



## INFORMATIVA

### Analisi Molecolare del Gene *DMD* (Distrofia Muscolare di Duchenne/Becker)

Nella relazione di cura fra medico e paziente è importante che vi siano dei momenti in cui confrontarsi sulle scelte di salute: in particolare, è suo diritto ricevere tutte le informazioni necessarie per poter scegliere in modo consapevole.

Questo documento ha lo scopo di affiancare il medico nel fornirle un'informazione corretta e completa sul test che sta per eseguire, affinché Lei possa esprimere una scelta libera e informata.

#### 1. Le basi genetiche della patologia:

Le Distrofie Muscolari di Duchenne (DMD) e di Becker (DMB), chiamate anche distrofinopatie, sono le forme più frequenti di distrofia muscolare dell'età pediatrica (1 caso ogni 3500 maschi). Sono malattie a carattere ereditario, correlate a mutazioni del gene della Distrofina. Questo gene contiene le informazioni per produrre la proteina Distrofina che permette al muscolo di funzionare correttamente. Il gene è localizzato sul cromosoma X e, a causa delle sue mutazioni, si ammalano solo i maschi (cromosomi sessuali XY) mentre le femmine (cromosomi sessuali XX) che presentano un'alterazione su uno dei due cromosomi X sono portatrici sane. Per questa ragione la modalità di trasmissione della malattia viene definita "recessiva e legata al cromosoma X". Ad ogni concepimento le portatrici sane hanno 1 probabilità su 2 di avere un figlio maschio affetto. Le mutazioni più frequenti (65% dei casi) sono delezioni (perdita) e duplicazioni (raddoppio) di interi segmenti del gene (esoni). Nel rimanente 35% dei casi le mutazioni responsabili della malattia sono mutazioni puntiformi (alterazioni di piccole dimensioni).

#### 2. Finalità del test:

La finalità del test è di identificare il difetto del gene della distrofina responsabile della patologia che si è manifestata nella sua famiglia.

- Da questa conoscenza deriva la possibilità di:
- Confermare la diagnosi per un paziente con sospetto clinico di malattia.
- Definire il rischio genetico e riproduttivo del soggetto affetto e/o delle donne imparentate con la persona malata.
- Definire l'eventuale stato di portatrice di un soggetto di sesso femminile con aumento del CK serico (enzima la cui concentrazione nel sangue aumenta in caso di danno muscolare), anche quando non esista alcuna parentela con un soggetto affetto da DMD/DMB (iperckemia isolata).
- Definire se è possibile eseguire un'eventuale diagnosi prenatale per le donne con rischio aumentato rispetto alla popolazione generale.

#### 3. Informazioni sul test:

L'analisi genetica molecolare è il test che analizza frammenti di DNA che viene estratto da un campione di sangue periferico. Il test serve ad identificare l'anomalia presente nel patrimonio genetico dei soggetti malati o delle portatrici sane di DMD/BMD.

Per l'analisi del gene vengono utilizzate le seguenti metodiche:

##### Metodo diretto:

- Ricerca di delezioni/duplicazioni mediante analisi del gene della distrofina
- Ricerca di mutazioni puntiformi (non eseguibile nel nostro laboratorio)

##### Metodo indiretto:

Analisi di trasmissione familiare (analisi di linkage) con marcatori del gene della distrofina per seguire, attraverso le generazioni, l'ereditarietà del gene che è associato alla malattia, ossia presente nel



soggetto affetto. Questa analisi viene utilizzata soltanto per definire il rischio genetico delle donne imparentate con un soggetto affetto da distrofinopatia, quando la mutazione non è nota (soggetto affetto non disponibile all'analisi) oppure quando il maschio affetto non presenta delezioni/duplicazioni (probabile mutazione puntiforme). L'analisi di trasmissione viene eseguita sul nucleo familiare analizzando le donne interessate alla definizione del loro rischio, le donne già identificate come portatrici, i maschi sani della famiglia e, ove possibile, il soggetto affetto.

#### **4. Possibili risultati del test:**

##### **Per soggetti di sesso maschile**

Presenza di una delezione/duplicazione:

- Caratterizzazione dell'alterazione genica responsabile del quadro clinico del paziente.
- Conferma della diagnosi in caso di sospetto clinico di malattia.
- Non è possibile dare una conferma al sospetto clinico di malattia.
- Nel caso il paziente abbia già una diagnosi clinica certa di DMD/DMB (basata su esito di biopsia muscolare), si presume che il difetto genico sia una mutazione puntiforme (ricerca da eseguire presso altro laboratorio).
- Se si tratta di soggetto maschile imparentato con soggetto affetto la cui mutazione è già stata identificata, l'assenza di delezione/duplicazione esclude la presenza della patologia.

##### **Per soggetti di sesso femminile con familiarità con soggetto affetto**

Mutazione nota - Quando la mutazione del malato è nota, è possibile ricercare questa mutazione nelle donne imparentate con il paziente.

- Presenza della mutazione: portatrice sana.
- Assenza della mutazione: esclusione dello stato di portatrice sana.

Mutazione non nota - Se non è conosciuta la mutazione familiare, l'assenza di delezione/duplicazione in una donna non è significativa ed è necessario eseguire un'analisi di trasmissione familiare (metodo indiretto).

In questo caso, i possibili risultati sono:

- La presenza del gene associato alla malattia (ossia identificato nel soggetto affetto) consente di definire un rischio genetico e riproduttivo.
- L'assenza del gene a rischio esclude lo stato di portatrice.

##### **Per soggetti di sesso femminile con iperckemia isolata**

- Presenza di una delezione/duplicazione: conferma dello stato di portatrice sana.
- Assenza di delezione/duplicazione: risultato non conclusivo. Nel caso la paziente abbia già una diagnosi clinica certa di portatrice di DMD/DMB (basata su esito di biopsia muscolare), si presume che il difetto genico sia una mutazione puntiforme (ricerca da eseguire presso altro laboratorio).

In caso di gravidanza, le donne con rischio aumentato (sia con il metodo diretto che con quello indiretto) possono usufruire della diagnosi prenatale.

I risultati vengono sempre comunicati con un valore percentuale di attendibilità (massima attendibilità: 99%) calcolato sulla base dei vari parametri considerati.



## **5. Quali notizie inattese possono emergere dal test**

- Mancata correlazione familiare imputabile a presumibile non-paternità.
- Riscontro inatteso di una mutazione in un soggetto di sesso maschile che accede al test come "soggetto sano necessario all'indagine".
- Possibilità di evidenziare caratteristiche genetiche diverse da quelle per cui è stata richiesta l'indagine.

Secondo le norme di legge attuali, Lei può chiedere di non essere informato di tali risultati. Potrà pertanto dichiarare la sua volontà nell'allegato consenso informato al trattamento dei dati genetici.

## **6. Possibili limiti del test:**

- Nella ricerca di delezioni/duplicazioni, un test negativo non è conclusivo se non si conosce la mutazione presente nella persona malata: la non identificazione di una delezione/duplicazione non consente quindi di escludere lo stato di portatrice della donna analizzata in quanto la mutazione responsabile della patologia in quella data famiglia potrebbe essere una mutazione puntiforme. In tal caso, in questo laboratorio si esegue l'analisi di trasmissione familiare.
- Limite nella risoluzione dell'analisi di trasmissione familiare dovuto ad alcuni fattori imprevedibili quali:
  - i. Presenza di ricombinazioni geniche: al momento del concepimento e delle successive divisioni cellulari, può avvenire una rottura dei due geni della distrofina materni con scambio di frammenti di DNA tra il gene normale e quello associato alla malattia. In tale caso, è difficile definire con precisione il rischio genetico del soggetto con ricombinazione.
  - ii. Se i marcatori utilizzati nell'analisi di trasmissione non sono informativi, cioè non sono in grado di distinguere in una donna portatrice il gene della distrofina normale da quello alterato, è difficile definire con precisione il rischio genetico per la futura prole.
  - iii. E' possibile che l'analisi molecolare non sia conclusiva. In alcuni casi selezionati verrà proposto al/paziente un approfondimento diagnostico da eseguire presso altro Laboratorio dell'Ente (ricerca delle mutazioni puntiformi).

Si ricorda che, in assoluto, gli studi sul DNA/RNA non costituiscono un test diagnostico definitivo per tutti i casi e non sono esenti da possibilità di errore diagnostico. Tali errori possono essere dovuti a scambio di campioni, errori di identificazione e di definizione del genotipo. Questi ultimi possono derivare da tracce di contaminazione nelle reazioni, da contaminazione dei campioni in esame da DNA/RNA estraneo, da rare varianti genetiche che possono interferire con l'analisi, da risultati falsi negativi o falsi positivi. Pertanto la probabilità di errore diagnostico ammonta all'1% circa.

## **7. Conservazione campione biologico e dati genetici**

Il suo campione biologico verrà conservato presso il Laboratorio di Genetica Medica per il periodo di tempo strettamente necessario all'eventuale verifica dei risultati, salvo diversa disposizione da Lei espressa nell'allegato consenso informato al trattamento dei dati genetici. I suoi dati genetici verranno conservati presso il Laboratorio secondo quanto previsto dalla normativa vigente.

## **8. Modalità e tempi di consegna dei referti**

I risultati dell'esame, sia negativi che positivi, saranno immediatamente comunicati all'interessato/a dal medico Genetista o dallo Specialista che ha proposto il test, secondo i tempi concordati (tempo di risposta circa 30 giorni lavorativi), definendo con il paziente le modalità di ritiro del referto.

**A chi chiedere ulteriori informazioni:** Dott.ssa Silvana Tedeschi Tel: 02. 5503 2432