ad 1:2.000), hanno eziologia complessa e sono determinate dall'interazione di più fattori, genetici ed ambientali, singolarmente necessari alla loro instaurazione ma da soli non sufficienti. Ne sono un

esempio l'ipertensione arteriosa, il diabete, la psoriasi, la cardiopatia ischemica.

Patologie rare: sono malattie che colpiscono un numero ristretto di persone rispetto alla popolazione generale, con una frequenza in Europa uguale o inferiore a 1:2000. Questa frequenza può variare nel tempo, ad esempio la Sindrome da Immunodeficienza Acquisita (AIDS) per molti anni è stata una malattia estremamente rara, successivamente è diventata rara ed oggi è sempre più frequente in alcune popolazioni. La frequenza delle malattie rare dipende inoltre dall'area geografica considerata: una malattia può essere rara in una regione geografica ma frequente in un'altra (es. β -Talassemia).

Quasi tutte le malattie genetiche sono malattie rare, ma non tutte le malattie rare hanno un'origine genetica. Esistono malattie infettive, autoimmuni o di altra origine non genetica, che sono molto rare e malattie genetiche che hanno una frequenza nella popolazione generale superiore ad 1:2000 (es. rene policistico).

La causa di molte malattie rare non è oggi ancora nota. Sono state al momento classificate non meno di 6.000-7.000 "malattie rare" e ogni settimana, nelle pubblicazioni scientifiche, vengono descritte circa 5 nuove malattie rare.

L'incidenza segnalata di malattie rare dipende dall'accuratezza della definizione della malattia.

Le patologie rare sono tali se considerate singolarmente, ma in realtà complessivamente coinvolgono una percentuale significativa della popolazione europea (6-7%).

La maggior parte delle malattie rare sono croniche, invalidanti e solo in pochi casi si avvalgono di una terapia specifica³.

Le malattie genetiche sono causate in modo esclusivo o parziale da un difetto del patrimonio ereditario.

Le alterazioni possono riguardare:

- il numero o la struttura dei cromosomi;
- la struttura e la funzione dei geni o di clusters di geni. Possono essere monogeniche, oligogeniche (dovute alla coesistenza di mutazioni in 2 o 3 geni) o poligeniche (dovute alla coesistenza di mutazioni in più di 3 geni);
- malattie multifattoriali o complesse, causate dall'interazione tra alterazioni genetiche e ambiente.

Le malattie genetiche necessitano di un approccio diverso rispetto a quello utilizzato dalla clinica delle patologie non genetiche, sia per quel che riguarda la diagnostica clinica e di laboratorio che per quel che riguarda l'approccio al paziente.

La base per l'assistenza ai pazienti affetti da queste patologie sono i Servizi di Genetica Medica.

I Servizi di Genetica Medica sono strutture specialistiche che si occupano della diagnosi, prevenzione e sorveglianza delle patologie genetiche, della presa in carico e della tutela dei pazienti e delle loro famiglie, della formazione del personale e dell'informazione del pubblico. A queste strutture si rivolgono le persone affette da una patologia genetica o ipotizzata tale o che sono a rischio di svilupparla o di trasmetterla.

Le attività svolte presso queste strutture sono rivolte ad aiutare le persone e le loro famiglie a:

- definire la diagnosi della malattia;
- conoscere gli interventi preventivi disponibili;
- effettuare scelte riproduttive responsabili;
- trovare il migliore adattamento possibile alla loro condizione;

- ottenere informazioni sugli sviluppi scientifici
- identificare i servizi terapeutici, riabilitativi e sociali di supporto.

La genetica è una disciplina «trasversale» rispetto alle altre discipline mediche e sociali; pertanto i genetisti collaborano ed interagiscono con i laboratori e gli altri specialisti nell'inquadramento e nella gestione del soggetto con malattia genetica e della sua famiglia.

Le strutture cliniche di genetica medica inoltre collaborano con i medici curanti nel controllo clinico e genetico longitudinale dei pazienti ed interagiscono con le Associazioni delle famiglie e delle persone con patologie genetiche.

L'organizzazione di base di queste strutture prevede un servizio di genetica clinica ed un servizio di laboratorio.

Lo strumento principale per l'inquadramento dei pazienti affetti da patologia su base genetica è la Consulenza Genetica.

1.1 La consulenza genetica:

Attualmente possono essere definite due grandi tipologie di consulenza genetica:

- la consulenza legata al test genetico (*genetic counselling*), svolta dal consulente genetico (*genetic counselor*);
- la consulenza di genetica clinica (*clinical genetics evaluation*) svolta dal medico genetista (*geneticist*).

La **consulenza legata al test** è un servizio informativo e parzialmente decisionale relativo ad un test genetico richiesto da altro specialista (ad es., cariotipo per infertilità). Vengono fornite informazioni sulla tipologia del test, sulle modalità di esecuzione, sui limiti e sulla validità del test, sulle informazioni che se ne ricavano e sulle possibili ricadute personali, riproduttive e familiari derivanti dall'esecuzione del test. Durante la consulenza pre-test, una volta assicuratisi che il paziente abbia compreso le informazioni, viene raccolto il consenso informato. Questa attività può essere svolta da personale medico (geneticists) e non medico (genetic counselors) che abbia acquisito una specializzazione nel settore.

Al completamento del test, viene eseguita la consulenza post-test durante la quale viene consegnato il referto e ne viene spiegato il significato.

In caso di positività il paziente viene avviato alla Consulenza Genetica Clinica durante la quale il medico genetista illustrerà i concetti di ricaduta personale, riproduttiva e familiare dell'anomalia riscontrata, le possibilità di diagnostica prenatale ed attiverà la rete di supporto clinico-terapeutico^{4,5}.

La Consulenza Genetica Clinica viene fornita dal medico specialista e può essere svolta esclusivamente da personale medico specializzato^{6,7}. La Genetica Clinica è infatti una branca della medicina clinica rivolta in particolare alle patologie genetiche. Questo implica delle modalità di svolgimento della disciplina che sono peculiari.

La consulenza genetica clinica è innanzitutto una valutazione clinica volta principalmente all'inquadramento diagnostico di un quadro clinico complesso. Questa fase consiste nella raccolta dettagliata della storia medica personale e familiare, nella revisione delle cartelle cliniche e di

esami precedenti, nell'esame obiettivo e nella prescrizione eventuale di esami di approfondimento.

La consulenza genetica clinica è anche un processo comunicativo attraverso il quale i pazienti affetti da una malattia geneticamente determinata e/o i loro familiari, ricevono informazioni relative alle caratteristiche della malattia stessa, alle modalità di trasmissione, al rischio di ricorrenza e alle possibili terapie, incluse le opzioni riproduttive che sono pertinenti alla loro condizione. Ha lo scopo di spiegare al paziente ed ai suoi familiari come e quanto l'eredità contribuisca alle manifestazioni cliniche della malattia, valutare l'eventuale rischio di ricorrenza e, pertanto, organizzare azioni preventive e raggiungere una più cosciente pianificazione familiare.

Le attività di genetica clinica si differenziano da quelle delle altre specialità cliniche, in quanto si rivolgono non solo al singolo ma all'intera famiglia, nella costruzione di un percorso unitario. Pertanto il coinvolgimento attivo del paziente è fondamentale non soltanto per poter fornire la consulenza genetica, ma anche per eseguire i test necessari e per estendere eventualmente le indagini ad altri membri della famiglia. La consulenza genetica implica la necessità di prendere decisioni da parte del paziente e/o di acquisire notizie su se stesso e sulla famiglia che coinvolgono delicati aspetti personali e socio-culturali e necessitano di una piena autonomia e responsabilità da parte degli interessati.

La consulenza **non deve essere direttiva**, non deve cioè influenzare le possibili decisioni del probando o della famiglia. Deve fornire invece tutte le informazioni necessarie per porre i richiedenti nella migliore condizione per effettuare scelte consapevoli. Durante la consulenza è opportuno promuovere l'autonomia decisionale dell'individuo, come è solito ripetere

un collega genetista di vasta esperienza “bisogna abolire il verbo *dovere* e sostituirlo col verbo *potere*” e comunicare tutte le informazioni con imparzialità e obbiettività, senza farsi influenzare dalle proprie opinioni personali.

1.2 Fasi e durata della Consulenza Genetica Clinica:

La consulenza è un processo in evoluzione, sono spesso necessarie più sedute in cui bisogna prendersi il tempo necessario per lo svolgimento delle varie fasi che sono:

1. *Raccolta delle informazioni*: durante la prima visita si valuta la motivazione della richiesta, si raccolgono le informazioni relative all’anamnesi personale fisiologica prenatale e postnatale, patologica remota e patologica prossima;

2. *Anamnesi familiare*: con ricostruzione dell’albero genealogico considerando almeno 3-4 generazioni, con attenzione particolare a:

- ritardo psico-motorio o del linguaggio
- patologie neurologiche e/o psichiatriche
- natimortalità
- decessi in età neonatale, infantile o giovane adulta senza causa nota
- malformazioni congenite
- infertilità di coppia
- poliabortività di coppia
- patologie tumorali
- nei soggetti deceduti: età e causa del decesso
- età di insorgenza delle patologie
- origine geografica dei 4 nonni ed eventuale consanguineità

- cognomi da nubile per le donne
- 3. *Esame obiettivo* (generale, antropometrico e dermatologico);
- 4. *Revisione della documentazione sanitaria* già in possesso del paziente;
- 5. *Richiesta di accertamenti* diagnostici strumentali e/o di laboratorio
- 6. *Comunicazione*
- 7. *Calcolo del rischio* genetico
- 8. *Presa in carico* della famiglia

Alcune tipologie di visita genetica richiedono una valutazione fisica del paziente. L'osservazione del paziente è fondamentale: da questa deriva la diagnosi "gestaltica", cioè la diagnosi "a colpo d'occhio". Si valutano le specifiche caratteristiche fisiche immediatamente riconoscibili nel loro insieme e si acquisisce il materiale fotografico del probando, si visita il paziente (esame obiettivo generale, antropometrico e dermatologico) e se ne descrive il fenotipo.

Può essere necessario inoltre richiedere materiale fotografico del probando a diverse età e la documentazione clinica e fotografica di alcuni familiari.

È buona norma visitare gli individui affetti ed i parenti asintomatici, anche quando è stata formulata una diagnosi e, per quanto possibile, ascoltare e visitare anche parenti di grado lontano della famiglia.

Una volta formulata l'ipotesi diagnostica potranno essere richieste ulteriori visite specialistiche del probando e dei suoi familiari, per confermare o eventualmente escludere il sospetto diagnostico.

Si renderà necessaria quindi una seconda visita in cui, se il sospetto è confermato, si potranno proporre eventuali test genetici disponibili per la patologia, spiegando al paziente i rischi, i limiti e le conseguenze di tali esami e raccogliendo quindi il consenso informato per l'esecuzione del test

firmato dal paziente stesso o dal tutore (in caso di minore o di pazienti incapaci di intendere e di volere).

A compimento delle indagini verranno comunicata al paziente la diagnosi e il rischio genetico familiare e riproduttivo.

Soprattutto in situazioni in cui il risultato dell'indagine genetica potrebbe avere un importante impatto emotivo sul paziente ed i familiari, come nel caso di patologie gravi o ad insorgenza tardiva, è buona norma assicurarsi che il paziente voglia effettivamente conoscere la diagnosi ed avvalersi della collaborazione di uno psicologo sia prima che durante che dopo la comunicazione della diagnosi. Se il paziente esprime dubbi sulla volontà di venire a conoscenza dei risultati dei test si può programmare un ulteriore incontro.

Al termine di ogni seduta con il paziente è importante assicurarsi che le informazioni siano state comprese correttamente e chiarire eventuali dubbi da parte del consultando.

1.3 Categorie di pazienti:

Le **categorie di pazienti** che normalmente si rivolgono ad un Centro di Genetica sono:

- pazienti affetti da sospetta patologia genica e/o con rischio familiare per patologia genica
- pazienti portatori sani di patologia genetica
- pazienti affetti da patologia cromosomica e/o con rischio familiare per patologia cromosomica
- coppie con infertilità primaria o secondaria
- coppie con poliabortività e/o MEF e/o morte neonatale

- coppie con test di screening alterati in corso di gravidanza
- coppie con alterazioni fetali in gravidanze in corso o in gravidanze precedenti
- coppie con esposizione a teratogeni in periodo preconcezionale o durante la gravidanza
- coppie con età materna avanzata (> ai 35 anni)
- pazienti affetti da patologia tumorale e/o con storia di tumore eredo-familiare

1.4 Tipologia delle consulenze genetiche:

• Consulenza pre-concezionale

Le consulenze preconcezionali sono rivolte principalmente a coppie infertili, che debbano accedere alla procreazione medicalmente assistita (PMA), a coppie con poliabortività o a coppie portatrici di patologie genetiche familiari.

Lo scopo della consulenza è valutare l'opportunità di avviare indagini genetiche per la definizione dell'eziologia dell'infertilità o della poliabortività e valutare l'eventuale rischio riproduttivo.

In caso di coppie infertili viene raccomandata l'esecuzione di analisi del cariotipo e la ricerca di mutazioni a carico del gene *CFTR*, responsabile di forme classiche ed attenuate di fibrosi cistica nonché la ricerca di microdelezioni del cromosoma Y nel maschio.

In caso di poliabortività è indicata l'analisi del cariotipo e lo screening per le trombofilie ereditarie.

Nella popolazione sarda è previsto durante la fase preconcezionale anche lo screening per le microcitemie e per la G6PDH-carenza.

Durante la consulenza genetica della coppia possono emergere notizie su eventuali patologie familiari per cui è necessario raccogliere notizie clinico-laboratoristiche sui familiari affetti per calcolare un eventuale rischio di coppia per la patologia familiare e programmare, quando necessario, la diagnostica nei componenti della coppia ed eventualmente programmare la diagnosi preimpianto o prenatale^{8,9,10,11,12,13,14}.

• **Consulenza prenatale per patologia fetale**

La consulenza genetica prenatale è rivolta a coppie in gravidanza a rischio per patologia genetica o malformativa.

Lo scopo della consulenza prenatale è quello di fornire alla coppia tutte le informazioni relative ai rischi di ricorrenza, alle opzioni diagnostiche (tecniche diagnostiche invasive e non invasive, i rischi correlati alle varie metodiche ed i limiti e vantaggi delle stesse) e sulle possibili scelte terapeutiche per la condizione in esame nella gravidanza in corso.

Le informazioni fornite devono essere chiare e, come per qualunque altra tipologia di consulenza, bisogna accertarsi che la coppia abbia compreso ed assimilato le informazioni per poter fare una scelta consapevole sull'esito della gravidanza stessa (prosecuzione od interruzione).

In particolare, per la diagnosi prenatale invasiva devono essere soddisfatte tre condizioni:

- 1) la malattia che si intende diagnosticare deve essere identificabile in utero mediante un test specifico;
- 2) la malattia deve poter essere diagnosticata in tempi utili per mettere la coppia in condizioni di prendere una decisione sulla gravidanza;
- 3) devono sussistere fattori di rischio genetico per la gravidanza di entità tale da giustificare un test prenatale invasivo.

L'indicazione principale alla consulenza genetica prenatale è rappresentata dall'*età materna avanzata* (età al parto uguale o superiore ai 35 anni), che correla con un rischio aumentato di cromosomopatia nella prole.

Le *altre indicazioni* sono

- test di screening (eco-NT, bitest o tritest) alterati
- genitore portatore di cromosomopatia
- uno o entrambi i genitori portatori di mutazione genica che possano determinare patologia nel feto
- precedente gravidanza o prole con anomalia cromosomica
- anomalie strutturali ecografiche (soft-markers)
- malformazione fetale identificata ecograficamente
- precedente feto malformato e non esaminato citogeneticamente
- prole con malformazioni
- malattie materne
- esposizione a sostanze teratogene (agenti chimici o fisici)^{15,16,17,18,19}.

• **Consulenza teratologica**

Le indicazioni alla consulenza teratologica sono:

- programmazione di una terapia farmacologica in epoca pre-concezionale in caso di malattia cronica materna
- valutazione di rischio di danno embrio-fetale in caso di esposizione in corso di gravidanza a farmaci, sostanze chimiche, radiazioni, agenti infettivi
- programmazione di terapie per malattie acute o interventi chirurgici in corso di gravidanza^{20,21}.

• **Consulenza genetica postnatale**

La consulenza genetica postnatale è rivolta a pazienti che manifestino sintomi o patologie di sospetta origine genetica in epoca postnatale, a qualsiasi età (pediatrica, in età giovane adulta o anche in età geriatrica).

1) in età neonatale/infantile

Consulenze postnatali rivolte a pazienti in età neonatale/pediatrica affetti da patologia genetica o con sospetta patologia genetica (familiare o isolata).

Piccoli pazienti che presentino:

- anomalie congenite maggiori/minori
- note peculiari
- ritardo di crescita
- disturbi dello sviluppo dei caratteri sessuali
- ritardo mentale e/o motorio e/o del linguaggio
- disturbi comportamentali
- alterazioni del metabolismo

2) in età adulta

Consulenze postnatali rivolte a pazienti in età adulta con sospetta patologia genetica o patologia genetica misconosciuta ad insorgenza tardiva, in particolare:

- patologie psichiatriche
- patologie neurologiche
- patologie metaboliche
- patologie cardio-vascolari
- dermatologiche

- oculistiche
- otorino-laringoiatriche
- dell'apparato locomotore
- internistiche
- ritardi mentali/demenza
- note peculiari
- cambiamento di sesso

Gli obiettivi delle consulenze postnatali, a qualsiasi età, sono:

- identificare una patologia genetica se non ancora diagnosticata
- individuare, quando possibile, l'alterazione genetica responsabile della malattia
- individuare all'interno della famiglia eventuali portatori o affetti
- valutare il rischio di ricorrenza familiare ed informare gli individui affetti o portatori
- presa in carico della famiglia
- coinvolgimento delle strutture per la presa in carico clinico-terapeutica e sociale
- organizzare il sostegno psicologico per il paziente ed i familiari
- proporre il contatto con associazioni di pazienti o familiari^{22,23,24}.

- **Consulenza genetica oncologica**

La consulenza genetica oncologica è rivolta ad individui affetti da patologia tumorale e/o con storia familiare positiva per casi ereditari di specifici tumori (tumore della mammella e dell'ovaio, tumori dell'intestino), che desiderino conoscere le possibilità di prevenzione, diagnostiche e

terapeutiche per se stessi e/o la valutazione del rischio genetico della prole e per i familiari^{25,26,27}.

Gli obiettivi della consulenza oncologica sono:

- valutare il rischio genetico individuale per il tumore sulla base del test genetico e dell'anamnesi familiare
- aiutare il paziente a comprendere il calcolo del rischio e le misure di sorveglianza proposte
- aiutare il paziente a comprendere la ricaduta familiare ed i rischi di ricorrenza
- organizzare il sostegno psicologico per il paziente ed i familiari
- programmare le misure di sorveglianza
- proporre il contatto con associazioni di pazienti o familiari

1.5 Implicazioni psicologiche della consulenza genetica:

La consulenza genetica ha forti connotazioni psicologiche²⁸.

Dalla consulenza genetica possono scaturire problemi complessi²⁹, che condizionano le scelte delle persone, quali, ad esempio:

- la riproduzione in situazioni di rischio aumentato
- la probabilità di sviluppare una malattia
- il coinvolgimento della famiglia

Queste scelte coinvolgono delicati aspetti personali e socio-culturali e richiedono piena autonomia e responsabilità da parte degli interessati.

La consulenza genetica andrebbe effettuata da équipes multi-disciplinari, nelle quali oltre al genetista, siano presenti altre figure quali lo specialista o gli specialisti di riferimento e lo psicologo.

Il supporto multidisciplinare è importante per affiancare e sostenere il paziente che deve orientarsi nella sua nuova condizione, accettare e capire la malattia e/o il rischio di malattia.

L'informazione al paziente implica un'accurata valutazione di variabili psico-emozionali quali il livello di ansia e di stress, il significato attribuito al test, la corretta percezione del rischio, le paure dell'individuo sulla propria salute, il senso di colpa.

L'intervento dello psicologo può facilitare la gestione dell'impatto dei risultati del test, l'adattamento alla condizione di rischio ed all'impatto familiare.

Il ruolo dello psicologo si articola in tre livelli distinti:

- Nella fase *pretest* per aiutare il paziente a decidere se desidera veramente conoscere il risultato del test e se sia pronto per sostenere l'impatto psicologico che il test comporta nell'immediato e nel futuro, soprattutto nelle patologie ad insorgenza tardiva.

Un momento particolarmente importante della consulenza è costituito dalla presentazione e dalla discussione del consenso informato: l'ambivalenza tra il desiderio di sapere ed il timore di sapere è spesso presente nei pazienti e nei familiari coinvolti.

- *Durante e dopo la comunicazione* del risultato del test, specialmente nel caso di esito positivo ma anche in caso di esito negativo (problemi di mispaternità), nella valutazione delle sue possibile risposte emotive al risultato e nel fornire strumenti adeguati per l'elaborazione e l'adattamento alla nuova condizione.

- Infine, nel *supporto psico-sociale* al paziente ed alla sua famiglia.

L'aspetto psicologico è importante per il paziente e la famiglia che possono manifestare:

- ansia e stress
- tentennamento tra il desiderio di conoscere ed il non voler sapere
- senso di disperazione e solitudine
- disorientamento
- desiderio di “fuga”.

È importante attribuire all'informazione un valore positivo, sottolineare le connotazioni positive che derivano da una adeguata diagnosi.

Dalla diagnosi precoce può derivare la possibilità di:

- modificare le manifestazioni della malattia (prognosi o morbilità)
- mettere in atto misure profilattiche e terapeutiche e scelte riproduttive consapevoli (diagnosi prenatale)
- salvaguardare la salute dei familiari.

Non è importante occuparsi solo del paziente, delle sue esigenze e dei modi in cui si può aiutarlo, ma anche dell'atteggiamento e delle reazioni degli altri membri della famiglia³⁰.

Spesso l'impatto che la malattia ha sugli altri componenti della famiglia viene sottovalutato.

Nella fase pretest alcune persone rifiutano di affrontare il problema, si chiudono, non vogliono parlare della malattia, reagiscono con fastidio quando se ne parla, mostrano rancore verso i membri della famiglia che cercano di sollevare l'argomento. Altre persone assumono invece

l'atteggiamento opposto e diventano ossessive, ne parlano in continuazione, si pongono mille domande, fanno congetture sulla possibilità di averla ereditata, sui sintomi, sulle possibilità terapeutiche, sulla comunicazione ad altri membri della famiglia.

Il dubbio di poter avere ereditato la malattia può scatenare nelle persone a rischio una forma di rancore verso il familiare che potrebbe avergliela trasmessa e nel familiare che potrebbe essere trasmettitore il senso di colpa. È fondamentale fornire tutte le informazioni possibili per attenuare il senso di disorientamento, favorire la comunicazione tra i membri della famiglia e cercare di arginare senza forzature gli atteggiamenti di chiusura o gli atteggiamenti ossessivi. Più il rapporto tra i familiari sarà limpido, più la famiglia affronterà serenamente le problematiche inerenti la patologia.

1.6 Implicazioni etiche e culturali:

I Comitati di bioetica delle strutture del Servizio Sanitario Nazionale, il Comitato Nazionale per la Bioetica, i comitati di bioetica che operano all'interno di organismi internazionali (ad es. Consiglio d'Europa, UNESCO, OMS, ecc.), il garante della privacy ed il codice di deontologia medica rappresentano i punti di riferimento in materia di etica anche nel campo della genetica.

In linea generale, salvo rari casi in cui interviene la magistratura^{31,32,33}, devono essere rispettati i diritti fondamentali dell'uomo, come disposto dalla Convenzione Europea per la salvaguardia dei diritti dell'uomo e delle libertà fondamentali e la biomedicina. Tali diritti sono fondamentalmente:

- il diritto all'informazione
- la libertà di scelta

- il rispetto della dignità e della vita di ogni persona
- il rispetto per le convinzioni personali e religiose
- la riservatezza dei dati.

I risultati di un test genetico, poiché il DNA è condiviso dalla famiglia, dovrebbero essere comunicati agli altri componenti della famiglia, se considerati a rischio, evitando i contrasti e le incomprensioni familiari.

Occorre ottenere il consenso dell'interessato alla comunicazione dei dati ai familiari, definendo con precisione l'ambito della parentela entro la quale effettuare la comunicazione (eventualmente solo entro il terzo grado)³⁴.

Il coinvolgimento dei familiari non è quindi scontato. Può succedere che il paziente non intenda coinvolgere la famiglia. Secondo uno studio di Dugan et al., pubblicato nel 2003, il 46% dei pazienti non coinvolge gli altri membri della famiglia.

Le motivazioni del mancato passaggio sono in genere il desiderio di proteggere i parenti dal disagio o gli scarsi rapporti con gli altri membri della famiglia o il senso di colpa³⁵.

Secondo diversi lavori la comunicazione familiare dipende:

- dal tipo di patologia in esame
- dal grado di parentela
- dal fatto che si tratti di una malattia che si manifesta per la prima volta nella famiglia o che sia già presente in altri membri della famiglia
- dalle interazioni familiari³⁶.

Inoltre anche quando la comunicazione avviene non tutti i membri della famiglia acquisiscono le notizie in maniera corretta e richiedono una consulenza genetica o si sottopongono ai controlli clinici o al test genetico.

La comunicazione familiare è dunque un processo complesso, influenzato sia da fattori familiari che culturali pre-esistenti ed il rapporto tra il consulente ed il consultando circa la diffusione delle informazioni deve riconoscere e rispettare questa complessità^{37,38}.

I pazienti sono i detentori principali delle informazioni che devono passare agli altri membri della famiglia ma non sempre desiderano farlo. Qualunque sia la motivazione il medico non può sostituirsi al paziente e passare le informazioni ai familiari senza il consenso del paziente stesso³⁹.

Questo pone problemi di tipo etico e procedurale al consulente genetico che non può divulgare notizie sul paziente senza il suo consenso ma d'altro canto è consapevole dell'importanza dell'informazione per la salute degli altri membri della famiglia^{40,41}. L'argomento è ancora controverso e tuttora in discussione. Sono state proposte diverse possibili soluzioni^{42,43,44}.

Da una review⁴⁵ sulle linee guida proposte da diversi comitati di bioetica e diverse società di genetica umana, nazionali ed internazionali, emergono 3 punti comuni che sono:

- (1) gli individui hanno l'obbligo morale (ma non legale) di comunicare le informazioni genetiche ai loro familiari;
- (2) i consulenti dovrebbe incoraggiare i pazienti a comunicare queste informazioni ai loro familiari;
- (3) i consulenti dovrebbero sostenere i pazienti durante l'intero processo di comunicazione^{45,46}.

Un maggiore sostegno durante la consulenza genetica aumenta significativamente la percentuale di consanguinei dei pazienti che hanno ricevuto la consulenza che prende contatto con il servizio di genetica. Questo suggerisce che la comunicazione delle informazioni genetiche

all'interno delle famiglie può essere migliorata modificando l'approccio al paziente durante la consulenza genetica⁴⁷.

La stesura di una relazione scritta a conclusione della consulenza genetica aiuterà il paziente a comprendere meglio le informazioni fornite a voce, ad analizzarle a mente fredda e sviluppare eventuali dubbi e relative domande e lo agevolerà nella comunicazione delle informazioni ai consanguinei^{48.49}.

Comunicazione alternativa: Il colloquio diretto con il consulente ha particolare rilevanza per coloro che non possono o non sanno leggere e quindi non sono in grado di utilizzare materiale scritto. Possono essere usate altre modalità di comunicazione, che devono comunque essere idonee a fornire le notizie supplementari, di solito trasmesse in forma scritta, che hanno lo scopo di rafforzare la comprensione dei problemi trattati (ad es. sistemi audio-visivi).

Per le persone non udenti deve essere presente al colloquio un interprete della lingua dei segni, ed è utile avvalersi anche dell'ausilio di materiali scritti o visivi.

Nel caso in cui il soggetto comprenda con difficoltà la lingua italiana, si deve utilizzare l'aiuto di un interprete. Particolare attenzione deve essere posta al contesto culturale dal quale proviene il soggetto, soprattutto se appartenente ad altre etnie, in modo da adeguarsi al suo livello di comprensione e al suo sistema di valori⁵⁰.

1.7 Implicazioni legali:

Alcuni documenti redatti dai Comitati di bioetica nazionali ed internazionali sulle problematiche etiche in genetica medica forniscono la base sulla quale

devono essere impostati alcuni comportamenti operativi delle strutture di genetica medica.

Consenso informato:

il consenso informato relativo ad un test genetico è il risultato di un processo che ha lo scopo di aiutare il probando nel decidere se sottoporsi o meno ad un test genetico.

Devono essere considerati parti integranti di un test genetico la comunicazione e l'interpretazione del risultato e la consulenza relativa alle sue possibili implicazioni.

Il consenso informato deve concludere un dialogo nel corso del quale la persona ha ricevuto informazioni complete ed accurate su tutte le possibili implicazioni dei risultati delle indagini genetiche.

Le informazioni sul test genetico, sulle sue implicazioni e tutto il processo di consulenza devono essere formulati utilizzando un linguaggio adeguato al livello di comprensione e di cultura delle persone.

Le informazioni fornite prima del test dovrebbero offrire agli interessati la possibilità di comprendere appieno ciò che viene comunicato e di esprimere le proprie valutazioni e le preoccupazioni relativamente ai vari aspetti del test.

Il consenso informato ai test genetici implica la capacità di assumersi la responsabilità della decisione e perciò richiede, da parte della persona, maturità e consapevolezza decisionale.

La persona che necessita del test, o i suoi familiari, non devono essere influenzati o forzati, in alcun modo, a prendere una specifica decisione. Il rispetto dell'autonomia del soggetto deve essere assoluto. Questo implica la necessità di disporre di informazioni aggiornate ed esaurienti e di essere liberi da costrizioni esterne.

La persona alla quale viene offerto un test deve sapere che la sua accettazione è volontaria e che, qualunque sia la sua decisione, non sarà messo in discussione il suo diritto ad essere assistito nel migliore dei modi.

L'informazione sui vantaggi e sugli svantaggi del test deve essere presentata in modo completo, obiettivo e non direttivo.

Se chi offre il test ha difficoltà a discuterne in modo esauriente e obiettivo, sia perchè non sufficientemente convinto dell'importanza del processo di consulenza oppure perchè non sufficientemente informato sul test, o ancora per mancanza di tempo, deve indirizzare la persona a chi, nell'ambito della struttura, è in grado di soddisfare questa esigenza in modo adeguato.

Chiunque si sottoponga ad un test, dopo consenso informato, deve essere libero di non conoscere il risultato, anche se il test è già stato eseguito (art. 10, comma 2 della Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla biomedicina, Oviedo il 4 aprile 1997, Consiglio d'Europa, Serie dei trattati europei - n. 164⁵¹, ratificata dalla legge 28 marzo 2001, n. 145).

Nell'intervallo che intercorre tra la decisione di sottoporsi al test e la comunicazione del risultato possono intervenire eventi o ripensamenti che inducono la persona a modificare la propria decisione. Non deve quindi essere esercitata alcuna pressione per comunicare all'interessato il risultato.

L'utilità di un test genetico non può perciò essere valutata solo con il criterio delle sue implicazioni mediche, ma devono essere considerate anche implicazioni più ampie che coinvolgono altri aspetti della vita della persona.

Il soggetto al quale viene offerto un test genetico deve ricevere una completa informazione sui suoi aspetti tecnici, sulle sue finalità, nonché sugli eventuali trattamenti o interventi che potranno essere attuati in

rapporto ai risultati. Deve inoltre essere informato dei vantaggi che ne possono derivare e dei rischi ai quali va incontro, in modo da maturare autonomamente la volontà di sottoporsi al test. La conoscenza della sensibilità e del valore predittivo del test permette al soggetto di valutare meglio le modificazioni del rischio di malattia che possono derivare dal risultato del test.

La persona deve inoltre essere informata:

- a) delle modalità e dei tempi di esecuzione del test e di comunicazione del risultato;
- b) delle implicazioni dei risultati possibili. Nel caso di diagnosi prenatale si dovrà inoltre tenere conto del rapporto affettivo materno-fetale e delle sue particolari implicazioni sul piano etico, emotivo e psicologico, nonché delle sue diverse valenze nelle varie fasi della gravidanza. L'uso di tecniche invasive per il prelievo di tessuti fetali impone una rigorosa ed esauriente informazione sulle modalità operative e sul rischio derivante dalla loro applicazione;
- c) dei sistemi adottati per la tutela della riservatezza dei risultati e di chi abbia accesso a quelle informazioni; la località e la durata di conservazione del campione utilizzato per il test e la disponibilità del campione per altri fini; di chi possa accedere al campione e per quali finalità; del diritto dell'interessato a limitare l'accesso ai risultati e la disponibilità del campione per altri fini.

Tutti questi aspetti devono essere discussi con gli interessati, fornendo le informazioni necessarie e favorendone l'autonomia decisionale. La sottoscrizione del consenso informato scritto è l'ultima fase del processo comunicativo.

Test genetici predittivi:

ai sensi dell'art. 12 della Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla biomedicina **i test genetici predittivi** (di suscettibilità) possono essere utilizzati solo per finalità mediche o di ricerca scientifica. Ogni altro uso, per finalità estranee a queste ultime, dovrà considerarsi illegittimo.

Per i *test di suscettibilità*, l'eventuale attuazione di indagini deve essere accompagnata da una corretta e capillare informazione sulle attuali conoscenze, sui limiti e sulle potenzialità effettive della «predizione genetica».

L'esecuzione di un test di suscettibilità deve essere consentito alle persone maggiorenni, capaci di autodeterminazione.

Le persone che si sottopongono ai *test farmacogenetici* devono essere adeguatamente informate e devono preliminarmente sottoscrivere il consenso informato.

Sempre secondo la Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla biomedicina l'esecuzione di test genetici deve essere evitata senza adeguata consulenza e supporto alla persona; in particolare non si deve offrire, come accade in altri Paesi, test genetici di suscettibilità o di paternità, attraverso internet o altri mezzi informativi.

Trattamento dei dati personali:

Secondo il decreto legislativo del 30 giugno 2003, n. 196, relativo al Codice in materia di protezione dei dati personali, è sempre necessario ottenere il consenso all'acquisizione dei dati genetici, all'utilizzo e alla conservazione dei dati genetici e dei dati sensibili da parte dell'interessato, in particolare:

- per i test di identificazione dei portatori sani;
- per lo studio della variabilità individuale;

- per i test di paternità è sempre necessario acquisire il consenso di entrambi i genitori;
- per i test diagnostici: per quanto riguarda i *test pre-sintomatici*, è importante che al soggetto sia garantita la possibilità di prendere una decisione autonoma, sulla base della propria scala di valori. Chi gestisce il test ha l'obbligo di stimolare una libera decisione del soggetto e di informarlo del suo pieno diritto di decidere diversamente. Le persone devono essere consapevoli che un risultato positivo può avere implicazioni per i figli attuali e futuri e per altri consanguinei.

Esecuzione di test genetici su minori:

Sempre secondo il decreto legislativo del 30 giugno 2003, n. 196, relativo al Codice in materia di protezione dei dati personali, i test genetici pre-sintomatici possono essere effettuati sui minori non affetti ma a rischio per patologie genetiche, previo consenso informato dei genitori o di chi detiene la patria potestà, solo nel caso in cui esistano concrete possibilità di terapie o trattamenti preventivi efficaci prima del raggiungimento della maggiore età.

Per quanto attiene in particolare ai test pre-sintomatici relativi a malattie ad esordio nell'età adulta, si raccomanda pertanto di posporre l'analisi fino a quando il soggetto abbia raggiunto la maggior età e, quindi, la capacità di decidere in piena autonomia.

MATERIALI e METODI

Seguendo le indicazioni delle linee guida si è provveduto a:

- organizzazione di un ambulatorio per la valutazione clinico-morfologica dei pazienti, fornito di sfondo monocromatico e fotocamera per l'acquisizione di materiale fotografico, strumentazione per l'acquisizione dei dati antropometrici (metro da sarto, righello, bilancia, stadiometro, plicometro, calibri, orchidometro) ed il prelievo di campioni biologici;

La visita genetica del probando si svolge secondo la seguente procedura:

- Gestalt: diagnosi “a colpo d'occhio”, cioè l'impressione clinica. Si valutano le specifiche caratteristiche fisiche immediatamente riconoscibili nel loro insieme (materiale fotografico)
 - Esame Obiettivo (generale, e dermatologico)
 - Descrizione del Fenotipo
 - Antropometria (Metro da sarto, Righello, Bilancia, Stadiometro, Plicometro, Calibri, Orchidometro, Fotocamera etc)
- impostazione di cartelle cliniche differenziate a seconda del problema di accesso al servizio. Tutte le cartelle contengono dati personali, l'albero familiare, l'anamnesi, fisiologica e patologica, la registrazione degli esami genetici, strumentali ed emato-chimici già eseguiti. In aggiunta, nello specifico, la cartella per le consulenze pre-concezionali delle coppie infertili prevede spazi dedicati per gli esami secondo i protocolli per le infertilità; la cartella per le consulenze pre-concezionali delle coppie con poliabortività prevede spazi dedicati per la raccolta dati delle precedenti gravidanze; la cartella per le consulenze pre-natali prevede spazi dedicati per la raccolta dati su eventuali precedenti gravidanze e della gravidanza in corso; la cartella per le consulenze post-natali prevede gli spazi per l'esame

obbiettivo generale, antropometrico, dermatologico e la descrizione del fenotipo;

- impostazione del consenso informato per le indagini genetiche e la diagnosi prenatale invasiva e per la ricerca (fig.1):

Consenso informato all'esecuzione di analisi genetiche

Gli esseri umani, come tutti gli organismi viventi, contengono all'interno delle cellule da cui sono formati una serie di molecole lineari di DNA, formate da differenti combinazioni di particolari composti chimici chiamati nucleotidi.

Il DNA consente il processo di divisione delle cellule e di riproduzione degli organismi e contiene inoltre a livello di specifiche sequenze chiamate geni, le istruzioni per la sintesi di altri composti chimici, denominati aminoacidi, che rappresentano le componenti essenziali delle cellule. La traduzione dell'informazione genetica dal linguaggio chimico del DNA al linguaggio, sempre chimico, degli aminoacidi avviene attraverso una molecola intermedia chiamata RNA.

Le analisi genetiche comprendono le analisi di specifici geni, del loro prodotto o della loro funzione ed ogni altro tipo di analisi del DNA, dell'RNA o dei cromosomi (le strutture in cui il DNA è ripiegato ed impacchettato all'interno del nucleo delle cellule), al fine di identificare alterazioni nel patrimonio genetico che causano o predispongono allo sviluppo di malattie.

Tutti i risultati delle analisi genetiche sono strettamente riservati e sottoposti al vincolo del segreto professionale.

Ogni tipo di materiale biologico prelevato viene conservato in modo anonimo ai sensi della legge sulla privacy (d.lg. 30 giugno 2003, n°196) e la possibilità di risalire ai dati identificativi del campione è riservata solo al personale autorizzato.

Il sottoscritto _____ nato/a a _____ () il _____
residente a _____ () in via _____ n° _____ CAP _____
Tel. _____ E-mail _____ C.F. _____

In caso di minore o di persona non in grado di esprimere il proprio consenso il tutore legale di:

Nome e cognome _____ nato/a a _____ () il _____
residente a _____ () in via _____ n° _____ CAP _____
Tel. _____ E-mail _____ C.F. _____

DICHIARO

di aver ricevuto un'informazione chiara e dettagliata sulle caratteristiche cliniche e genetiche della malattia

_____ per la quale verrà eseguita l'analisi genetica e sulle implicazioni ed i limiti del test genetico. Pertanto

ACCONSENTO NON ACCONSENTO al prelievo di materiale biologico per l'esecuzione di analisi genetiche.

DICHIARO di

volere non volere essere informato sui risultati delle analisi genetiche
 volere non volere rendere partecipe la mia famiglia dei risultati (restrizioni: _____)
 volere non volere rendere partecipe dei risultati dell'analisi il mio MMG. Dott. _____

DICHIARO inoltre di

volere non volere che al termine delle analisi genetiche il materiale biologico venga conservato ed utilizzato per studi genetici ad esclusivo scopo di ricerca e i cui risultati non verranno comunicati

volere non volere che il materiale biologico venga conservato ed utilizzato qualora siano disponibili nuovi test diagnostici

volere non volere essere informato di eventuali nuovi risultati delle analisi genetiche

Il consenso per la parte riguardante gli studi genetici e la conservazione del campione può essere revocato in qualsiasi momento. In questi casi l'interessato dovrà comunicare tempestivamente le proprie decisioni contattando il Direttore della Struttura, Prof. _____ o il Medico Consulente al numero 079-228598.

Data _____

Firma _____

Firma del Medico _____

Fig. 1

- realizzazione delle informative per le diverse patologie;
- organizzazione di un database per la raccolta dei dati clinici e personali;
- organizzazione di una rete con varie strutture clinico-laboratoristico a livello locale ed inter-regionale.

ANALISI STATISTICA

Successivamente alla raccolta dei dati presenti su specifico supporto cartaceo, è stato compiuto l'inserimento in un foglio elettronico (matrice dei dati); a ciò ha fatto seguito l'elaborazione statistica mediante il sistema informatico Stata 9.0 (StataCorp, Stata Statistical Software Release 9, College Station, TX, USA, 2005). Media, mediana e range interquartile e deviazione standard sono stati utilizzati come misure di tendenza centrale e variabilità per le covariate di tipo quantitativo continuo e discreto mentre la valutazione proporzionale è stata adottata per le variabili categoriche. I confronti tra sottogruppi sono stati eseguiti mediante test del chi quadro od il test esatto di Fisher per le proporzioni, ed il test di t Student per variabili continue.

RISULTATI

L'analisi esplorativa eseguita ha considerato il numero complessivo delle consulenze genetiche eseguite dal 1/01/2008 al 30/09/2011 (2184) ed il numero totale delle consulenze per ogni singolo anno: 406 consulenze eseguite nel 2008, 550 consulenze eseguite nel 2009, 572 consulenze eseguite nel 2010, 656 consulenze eseguite fino al 30 settembre del 2011 (fig.2)

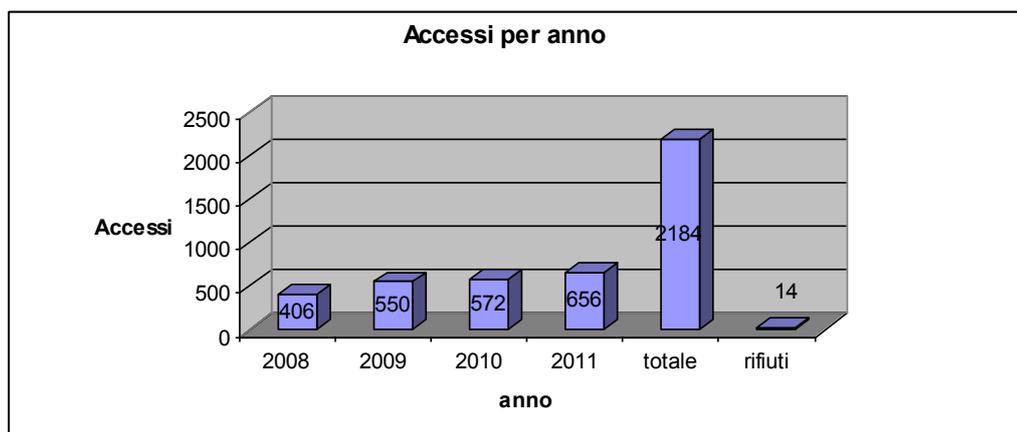


Fig. 2

Il campione analizzato, considerando la variabile sesso, risultava omogeneamente distribuito: infatti, la percentuale di soggetti di sesso femminile sebbene superiore (52%) a quella dei soggetti di sesso maschile (48%), non risultava statisticamente significativa (p -value: 0.645) (fig.3, 4)

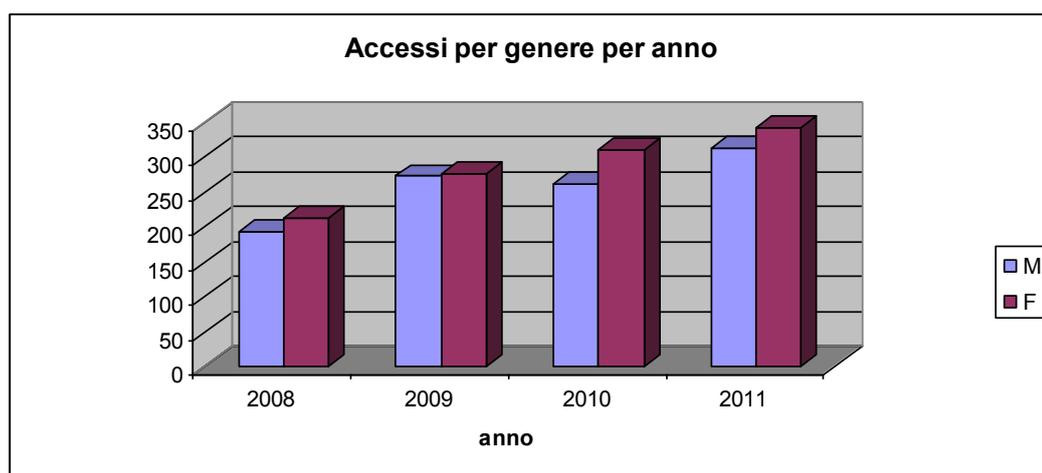


Fig. 3

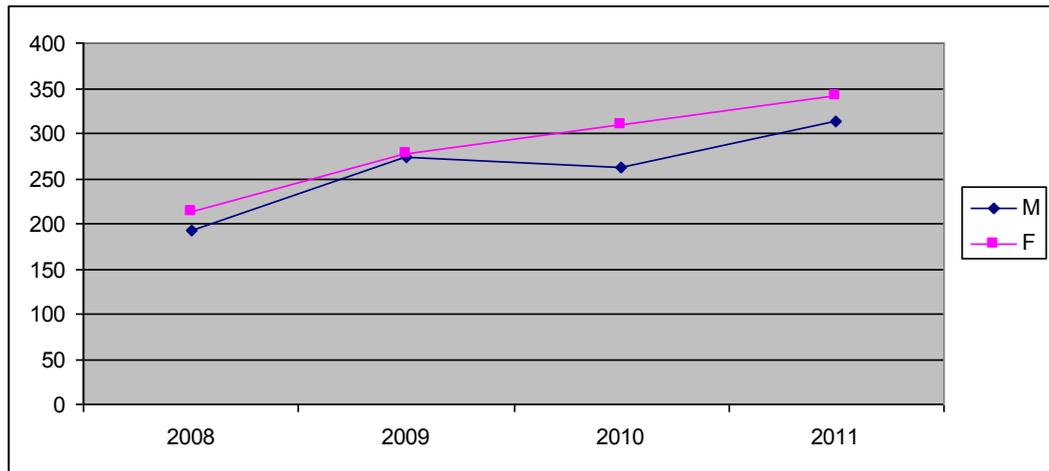


Fig.4

L'età media del campione era di 37 anni (con dispersione standard di ± 10 anni rispetto al valore medio); per tale fattore confondente i due gruppi (maschi e femmine), risultavano significativamente differenti (p -value: $< 0,001$) (fig.5).

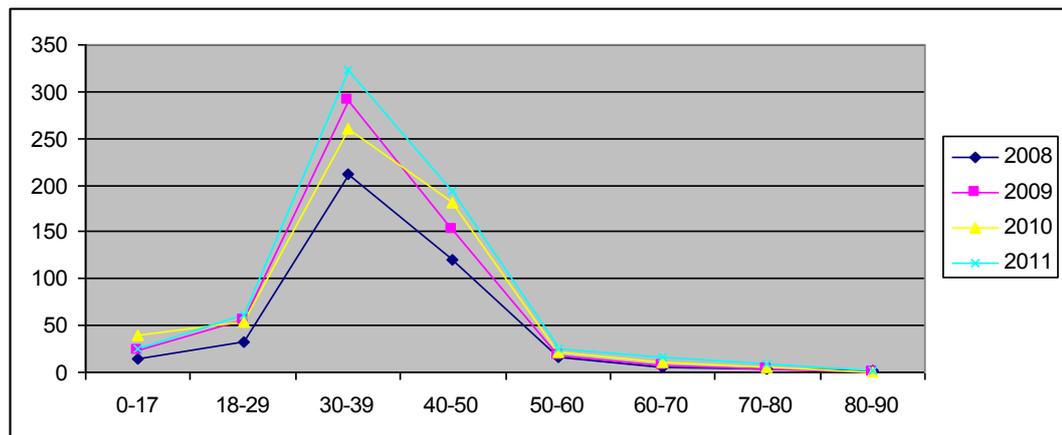


Fig. 5

Al fine di valutare l'influenza geografica nell'insorgenza delle patologie riscontrate, è stata presa in considerazione, come variabile demografica,

l'origine geografica: la quasi totalità del campione era rappresentata da soggetti con origine geografica sarda (cioè con tutti e quattro i nonni sardi) o da soggetti con uno dei due genitori di origine sarda (91%), il 4% avevano un'origine mista italiana-altra nazionalità, il 3% riferivano un'origine italiana e il 2% altra nazionalità. Nei diversi anni considerati vi sono state delle variazioni, in particolare si è riscontrato, nell'anno 2011, un progressivo e graduale incremento dei pazienti di origine sarda, tuttavia non statisticamente significativo (p -value: $< 0,702$) (fig.6).

La maggior parte dei pazienti afferenti al Centro di Genetica Clinica era proveniente dalle cliniche Ginecologiche di Sassari, Nuoro, Ozieri; il restante numero è rappresentato da pazienti inviati dai Medici di Medicina Generale, reparti specialistici e materno-infantili. (fig.7)

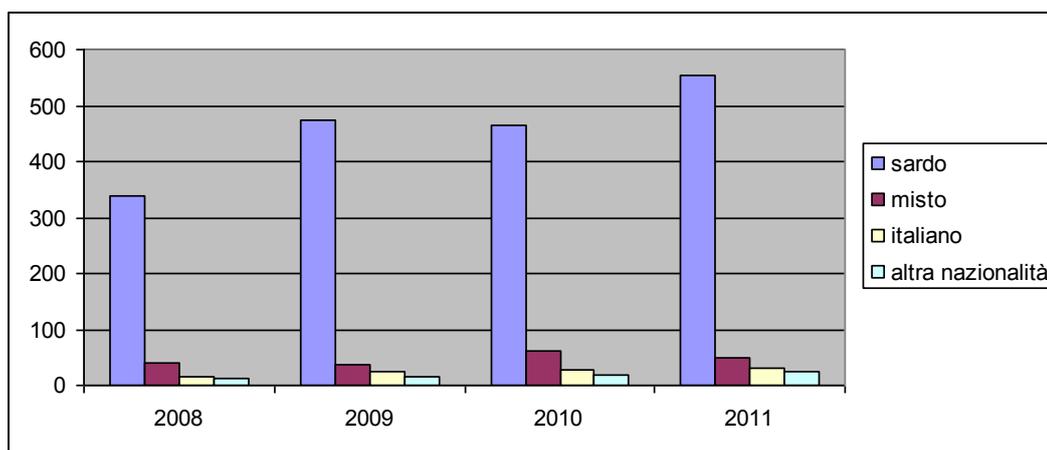


Fig. 6

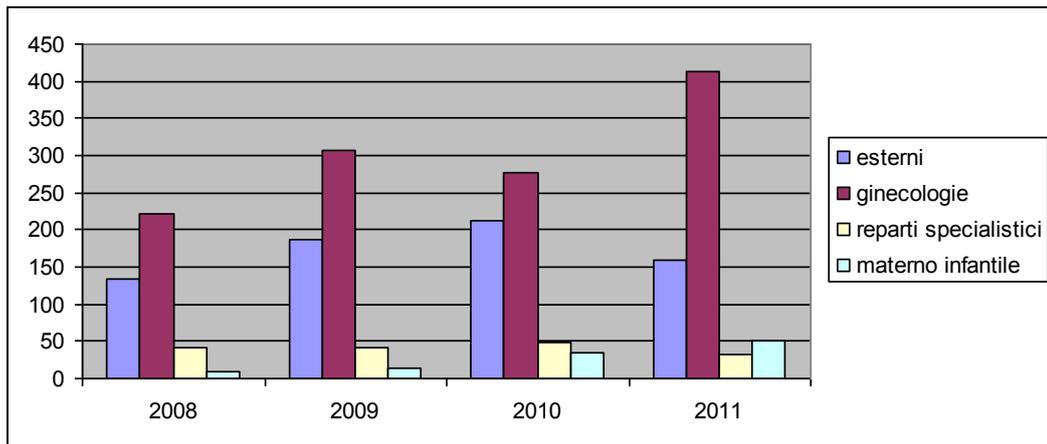


Fig. 7

E' evidente un trend in crescita delle richieste, legato a un crescente coinvolgimento dei reparti clinici e dei medici di base, oltre che all'aumentata attività del laboratorio di citogenetica del Centro di Genetica Clinica.

L'analisi sulla tipologia delle consulenze ha permesso di constatare che la maggior parte delle consulenze eseguite nei diversi anni era di tipo preconcezionale (54%); tra le altre consulenze, quelle di tipo prenatale (28%) sono risultate più numerose rispetto a quelle postnatali (18%). Tali differenze sono risultate statisticamente significative (p -value: < 0,001) (fig.8)

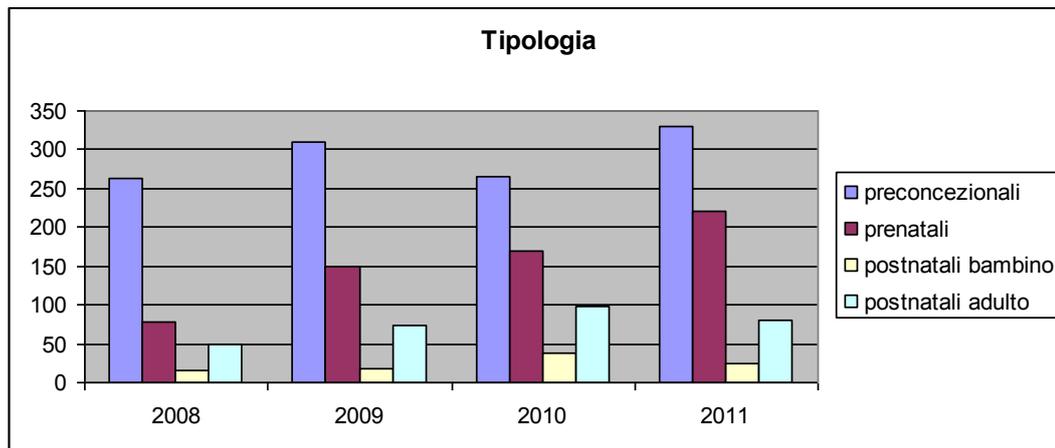


Fig. 8

Considerando le problematiche principali riferite dal paziente al momento della consulenza è emersa nei vari anni una significativa (p -value: < 0,001) prevalenza delle patologie ginecologiche (63%) (es. infertilità 32%, poliabortività 9,3%, età materna 8,5%) rispetto alla familiarità per patologia genica, cromosomica o per malformazioni (17%), alle patologie genetiche costituzionali (cromosomopatie e pat geniche o malformative) (16%) e ai pazienti sintomatici (4%) (fig. 9 e Tab.I).

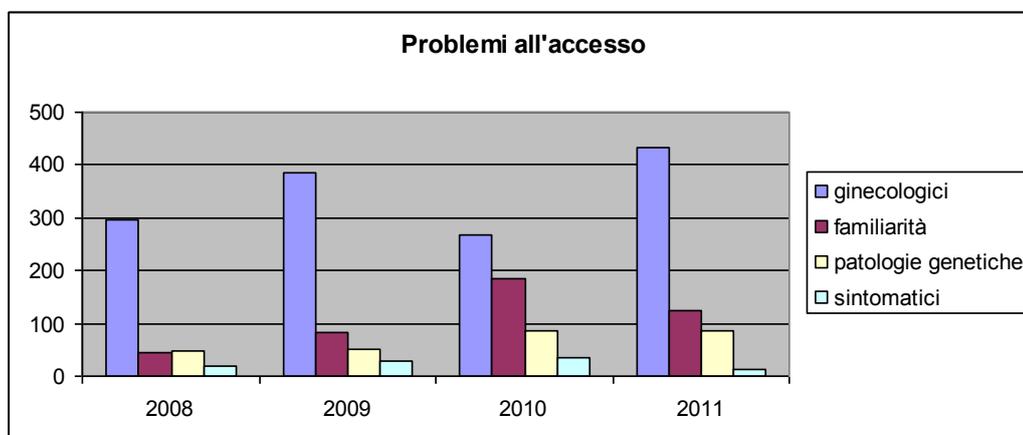


Fig. 9

Tab I

Malattia	N° Casi
Nefronoftisi	1
Neuropatia Assonale Gigante	1
Ipoacusia	4
Sindrome Di Pitt-Hopkins	1
Aplasia Midollare	1
MDS	1
Sosp. Marfan	6
Sosp FAP	1
Klippel-Trenaunay	1
Emocromatosi	3
Atassia Di Friederich	1
Linch	3
Febbre Mediterranea	1
QT Lungo	2
NF6	3
Alport	6
Rubinstein-Taybi	1
BWS	3
Ipercolesterolemia Familiare	9
Ipertrigliceridemia	1
NF1	2
Glutarico Aciduria II	1
Sclerosi Tuberosa	5
Sdr Di Darier	1
SCA 2	1
SLA	8
Kallman	2
Cdls	2
CMT	6
Corea	4
Ehlers-Danlos	1
Paraparesi Spastica	2
Sindrome Di Treacher-Collins	2
Steinert	1
Ptosi Palpebrale Progressiva	1
Epidermolisi Bollosa	1
SMA1	5
Werner	2
Xantomatosi Cerebro-Tendinea	1
Distrofia FSO	3

FC	1
Kartagener	1
X-Fra	3
Premutata X-Fra	6
Sdr Silver-Russell	1
Incontinentia Pigmenti	1
Dermato Fibrosarcoma	1
Rene Policistico	3
Polisindattilia	4
Deformità Di Sprengel	2
Prader-Willi	1
Displasia Scheletrica	6
Hb Muravera	1
Wilson	2
Sdr Di Waardenburg	1
Sdr Di Poland	2
Angiomatosi Cavernosa	11
Cavernomatosi Cerebrale	2

I risultati inerenti le diagnosi molecolari eseguite su un numero totale di 301 pazienti ha permesso di evidenziare la prevalenza di soggetti non mutati (36%), rispetto a quelli mutati (29%). Il 33% delle indagini molecolari sono tuttora in corso e solo il 2% dei pazienti ha rifiutato di eseguire l'esame. Tali differenze, analizzate per ogni singolo anno, sono risultate statisticamente significative (*p-value*: < 0,001).

Su un totale di 1.141 pazienti è stata eseguita un'indagine citogenetica; il 93% dei cariotipi analizzati è risultato nella norma: il 47% presentava un cariotipo femminile XX, mentre il 46% presentava un cariotipo maschile XY. Il rimanente 7% presentava delle cromosomopatie (Tab. IIa). Tali differenze, analizzate per singolo anno, non hanno mostrato alcuna significatività statistica (*p-value*: 0,727).

In seguito ad una più approfondita indagine mediante l'utilizzo della tecnica Array-CGH è stato possibile rilevare, tra i pazienti con cariotipo normale, la

presenza di 43 soggetti portatori di microdelezione e/o microduplicazione (Tab.IIb).

Tab. IIa

Cromosomopatia	N° Casi
Anomalie Di Numero	34
Traslocazioni	30
Delezioni	4
Duplicazioni	8
Inversioni	13
Anomalie Cromosomi Del Sesso	32
Markers	8
Alterazioni CGH	43

Tab. IIb

Array-CGH	N° Casi
microdel15q11.2 mat	2
dupXp11.23mat	2
del 1p36 de novo	1
dup3mat,delXpat	2
microde17q23.3 de novo	1
microdel 16p13.11pat	2
microdel 16p11.2mat	3
microdupXq12q13mat	4
microdel2q13pat	2
microdel7q21.12mat	2
microdel1q21.1pat	2
microdupXq28 de novo	1
46,XX,dup(18)mat,dup(1)pat,del(3)	3
microdup 3q21.3mat	2
microdup Xp 22.33 pat	2
microdup7q11.23 de novo	1
microdel8p23.2pat	2
microdup16q22.1de novo	1
3q13.32 e Xp11.4 de novo	1
microdup4q21.1pat	4
microdel17p12mat	2
microdel16p25.3-pter de novo	1

E' evidente da quanto esposto che nell'ambito della nostra popolazione, facendo con ciò riferimento all'utenza che gravita sulle strutture sanitarie di Sassari, Olbia ed in parte della provincia di Nuoro, era fortemente sentita l'esigenza di un Servizio di Consulenza Genetica Clinica, non soltanto di supporto ai Laboratori di Citogenetica, già operanti, ma anche per le patologie genetiche monogeniche o complesse. Lo dimostra il gran numero di consulenze erogate per patologie neurodegenerative o per malattie metaboliche, richieste da vari reparti, da Medici di Medicina Generale e Pediatri, e le consulenze per sindromi malformative, ritardo mentale, per sterilità di coppia, poliabortività e prenatali.

Accanto a questo aspetto, squisitamente assistenziale, non va però sottovalutato l'aspetto della ricerca, che trae impulso e fondamento proprio dall'attività di consulenza genetica. E' infatti l'approfondimento diagnostico, programmato e quindi avviato ad esecuzione in sede di consulenza, che rende possibile la selezione dei casi clinici di interesse scientifico. Fra questi, vengono presentati un caso di Xantomatosi Cerebro-Tendinea, e diversi casi di Ipercolesterolemia familiare recessiva

CASI CLINICI

CASO 1: Xantomatosi Cerebro-tendinea

Introduzione

La Xantomatosi Cerebro-tendinea è una rara (1-9/1.000.000) patologia autosomica recessiva causata dalla deficienza dell'enzima sterolo 27-idrossilasi (Cyp27) mitocondriale dovuta alla mutazione del gene *CYP27A1* che mappa sul cromosoma 2q33-qter. Sono state riportate diverse mutazione del gene *CYP27A1* in tutto il mondo, in pazienti di diversa origine etnica.

Non è stata stabilita una correlazione genotipo-fenotipo. Questo suggerirebbe che altri fattori possono intervenire nella modulazione del fenotipo.

Il deficit dell'enzima sterolo 27-idrossilasi (responsabile della degradazione della catena laterale del colesterolo in acidi biliari) determina una ridotta produzione di acidi biliari. Questo porta ad un accumulo di precursori degli acidi biliari, che sono elevati nel siero, nelle feci e nelle urine e quindi nei tessuti.

È stato ipotizzato che elevati livelli degli alcoli biliari determinino la rottura della barriera emato-encefalica. Gli elevati livelli di colestano in plasma e nei tessuti ed il deficit di sintesi degli acidi biliari causano la deposizione di colestano nel sistema nervoso centrale e nella mielina dei nervi periferici. Le lesioni contengono colesterolo e deidrocolesterolo. L'accumulo degli steroli è il segno distintivo della malattia. L'aumento dei livelli di colestano in plasma è diagnostico^{52,53}.

Una diagnosi precoce è molto importante per prevenire il deterioramento neurologico progressivo e drammatico. Il deposito del colestano lo avviene anche in altri tessuti causando xantomi tendinei, aterosclerosi, lipomi, ipertrofia del setto atriale e cataratta.

Le lesioni caratteristiche del SNC sono date da granulomatosi e xantomatosi a livello degli emisferi cerebellari, del globo pallido e dei peduncoli cerebellari.

La biopsia dei nervi periferici rivela la degenerazione assonale, con demielinizzazione e rimielinizzazione. Alterazioni ultrastrutturali mitocondriali sono date da aggregati subsarcolemmali ed alterazioni morfologiche. È stata inoltre osservata una ridotta attività della catena respiratoria enzimatica.

Le indagini strumentali rivelano alterazioni alla TC ed alla RM quali atrofia cerebrale e cerebellare, alterazioni della sostanza bianca e lesioni focali bilaterali del cervelletto⁵⁴.

Terapia:

Il gruppo di ricerca di Salen⁵⁵ ha per primo trattato con acido chenodeossicolico i malati con Xantomatosi Cerebro-tendinea: è stato mostrato che l'espansione del deficitario pool di acidi biliari determinava un calo del colestano lo plasmatico e che si riduceva la velocità di produzione di colesterolo e colestano lo. Inoltre, la HMG CoA reduttasi, che è l'enzima limitante della sintesi del colesterolo, veniva inibito di quattro volte durante la terapia e gli acoli biliari quasi scomparivano dalla bile. È stato riportato che in diversi pazienti trattati con acido chenodeossicolico ci sia stato una regressione della disabilità neurologica con miglioramento della demenza,

miglior orientamento innalzamento del QI e aumento di forza e indipendenza.

L'acido colico e chenodeossicolico possono essere usati per inibire la produzione di colestano in pazienti con la Xantomatosi cerebrotendinea.

La terapia con gli inibitori della HMG CoA reduttasi (statine) può ulteriormente abbassare i livelli di colestano plasmatici nella Xantomatosi Cerebro-tendinea. La terapia combinata con acido chenodeossicolico potrebbe ridurre la produzione dei precursori degli acidi biliari, potenzialmente convertibili in colestano⁵⁶.

Il trattamento a lungo termine dei pazienti affetti da Xantomatosi Cerebro-tendinea con acido chenodeossicolico (CDCA) normalizza la sintesi degli acidi biliari e la concentrazione nel plasma e nel liquor del colesterolo, migliorando la sintomatologia, tuttavia l'acido cheno-desossicolico è difficilmente reperibile in Italia.

Caratteristiche Cliniche:

Il caso clinico che presentiamo riguarda un maschio di 47 anni, di origine sarda, segnalatoci dal Reparto di Neurologia di Olbia, che ha presentato i sintomi caratteristici della malattia a livello clinico. La presenza della patologia è stata poi confermata dalla diagnosi genetica sul gene *CYP27A1*.

Il paziente ha presentato i primi sintomi in età giovanile con cataratta giovanile.

All'età di circa 24 anni ha iniziato a presentare difficoltà progressiva alla deambulazione.

Per tale motivo nel 2005 il paziente ha eseguito ecografia ed una risonanza magnetica che hanno rivelato la presenza di una massa di consistenza molle sulla guaina tendinea identificata come xantoma tendineo.

Successivamente il paziente ha presentato un disturbo affettivo bipolare

All'esame obiettivo generale è stata osservata una fistola sacro-coccigea ed una cicatrice sui talloni, esito di un precedente intervento di asportazione degli xantomi tendinei.

All'esame obiettivo neurologico presentava andatura pareto-atassica, segno di Babinski bilaterale, ROT vivaci, priapismo, disturbi psichiatrici e deficit cognitivo; al Mini Mental Status Examination (MMSE) presentava 21/30, corretto. Presentava inoltre disturbo del linguaggio, deficit di attenzione e di memoria a breve termine ed un riflesso di accomodazione asimmetrico. Il paziente è inoltre affetto da ipertensione arteriosa in terapia farmacologica.

Il paziente riferisce di non aver avuto ritardo dello sviluppo psicomotorio, diarrea cronica o crisi epilettiche.

Gli **esami ematochimici** (emocromo, la funzionalità epatica e renale e i test di coagulazione) erano normali.

È stato eseguito un prelievo di 10 ml sangue intero, utilizzando le provette con l'acceleratore di coagulazione, poi centrifugate a 3000 giri per dieci minuti di cui sono state fatte due aliquote di siero di un ml ciascuna, spedite alla struttura per il dosaggio del colestanolo ematico. I livelli di colesterolo ed il colestanolo ematici sono risultati aumentati. Non sono state invece eseguite le analisi per l'escrezione urinaria di alcoli biliari ed acido chenodeossicolico nella bile.

Agli esami strumentali l'elettrocardiogramma ha mostrato segni di pregresso infarto miocardico e l'ecocardiogramma era normale. Gli studi elettrofisiologici hanno mostrato una polineuropatia sensitiva assonale.

La risonanza magnetica del SNC (encefalo e midollo spinale) non hanno mostrato alterazioni di segnale (tab. III)

Tab. III

Variabile	
Sesso	M
Età	47
Consanguineità	Tra i nonni materni
Xantomi tendinei	si
Cataratta	si
Diarrea	no
Deterioramento mentale	si
Manifestazioni psichiatriche	si
Segni Piramidali	si
Segni cerebellari	si
Segni extrapiramidali	no
Piede cavo	no
Neuropatia periferica	si
Osteoporosi	no
Leucoencefalopatia	No (RMN negativa)
Lesioni del nucleo dentato	no

Il paziente ha negato consanguineità tra i genitori e riferisce consanguineità tra i nonni materni. Entrambe le famiglie sono residenti da 3 generazioni in uno stazzo della costa orientale sarda. All'anamnesi familiare, parzialmente ricostruibile, il paziente riferisce morte in età infantile per cause che non sa precisare in una sorella; cataratta congenita e xantomi tendinei in due fratelli e xantomi tendinei in un altro fratello; riferisce inoltre lieve ritardo mentale e disturbi dell'apprendimento nella figlia, piede piatto e psoriasi nel figlio (fig.10).

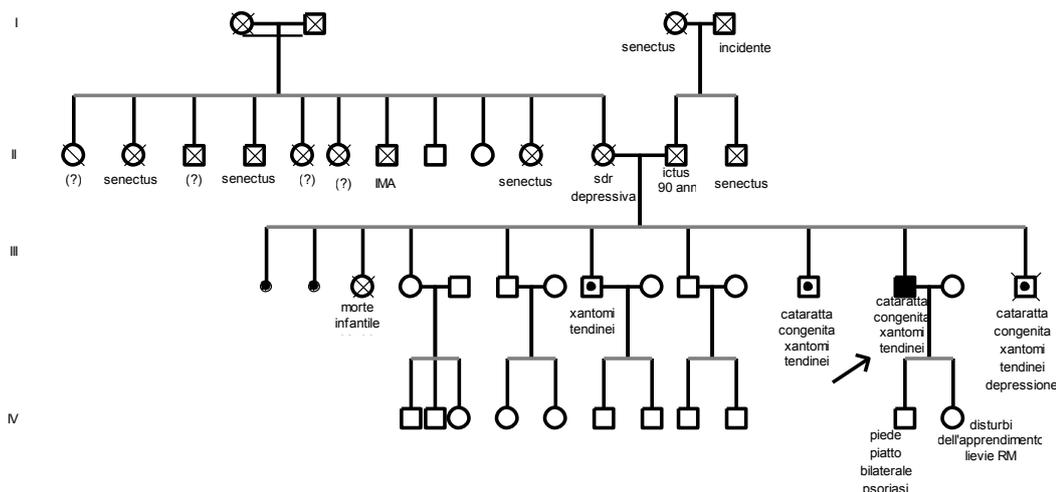


Fig.10

Analisi Molecolare:

L'analisi molecolare è stata eseguita presso il Laboratorio di Neurogenetica del Dipartimento di Scienze Neurologiche, Neurochirurgiche e del Comportamento del Policlinico "Le Scotte" a Siena.

Il DNA è stato estratto da leucociti da sangue periferico utilizzando il Qiamp blood kit (QIAGEN, Limburg, Netherlands). Gli esoni dall'1 al 9 del gene CYP27A1 sono stati amplificati con PCR utilizzando primers specifici per il gene CYP27A1. La regione del promotore del gene CYP27A1 è stata amplificata utilizzando set di primers precedentemente pubblicato⁵⁷. Il sequenziamento con PCR è stato eseguito in entrambe le direzioni, forward and reverse, con sequenziamento automatico^{58,59}.

L'analisi ha rivelato la presenza della mutazione c.1435C> T (Arg479Cys) in omozigosi (fig. 11), descritta in un solo altro caso in omozigosi ed in un solo altro caso in eterozigosi composta. L'esame esteso alla prole ha rilevato la presenza della mutazione in eterozigosi in entrambi i figli. Sono in corso gli esami per la sintomatologia presentata dalla figlia.

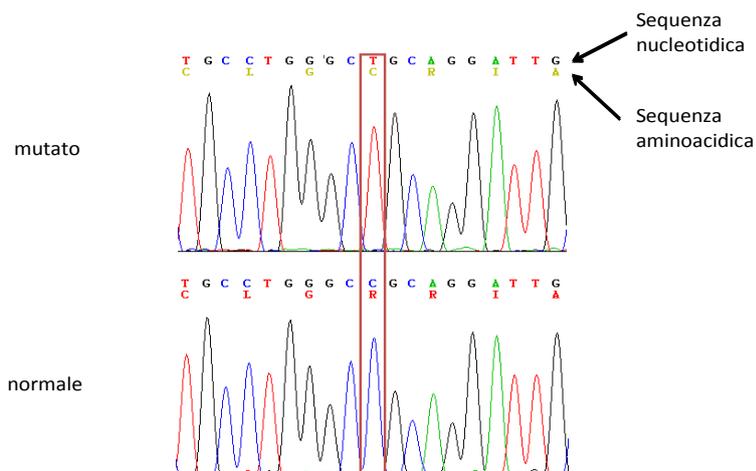


fig. 11

Discussione:

La Xantomatosi Cerebro-tendinea (CTX) è una malattia da accumulo di lipidi considerata una malattia rara nella maggior parte dei gruppi etnici, anche se tra gli ebrei del Marocco ha una incidenza di 1:108.

In Italia sono stati descritti diversi pazienti in varie regioni. Il caso presentato è il primo descritto in Sardegna. Un secondo caso è stato descritto dal gruppo del prof De Marchi di Torino, apparentemente non imparentato con quello da noi riportato.

La diagnosi di CTX è stata confermata da studi molecolari, che hanno rivelato la presenza di una mutazione in omozigosi c.1435C> T (p. Arg479Cys), descritta in precedenza una volta in omozigosi ed una volta in eterozigosi composta.

Il fenotipo clinico del nostro paziente ha mostrato segni abbastanza caratteristiche della malattia: cataratta giovanile, xantomi tendinei, disturbo affettivo bipolare e manifestazioni piramidale. Tuttavia è da sottolineare

che il paziente presentava una RMN normale. Presentava inoltre priapismo non descritto in precedenza.

L'esame di popolazioni geneticamente omogenee e geograficamente isolate, come quella della Sardegna, è un requisito essenziale per ridurre le variabili biologiche e la complessità intrinseca della malattia. Pertanto, questa rara mutazione potrebbe essere tipica della popolazione sarda.

CASO 2: Ipercolesterolemia Familiare Recessiva

Introduzione

L'ARH è considerata una malattia estremamente rara nella maggior parte dei paesi, ad eccezione della Sardegna, dove ha una frequenza di circa 1:40,000 omozigoti ed eterozigoti composti ed una frequenza di portatori eterozigoti di circa 1:143, probabilmente come risultato di un effetto fondatore in alcuni casi e della consanguineità^{60,61}. La Sardegna rappresenta quindi il maggiore serbatoio di casi al mondo nonché una utile fonte di studio.

La malattia è legata a mutazioni del gene *ARH* che si estende per 25 kb e contiene 9 esoni, mappa sul cromosoma 1p36-p35, e codifica per una proteina che interagisce con la coda citoplasmatica del recettore delle LDL. Un difetto di questa proteina causa un aumento dei livelli plasmatici di LDL^{62,63}. L'ipercolesterolemia familiare recessiva è caratterizzata da livelli di LDL ematici 4-5 volte superiori alla norma, xantomatosi imponente ed aterosclerosi precoce. Il trattamento di elezione in questi casi è dato dalla LDL-afèresi.

Caratteristiche Cliniche:

Abbiamo valutato 7 pazienti sardi affetti da ipercolesterolemia familiare. Lo studio della clinica e dell'albero familiare hanno fatto ipotizzare la presenza in questi pazienti di ipercolesterolemia familiare recessiva (ARH), estremamente rara in altre popolazioni ma relativamente frequente in Sardegna.

I pazienti ci sono stati inviati dal Reparto di Nefrologia dell'Ospedale SS Annunziata di Sassari. Alla diagnosi i valori di colesterolo erano di 671 ± 130 mg/dl. Tutti i pazienti presentavano xantomatosi diffusa e nessuno mostrava segni di malattia cardiovascolare. I pazienti sono in trattamento con LDL-afèresi e statine e nessuno ha finora sviluppato patologia coronarica né vascolare periferica.

Analisi molecolare:

L'analisi molecolare è stata eseguita presso i Laboratori di Genetica Molecolare dell'Unità di Medicina Interna, Malattie Metaboliche e Centro per lo Studio delle Dislipidemie Genetiche, del Dipartimento di Medicina Clinica e delle Patologie Emergenti, dell'Università di Palermo.

Caso 2.1 R.A.

Femmina di 9 anni.

Nel primo caso il probando è una bambina di 9 anni, affetta anche da una forma di albinismo dominante senza ipoacusia. La paziente pratica LDL-afèresi due volte al mese e concomitante terapia con statine. Colesterolemia alla diagnosi 400 mg/dl.

All'anamnesi familiare (fig.12) non emerge consanguineità né comune origine geografica nei genitori.

Il ramo materno è apparentemente negativo per patologie geneticamente trasmesse. Nel ramo paterno emerge ipercolesterolemia (diagnosticata all'età di 37 anni) nel padre, di 39 anni, anch'esso affetto da albinismo presente anche nel fratello del padre, nella sorella, in un figlio di questa, nel nonno paterno della bambina ed in alcuni membri della famiglia di questo. In tutti i casi non è stata segnalata ipoacusia.

La paziente è risultata eterozigote composta per le mutazioni c.65G>A Trp22X dell'esone 1 già denominata ARH2 e c.89-1G>C dell'esone 2 già denominata ARH11.

È in corso lo screening familiare

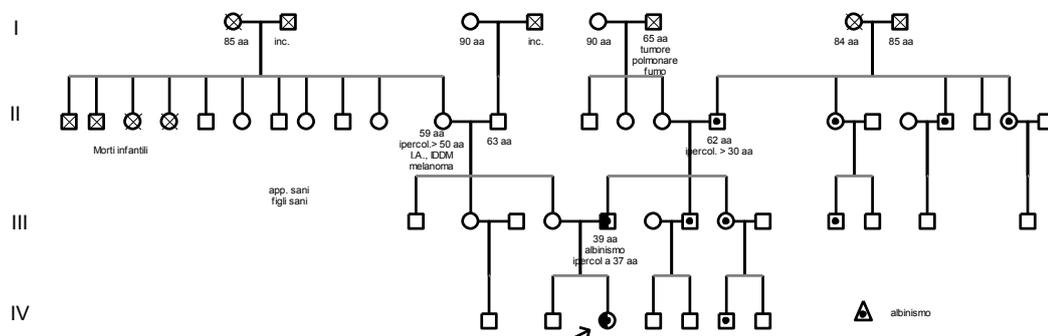


Fig. 12

Caso 2.2 B.G.V.

Femmina di 16 anni.

Nel secondo caso il probando è una ragazza di 16 anni. La paziente pratica LDL-afèresi e concomitante terapia con statine. Colesterolemia alla diagnosi 869 mg/dl.

All'anamnesi familiare non emerge consanguineità. Nel ramo materno emerge un caso di ipercolesterolemia in età giovanile in una cugina della madre. Nel ramo paterno emerge un caso di ipercolesterolemia in età infantile in un cugino ed un caso di infertilità di coppia in una zia (fig. 13).

La paziente è risultata portatrice in omozigosi della mutazione c.432insA>Fs>STOP170 (Ala145LysFsX26) nell'esone 4 del gene ARH, già denominata ARH1.

È in corso lo screening familiare.

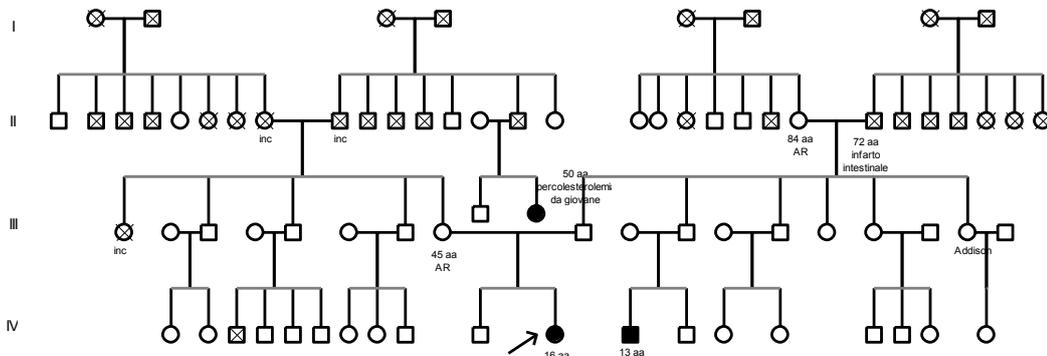


Fig. 13

Caso 2.3 S.F.

Maschio di 25 anni. Il paziente pratica LDL-afèresi due volte al mese e concomitante terapia con statine. Colesterolemia alla diagnosi 400 mg/dl.

All'anamnesi familiare (fig. 14) non è emersa consanguineità ma è presente una comune origine geografica tra i due nonni materni così come tra i due nonni paterni.

Il fratello maggiore del paziente è affetto anch'esso da ipercolesterolemia dall'età di 6 anni, in terapia con LDL-afèresi (colesterolemia alla diagnosi 500 mg/dl). Il ramo materno è apparentemente negativo per patologie geneticamente trasmesse; nel ramo paterno emerge un caso di ritardo mentale in una sorella del padre, mai indagato ed un caso di obesità dalla prima infanzia in una cugina.

Il paziente è risultato portatore in omozigosi della mutazione c.432insA>Fs>STOP170 (Ala145LysFsX26) nell'esone 4 del gene ARH,

già denominata ARH1 e responsabile di Ipercolesterolemia Familiare Recessiva.

Il fratello non desidera eseguire la diagnosi molecolare, consigliata anche negli altri membri della famiglia che per il momento non ritengono opportuno avvalersi di questa possibilità.

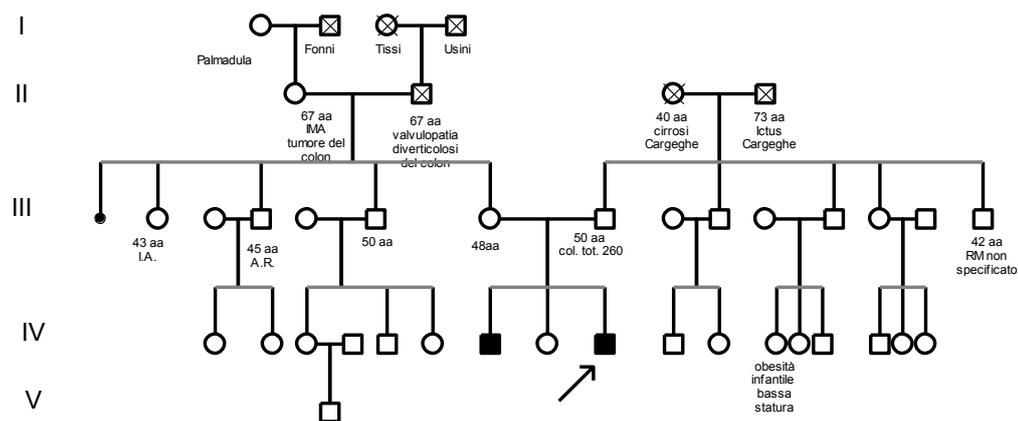


Fig.14

Caso 2.4 R.G.M.

Maschio di 48 anni.

Il paziente pratica LDL-afèresi e concomitante terapia con statine. Colesterolemia alla diagnosi 800 mg/dl.

All'anamnesi familiare (fig.15) non è emersa consanguineità ma comune origine geografica dei quattro nonni. Il paziente riferisce obesità nel figlio di 10 anni che presenta un lieve aumento dei livelli di colesterolo plasmatico (228 mg/dl), così come 3 dei 4 fratelli. Un fratello ha avuto un figlio deceduto alla nascita per la presenza di una malformazione non meglio specificata. Nel ramo materno emerge morte neonatale per cause sconosciute in una sorella della madre; infertilità di coppia in uno zio;

ritardo mentale e del linguaggio in due figli (maschio e femmina) di un cugino di 44 anni affetto da ipercolesterolemia. Nel ramo paterno il paziente riferisce morte in età infantile in un fratellino del padre affetto da ritardo del linguaggio.

È stata identificata una mutazione del gene ARH in eterozigosi che è la ARH2 (c.65G>A - Trp22X).

La mutazione da sola non giustifica il fenotipo presentato dal paziente, è stata pertanto eseguita l'analisi di sequenza del gene del recettore LDL che non ha mostrato alcuna mutazione puntiforme. Il caso è in studio.

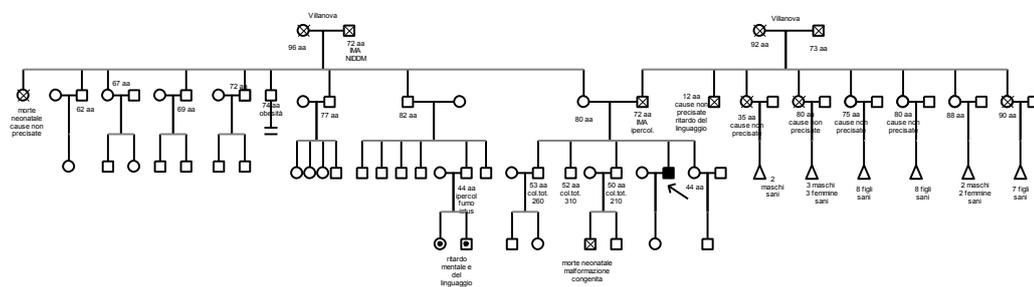


Fig.15

Caso 2.5 S.M.G.R.

Il probando è una giovane donna di 26 anni.

La paziente è inoltre affetta da stenosi severa congenita della valvola polmonare con ipertrofia ventricolare destra (intervento nel 1991). Pratica LDL-afèresi e concomitante terapia con statine. Colesterolemia alla diagnosi 560 mg/dl.

All'anamnesi familiare (fig. 16) non emerge consanguineità, tuttavia tutti e 4 i nonni hanno la stessa provenienza geografica.

La signora riferisce ipercolesterolemia in un fratello di 33 anni.

Nel ramo materno emergono due casi di ipercolesterolemia ad insorgenza adulta in due zii; un caso di problemi scheletrici non meglio identificati di cui non è stato possibile reperire ulteriori informazioni cliniche, in una cugina; un caso di tumore di Wilms, apparentemente sporadico, in un'altra cugina.

Nel ramo paterno emerge ipertrigliceridemia in uno zio.

La paziente è risultata portatrice in omozigosi della mutazione c.432insA>Fs>STOP170 (Ala145LysFsX26) nell'esone 4 del gene ARH, già denominata ARH1.

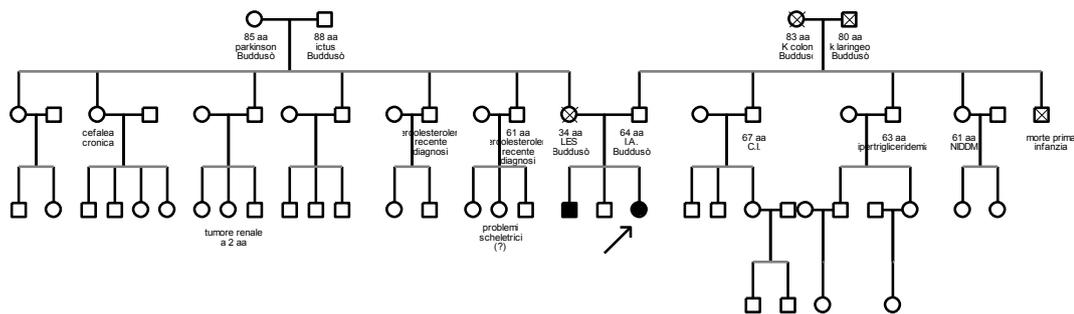


Fig. 16

Caso 2.6 F.A.

Maschio di 29 anni.

Il paziente pratica LDL-afèresi e concomitante terapia con statine.

Colesterolemia alla diagnosi 550 mg/dl.

All'anamnesi familiare (fig. 17) emerge consanguineità nei nonni materni (cugini di I grado). Il paziente riferisce inoltre stenosi valvolare congenita in un fratello.

Nel ramo materno emerge poliabortività in una zia; morte infantile per cause non specificate, associata a problemi nella deambulazione in un fratellino della madre; cerebropatia congenita non meglio specificata in una cugina; ipercolesterolemia nella figlia di un cugino, di 6 anni; cardiopatia congenita nel figlio di una cugina.

Il ramo materno è apparentemente negativo per patologie geneticamente trasmesse. Nel ramo paterno emerge ipercolesterolemia nel padre (deceduto all'età di 94 anni) in due fratelli (uno dei quali deceduto all'età di 71 anni), in una sorella, in due figli ed una figlia di questa, in 4 cugini del paziente, in 6 cugini del padre del paziente e nella nipote di uno di questi ultimi. Emerge inoltre morte neonatale in due fratellini e morte in età giovanile in una zia paterna, in nessuno dei casi è nota la causa del decesso.

Il paziente è portatore della mutazione ARH1 in eterozigosi. La mutazione da sola non giustifica il fenotipo presentato dal paziente, è stata pertanto eseguita l'analisi di sequenza del gene del recettore LDL che ha mostrato una mutazione in eterozigosi c.1778delG-G593AfsX72 (nt 1778 del G)sull'esone 12 denominata anche Sassari-1.

Si tratta verosimilmente di una forma dominante legata alla mutazione del gene *LDLR*, verosimilmente modulata dalla presenza della mutazione in eterozigosi del gene *ARH*.

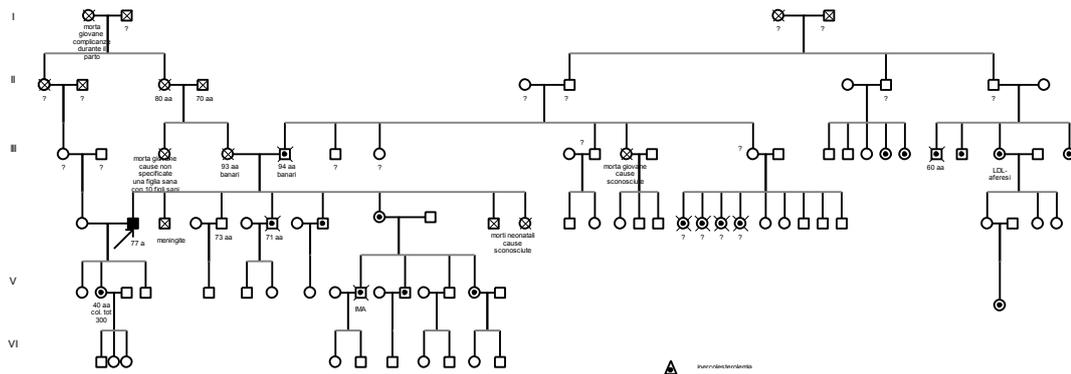


Fig. 18

Discussione:

L'inquadramento genetico delle ipercolesterolemie familiari è utile non solo per la determinazione del rischio riproduttivo e familiare e per la diagnosi precoce, ma anche per l'indirizzo terapeutico, è stato visto infatti che la LDL-afèresi rappresenta una terapia valida per i pazienti affetti da ARH omozigote e che i risultati ottenibili sono favoriti dalla concomitante terapia con statina, garantendo nell'insieme un'adeguata protezione cardiovascolare nel lungo termine. Inoltre poiché la patologia è una malattia estremamente rara nella maggior parte dei paesi, ad eccezione della Sardegna, dove ha una frequenza di circa 1:40,000 di omozigoti ed eterozigoti composti ed una frequenza di portatori eterozigoti di circa 1:143, la nostra popolazione rappresenta il maggiore serbatoio di casi al mondo e come tale una utile fonte di studio.

CONCLUSIONI

Da quanto esposto appare evidente che nell'ambito della nostra popolazione, facendo con ciò riferimento all'utenza che gravita sulle strutture sanitarie di Sassari, Olbia e in parte della provincia Nuoro, era fortemente sentita l'esigenza di un Servizio di Consulenza di Genetica Clinica, non soltanto di supporto ai Laboratori di Citogenetica, già operanti, ma anche per le patologie genetiche monogeniche o complesse. Lo dimostra il gran numero di consulenze erogate per sindromi malformative e ritardo mentale, per sterilità di coppia e poliabortività, per patologie neurodegenerative o per malattie metaboliche, richieste da vari reparti, da Medici di Medicina Generale e Medici specialisti in Pediatria.

Accanto a questo aspetto, squisitamente assistenziale, va ricordato l'aspetto della ricerca scientifica, che trae impulso e fondamento proprio dall'attività del Servizio di Genetica Clinica sia ambulatoriale che laboratoristica. L'approfondimento diagnostico, programmato ed avviato ad esecuzione in sede di consulenza, grazie anche ad una rete di collaborazione a livello nazionale con altre strutture che si occupano della materia, e la particolarità di isolato genetico della nostra popolazione rende possibile la selezione di casi clinici di interesse scientifico e stimola l'attività di ricerca.

BIBLIOGRAFIA

1. La consulenza genetica. Monografia a cura di Massimo Gennarelli, DM: periodico della UILDM / edito da Unione italiana lotta alla distrofia muscolare, Direzione nazionale 2004, n. 153/ottobre
2. Elizabeth McPherson, MD Genetic Diagnosis and Testing in Clinical Practice Clinical Medicine & Research Volume 4, Number 2: 123-129
3. www.orpha.net
4. Resta R, Biesecker BB, Bennett RL, Blum S, Estabrook Hahn S, Strecker MN, Williams JL. 2006. A new definition of genetic counseling: National Society of Genetic Counsellors' task force report. J Genet Counsel 15: 77-83
5. Genetic counseling - Pina-Neto JM Jornal de Pediatria - Vol. 84, N° 4 (Suppl), 2008 S25
6. Alexandra Murray, Clinical genetics, 01 mag 2004 MJ Careers.
7. http://www.clingensoc.org/info_genetics.htm della Clinical Genetics Society UK
8. Dohle GR, Colpi GM, Hargreave TB, Papp GK, Jungwirth A, Weidner W; The EAU Working Group on Male Infertility. EAU guidelines on male infertility. Eur Urol 2005;48:703-11.
9. Foresta C, Ferlin A, Gianaroli L, Dallapiccola B. Guidelines for the appropriate use of genetic tests in infertile couples. Eur J Hum Genet 2002;10:303-12.
10. Gazvani R, Lewis-Jones I. Cystic fibrosis screening in assisted reproduction. Curr Opin Obstet Gynecol 2006;18:268-72.

11. Gekas J, Thepot F, Turleau C, Siffroi JP, Dadoune JP, Briault S, Rio M, Bourouillou G, Carré- Pigeon F, Wasels R, Benzacken B; Association des Cytogeneticiens de Langue Francaise. Chromosomal factors of infertility in candidate couples for ICSI: an equal risk of constitutional aberrations in women and men. *Hum Reprod* 2001;16:82-90.
12. Peschka B, Leygraaf J, Van der Ven K, Montag M, Schartmann B, Schubert R, van der Ven H, Schwanitz G. Type and frequency of chromosome aberrations in 781 couples undergoing intracytoplasmic sperm injection. *Hum Reprod* 1999;14:2257-63.
13. Riccaboni A, Lalatta F, Caliarì I, Bonetti S, Somigliana E, Ragni G. Genetic screening in 2,710 infertile candidate couples for assisted reproductive techniques: results of application of Italian guidelines for the appropriate use of genetic tests. *Fertil Steril* 2008;89:800-8.
14. Stuppia L, Antonucci I, Binni F, Brandi A, Grifone N, Colosimo A, De Santo M, Gatta V, Gelli G, Guida V, Majore S, Calabrese G, Palka C, Ravani A, Rinaldi R, Tiboni GM, Ballone E, Venturoli A, Ferlini A, Torrente I, Grammatico P, Calzolari E, Dallapiccola B. Screening of mutations in the CFTR gene in 1195 couples entering assisted reproduction technique programs. *Eur J Hum Genet* 2005;13:959-64.
15. Bansal V, Suresh S, Suresh I, Jagadeesh S, Fazal GJ. Genetic counseling in chromosomal abnormalities. *J Prenat Diagn Ther* 2010;1:14-9
16. Muthuswamy V. Ethical issues in genetic counselling with special reference to haemoglobinopathies. *Indian J Med Res.* 2011 Oct;134(4):547-51.

17. Stembalska A, Slezak R, Pesz K, Gil J, Sasiadek M. Prenatal diagnosis-principles of diagnostic procedures and genetic counseling. *Folia Histochem Cytobiol.* 2007;45 Suppl 1:S11-6. Review.
18. Genetic counseling - Pina-Neto JM *Jornal de Pediatria* - Vol. 84, N° 4 (Suppl), 2008 S25
19. Gjerris AC, Loft A, Pinborg A, Christiansen M, Tabor A. Prenatal testing among women pregnant after assisted reproductive techniques in Denmark 1995-2000: a national cohort study. *Hum Reprod* 2008;23:1545-52.
20. Koren G. Fetal risks of maternal pharmacotherapy: identifying signals. *Handb Exp Pharmacol.* 2011;205:285-94
21. Behringer T, Rollman BL, Herbeck-Belnap B, Houck PR, Mazumdar S, Schwarz EB. Impact of physician counseling and perception of teratogenic risks: a survey of 96 nonpregnant women with anxiety. *Prim Care Companion CNS Disord.* 2011;13(2).
22. Alexandra Murray, *Clinical genetics*, 01 mag 2004 *MJ Careers*
23. http://www.clingensoc.org/info_genetics.htm della Clinical Genetics Society UK
24. Laukaitis CM. *Genetics for the General Internist.* *Am J Med.* 2011 Nov 11
25. Sharff ME, Demarco TA, Mays D, Peshkin BN, Valdimarsdottir HB, Garber JE, Schneider KA, Patenaude AF, Tercyak KP. Parenting Through Genetic Uncertainty: Themes in the Disclosure of Breast Cancer Risk Information to Children. *Genet Test Mol Biomarkers.* 2011 Nov 15.

26. Hayat Roshanai A, Lampic C, Ingvoldstad C, Askmalm MS, Bjorvatn C, Rosenquist R, Nordin K. What Information Do Cancer Genetic Counselees Prioritize? *J Genet Couns.* 2011 Oct 13
27. Buchanan AH, Stopfer JE. Genetic counseling in oncology. *JAMA.* 2011 Oct 5;306(13):1442
28. Afsaneh Roshanai 1 , Karin Nordin 1,2 , Cathrine Bjorvatn, Katharina Wollf 3 , Ellen M. Mikkelsen 4 , Ingvar Bjelland & Gerd Kvale Is genetic counseling a stressful event? *Acta Oncologica*, 2011; Early Online, 1–9
29. Forrest LE, Curnow L, Delatycki MB, Skene L, Aitken MA. 2008b. Health first, genetics second: Exploring families' experiences of communicating genetic information. *Eur J Hum Genet* **16**: 1329–1335
30. Gaff CL, Clarke AJ, Atkinson P, Sivell S, Elwyn G, Iredale R, Thornton H, Dundon J, Shaw C, Edwards A. 2007. Process and outcome in communication of genetic information within families: A systematic review. *Eur J Hum Genet* **15**: 999–1011
31. Rosenthal MS, Pierce HH. Inherited medullary thyroid cancer and the duty to warn: revisiting Pate v. Threlkel in light of HIPAA. *Thyroid.* 2005 Feb;15(2):140-5.
32. Pate v. Threlkel. 1995. Wests South Report: Florida. Supreme Court. pp 278–282
33. Safer v. Estate of Pack. 1996. Atl Report: New Jersey. Superior Court, Appellate Division. pp 1188–1193
34. Forrest LE, Delatycki MB, Curnow L, Skene L, Aitken M. Genetic health professionals and the communication of genetic information in families: Practice during and after a genetic consultation. *Am J Med Genet A.* 2010 Jun;152A(6):1458-66

35. Dugan RB, Wiesner GL, Juengst ET, O'Riordan M, Matthews AL, Robin NH. 2003. Duty to warn at-risk relatives for genetic disease: Genetic counselors' clinical experience. *Am J Med Genet Part C* 119C: 27–34
36. Ormond KE et al., *Am Genet J Med C Semin Genet Med* 2003; 119: 70-77
37. Gaff CL, Clarke AJ, Atkinson P, Sivell S, Elwyn G, Iredale R, Thornton H, Dundon J, Shaw C, Edwards A. 2007. Process and outcome in communication of genetic information within families: A systematic review. *Eur J Hum Genet* 15: 999–1011.
38. Forrest K, Simpson SA, Wilson BJ, van Teijlingen ER, McKee L, Haites N, Matthews E. 2003. To tell or not to tell: Barriers and facilitators in family communication about genetic risk. *Clin Genet* 64: 317–326
39. Clarke A, Richards M, Kerzin-Storrar L, Halliday J, Young MA, Simpson SA, Featherstone K, Forrest K, Lucassen A, Morrison PJ, Quarrell OWJ, Stewart H. Genetic professionals' reports of nondisclosure of genetic risk information within families. *European Journal of Human Genetics* (2005) 13, 556–562
40. Dugan RB, Wiesner GL, Juengst ET, O'Riordan M, Matthews AL, Robin NH. 2003. Duty to warn at-risk relatives for genetic disease: Genetic counselors' clinical experience. *Am J Med Genet Part C* 119C: 27–34).
41. Falk MJ, Dugan RB, O'Riordan MA, Matthews AL, Robin NH. 2003. Medical geneticists' duty to warn at-risk relatives for genetic disease. *Am J Med Genet Part A* 120A: 374–380.
42. Suthers GK, Armstrong J, McCormack J, Trott D. 2006. Letting the family know: Balancing ethics and effectiveness when notifying relatives about genetic testing for a familial disorder. *J Med Genet* 43: 665–670.

43. Kerzin-Storarr L, Wright C, Williamson PR, Fryer A, Njindou A, Quarrell O, Donnai D, Craufurd D. Comparison of genetic services with and without genetic registers: access and attitudes to genetic counselling services among relatives of genetic clinic patients. *J Med Genet*. 2002 Dec;39(12):e85.
44. Wright C, Kerzin-Storarr L, Williamson PR, Fryer A, Njindou A, Quarrell O, Donnai D, Craufurd D. 2002. Comparison of genetic services with and without genetic registers: Knowledge, adjustment, and attitudes about genetic counselling among probands referred to three genetic clinics. *J Med Genet* 39: e84.
45. Laura E. Forrest, Martin B Delatycki, Loane Skene and MaryAnne Aitken. Communicating genetic information in families – a review of guidelines and position papers *European Journal of Human Genetics* (2007) 15, 612–618
46. Clarke A, Richards M, Kerzin-Storarr L, Halliday J, Young MA, Simpson SA, Featherstone K, Forrest K, Lucassen A, Morrison PJ, Quarrell OWJ, Stewart H. Genetic professionals' reports of nondisclosure of genetic risk information within families. *European Journal of Human Genetics* (2005) 13, 556–562
47. Forrest LE, Burke J, Bacic S, Amor DJ. 2008a. Increased genetic counseling support improves communication of genetic information in families. *Genet Med* 10: 167–172
48. Hallowell N, Murton F. 1998. The value of written summaries of genetic consultations. *Patient Educ Couns* 35: 27–34.
49. Hallowell N. 1998. Providing letters to patients—Patients find summary letters useful. *Br Med J* 316: 1830–1830.

50. Nancy Steinberg Warren. Introduction to the Special Issue: Toward Diversity and Cultural Competence in Genetic Counseling *J Genet Counsel* 2011 Dec;20(6):543-6
51. Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla biomedicina, Oviedo il 4 aprile 1997, Consiglio d'Europa, Serie dei trattati europei - n. 164
52. Moghadasian MH, Salen G, Frohlich JJ, Scudamore CH. Cerebrotendinous xanthomatosis: a rare disease with diverse manifestations. *Arch Neurol*. 2002 Apr;59(4):527-9. Review.
53. Federico A, Dotti MT. Cerebrotendinous xanthomatosis: clinical manifestations, diagnostic criteria, pathogenesis, and therapy. *J Child Neurol*. 2003 Sep;18(9):633-8. Review.
54. Pilo de la Fuente B, Ruiz I, Lopez de Munain A, Jimenez-Escrig A. Cerebrotendinous xanthomatosis: neuropathological findings. *J Neurol*. 2008 Jun;255(6):839-42.
55. Salen, G., Berginer, V., Shore, V., Horak, I., Horak, E., Tint, G. S., Shefer, S. Increased concentrations of cholestanol and apolipoprotein B in the cerebrospinal fluid of patients with cerebrotendinous xanthomatosis: effect of chenodeoxycholic acid. *New Eng. J. Med.* 316: 1233-1238, 1987
56. C. Scriver et al, *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, Eighth Edition, 2001
57. Leitersdorf E, Reshef A, Meiner V et al. Frameshift and splice-junction mutations in the sterol 27-hydroxylase gene cause cerebrotendinous xanthomatosis in Jews of Moroccan origin. *J Clin Invest* 1993; 91: 2488-2496
58. Gupta RP, Patrick K, Bell NH. Mutational analysis of CYP27A1: assessment of 27-hydroxylation of cholesterol and 25-hydroxylation of vitamin D. *Metabolism*. 2007 Sep;56(9):1248-55.

59. Gallus GN, Dotti MT, Federico A. Clinical and molecular diagnosis of cerebrotendinous xanthomatosis with a review of the mutations in the CYP27A1 gene. *Neurol Sci.* 2006 Jun;27(2):143-9. Review.
60. Filigheddu F, Quagliarini F, Campagna F, Secci T, Degortes S, Zaninello R, Argiolas G, Verna R, Pitzoi S, Frau F, Troffa C, Bulla E, Bertolini S, Glorioso N, Arca M, Prevalence and clinical features of heterozygous carriers of autosomal recessive hypercholesterolemia in Sardinia. *Atherosclerosis* 207 (2009) 162–167
61. Arca, M., Zuliani, G., Wilund, K., Campagna, F., Fellin, R., Bertolini, S., Calandra, S., Ricci, G., Glorioso, N., Maioli, M., Pintus, P., Carru, C., Cossu, F., Cohen, J., Hobbs, H. H. Autosomal recessive hypercholesterolaemia in Sardinia, Italy, and mutations in ARH: a clinical and molecular genetic analysis. *Lancet* 359: 841-847, 2002
62. Pisciotta L, Priore Oliva C, Pes GM, Di Scala L, Bellocchio A, Fresa R, Cantafora A, Arca M, Calandra S, Bertolini S. Autosomal recessive hypercholesterolemia (ARH) and homozygous familial hypercholesterolemia (FH): A phenotypic comparison. *Atherosclerosis* 188 (2006) 398–405
63. Harada-Shiba, M., Takagi, A., Miyamoto, Y., Tsushima, M., Ikeda, Y., Yokoyama, S., Yamamoto, A. Clinical features and genetic analysis of autosomal recessive hypercholesterolemia. *J. Clin. Endocr. Metab.* 88: 2541-2547, 2003