

# Il bambino con emofilia

Diagnosi pre-natale e genetica

*Maurizio Margaglione*

Genetica Medica- Centro Emofilia  
Università degli Studi di Foggia

Padova, 14 maggio 2016



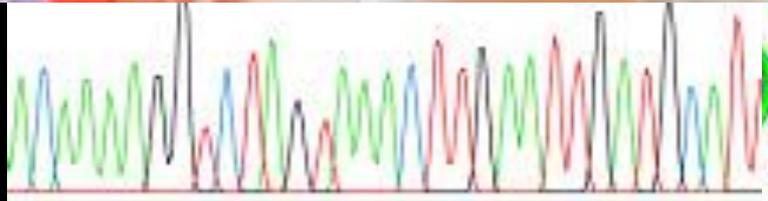
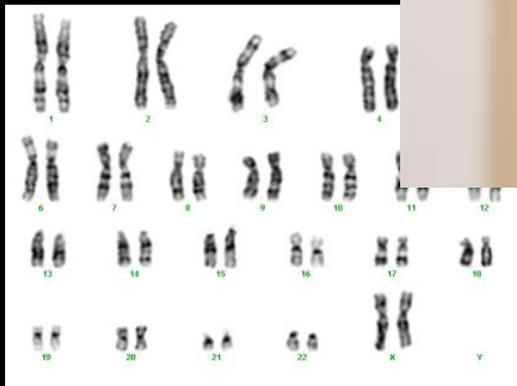
# Diagnosi genetica

➤ Diagnosi di una malattia genetica?

➤ Diagnosi genetica

➤ Cos'è

un test



# בְּרִית מִילָה, berit milah; "patto della circumcissione"



Leviticus 12:

ב דָּבַר אֶל־בְּנֵי יִשְׂרָאֵל לֵאמֹר אֲשֶׁה כִּי  
תִּזְרִיעַ וַיִּלְדָּה זָכָר וְטִמְאָה שְׁבַע יָמִים  
כִּי־מִי נִדְּתָה דְוָתָה תִּטְמָא: ג וּבַיּוֹם הַשְּׁמִינִי  
יִמּוֹל בְּשָׂר עֶרְלָתוֹ: ד וּשְׁלֹשִׁים יוֹם  
וּשְׁלֹשֶׁת יָמִים תֵּשֵׁב בְּדַמֵּי טְהָרָה  
בְּכֹל־קֹדֶשׁ לֹא־תִגַּע וְאֶל־הַמִּקְדָּשׁ לֹא  
תָבֹא עַד־מְלֵאת יְמֵי טְהָרָה:  
ה וְאִם־נִקְבְּהָ תֵלֵד וְטִמְאָה שְׁבַע יָמִים  
כְּנִדְתָּהּ וּשְׁשִׁים יוֹם וְשֹׁשֶׁת יָמִים תֵּשֵׁב  
עַל־דַּמֵּי טְהָרָה:

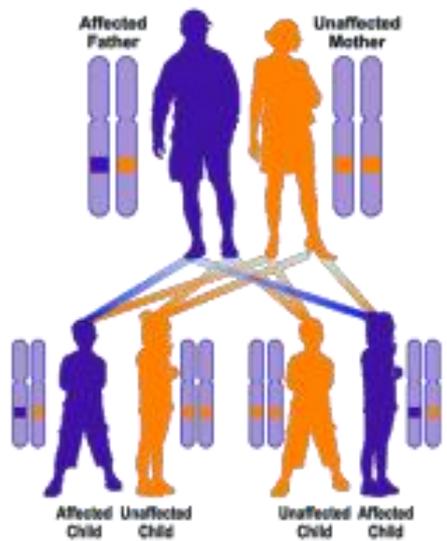
Già 2000 anni fa circa, le autorità religiose ebraiche non ammettevano alla pratica della circumcissione un neonato figlio di una donna:

- che aveva perso già due figli per emorragia;
- la cui sorella aveva perso il proprio figlio per emorragia dopo la circumcissione .

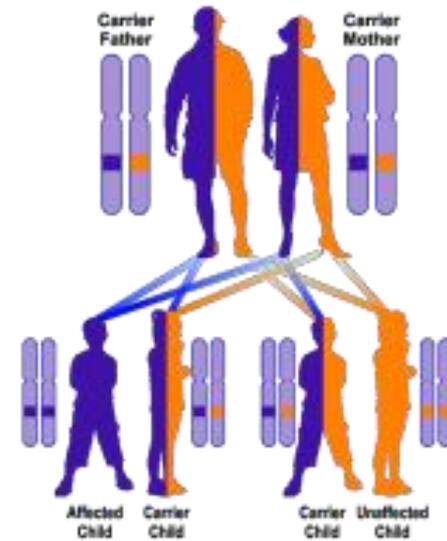
# Quando una donna è una portatrice di emofilia?

- **Figlia biologica di un emofilico**
- **Madre biologica di più di un emofilico**
- **Madre biologica di un emofilico e con un altro familiare emofilico**
- **Madre biologica di un emofilico**
- **Sorella di un emofilico**

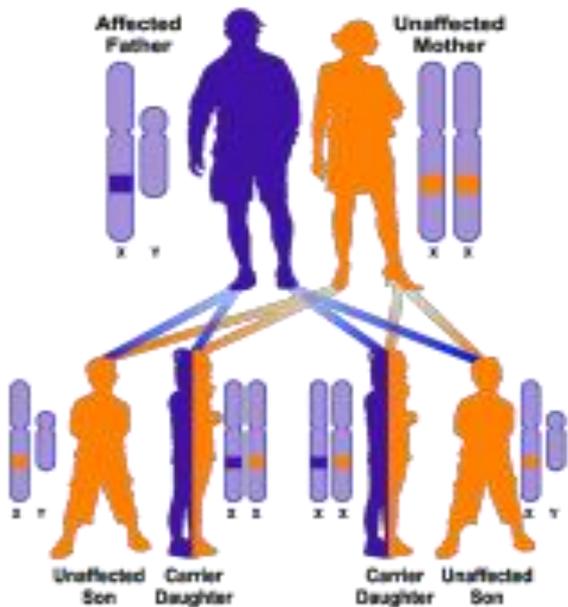
### Autosomal Dominant



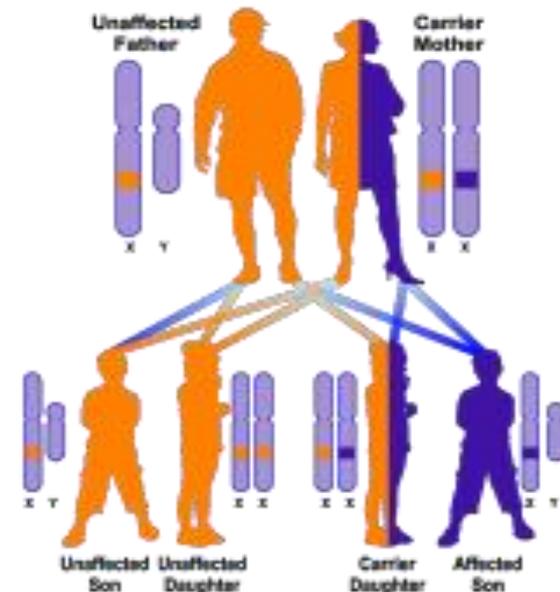
### Autosomal Recessive



### X-linked Recessive, Affected Father



### X-linked Recessive, Carrier Mother



**Mendel (1822-1884)**

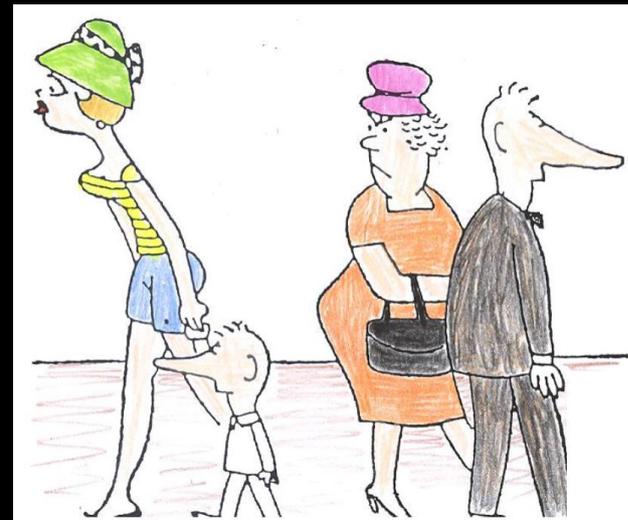


# Anamnesi familiare negativa

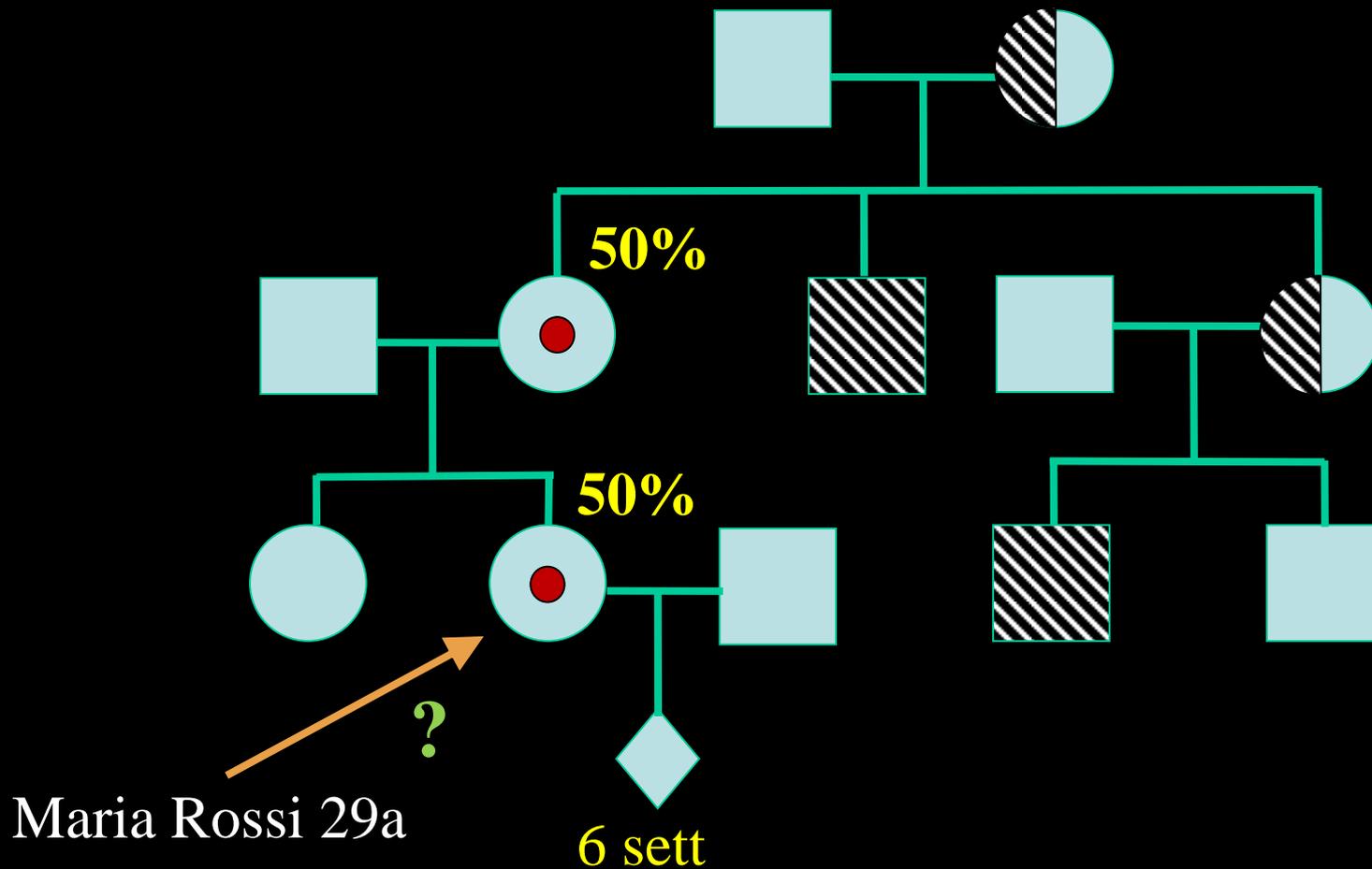
Unico caso in famiglia

Implicazioni per il rischio di ricorrenza nella famiglia

- ▶ Autosomico recessiva ?
- ▶ X-linked ?
- ▶ Autosomico dominante: mutazione *de novo*, penetranza incompleta ?
- ▶▶ Falsa paternità/adozione ?



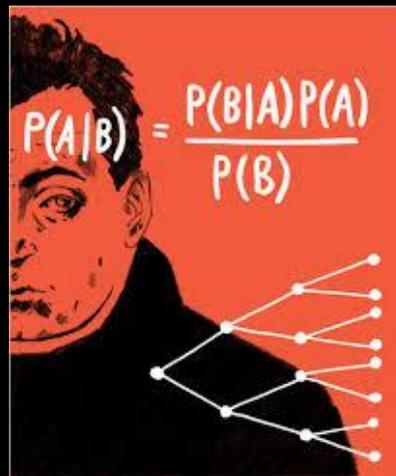
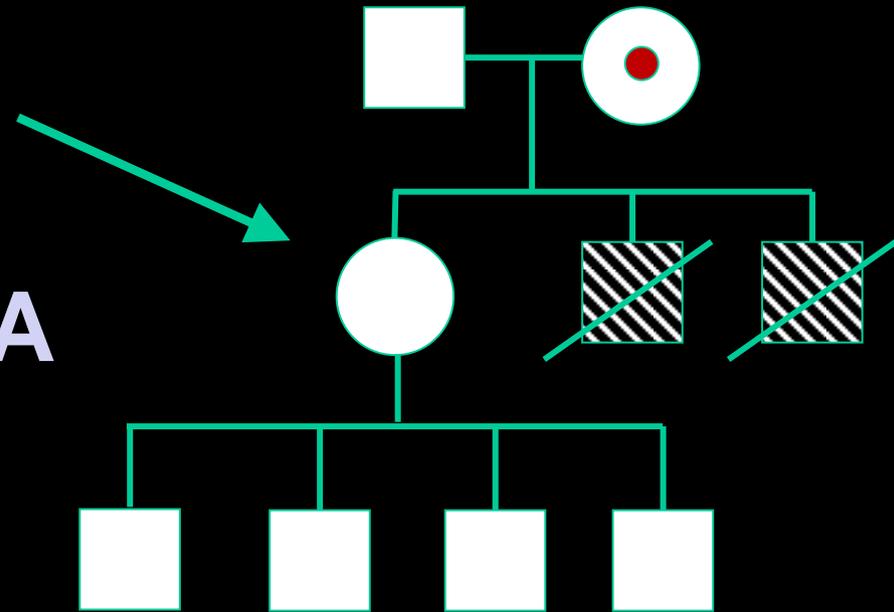
# Qual'è il rischio di Maria di essere carrier di HA?



Probabilità di essere portatrice:  $\frac{1}{2} \times \frac{1}{2} = \frac{1}{4}$

La probabilità che la consultanda II-1 sia portatrice di Emofilia A è:

- ha 2 fratelli con HA
- ha 4 figli sani
- è un carrier?





# Calcolo Bayesiano

	II-1 Carrier	II-1 Non Carrier
Rischio a Priori	$1/2$	$1/2$
Informazione condizionale (4 figli sani)	$(1/2)^4$	$1^4$
Rischio congiunto	$1/32$	$1/2 = 16/32$
Rischio congiunto finale	$1/17$	$16/17$

$$1/17 = (5,9\%)$$





# Calcolo Bayesiano

	II-1 Carrier	II-1 Non Carrier
Rischio a Priori	1/2	1/2
Informazione condizionale (4 figli sani, FVIII)	$(1/2)^4 \times 1/3$	$1^4 \times 1$
Rischio congiunto	1/96	$1/2 = 48/96$
Rischio congiunto finale	1/49	48/49

$$1/49 = (2,0\%)$$



# Calcolo Bayesiano

	II-1 Carrier	II-1 Non Carrier
Rischio a Priori	1/2	1/2
Informazione condizionale (4 figli sani, FVIII, no IVS-22)	$(1/2)^4 \times 1/3 \times 1/2$	$1^4 \times 1 \times 1$
Rischio congiunto	1/192	$1/2 = 96/192$
Rischio congiunto finale	1/97	96/97

$$1/97 = (1,0\%)$$





# Calcolo Bayesiano

Probabilità a posteriori

Dati utili per il calcolo del rischio di essere portatrice

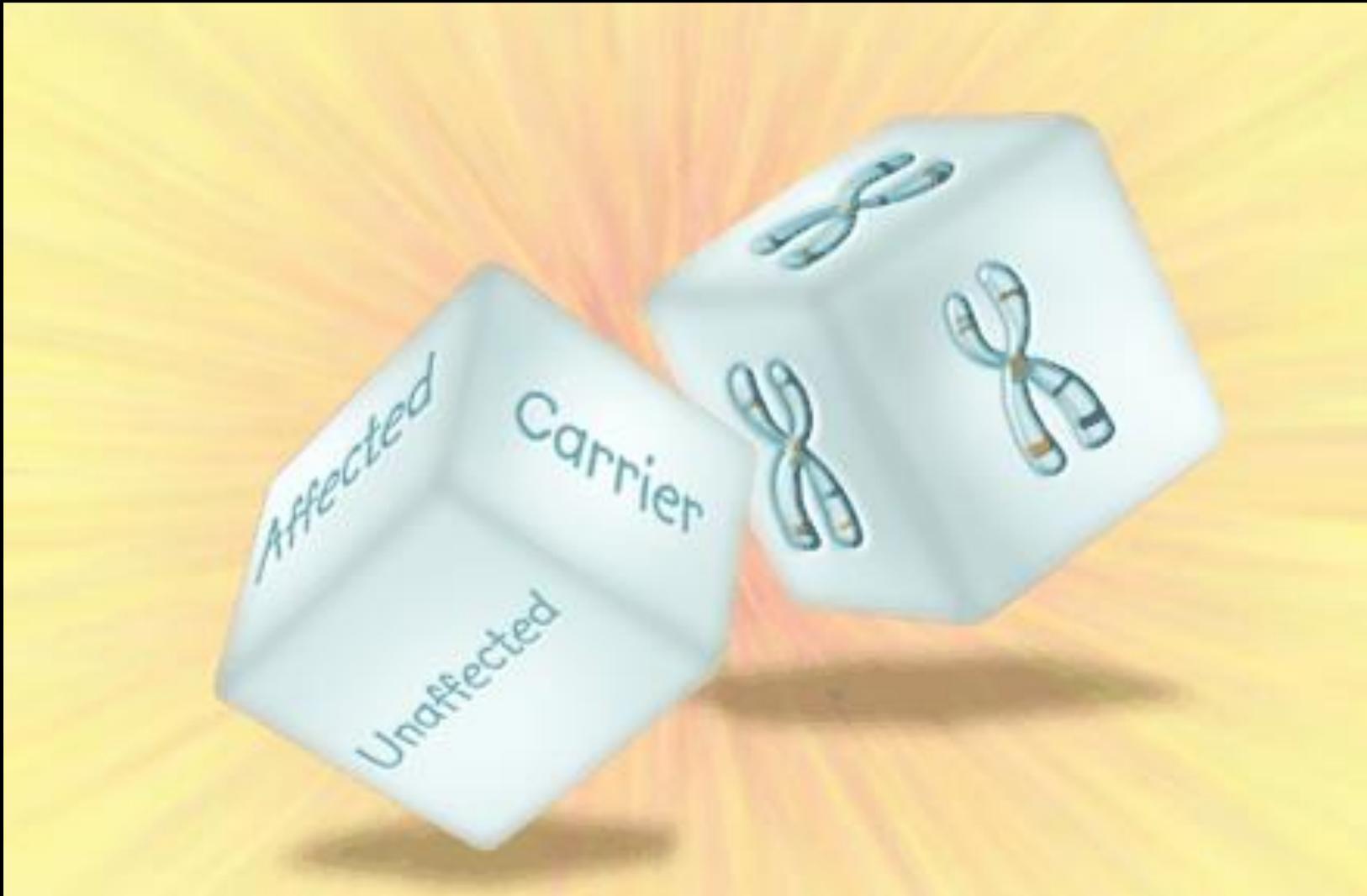
- **Anamnesi familiare:** la madre è portatrice (rischio a priori è del 50%) però ha 4 figli sani.
- **Dati di laboratorio:** a causa della inattivazione della X, una parte delle cellule epatiche esprimono l'allele mutato e non producono FVIII: 2/3 delle portatrici hanno livelli ridotti di FVIII.
- **Dati genetici:** il 50% dei casi di HA grave è causato dall'inversione del IVS-22
- **Nessuno dei dati precedenti permette una diagnosi certa!!!**



**Leggi di Mendel (+ teorema di Bayes)**

**=**

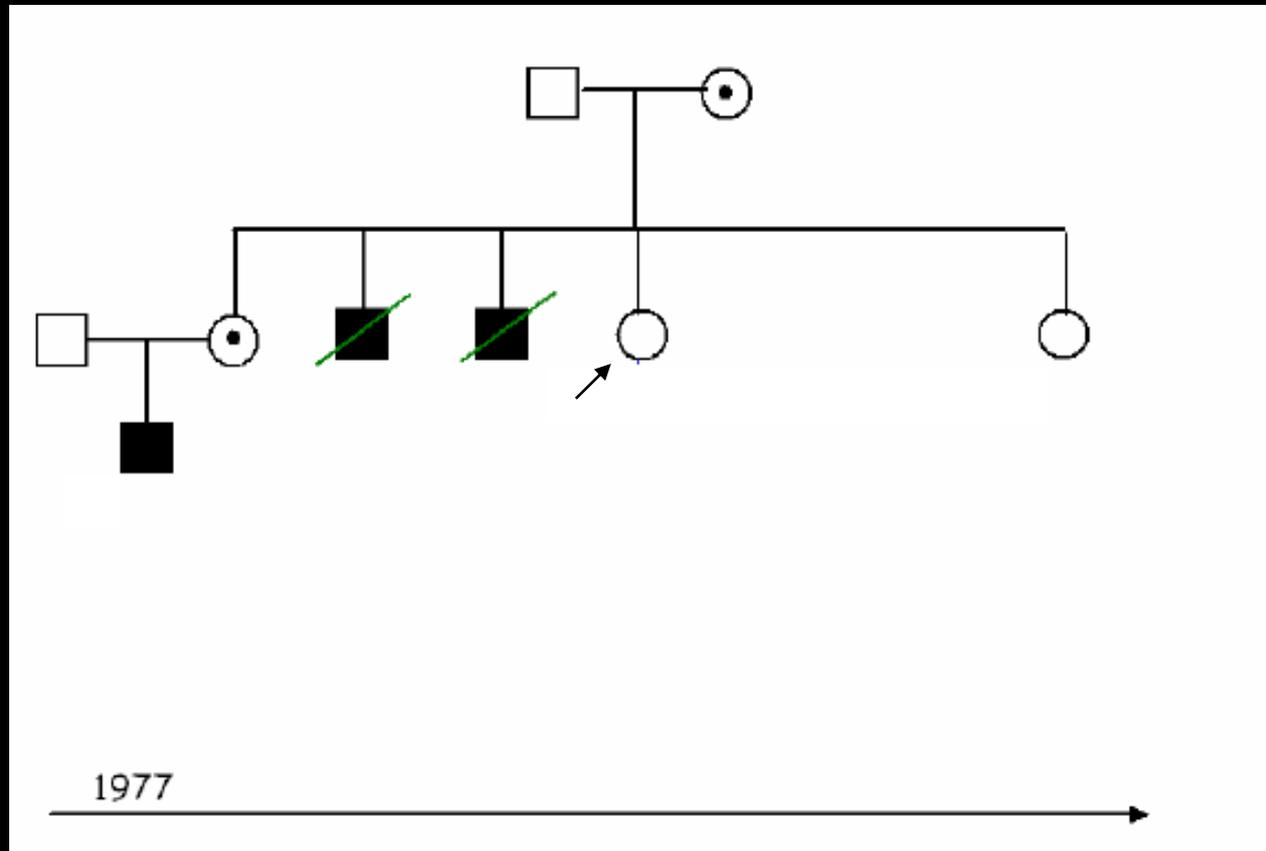
**previsione probabilistica del fenotipo**



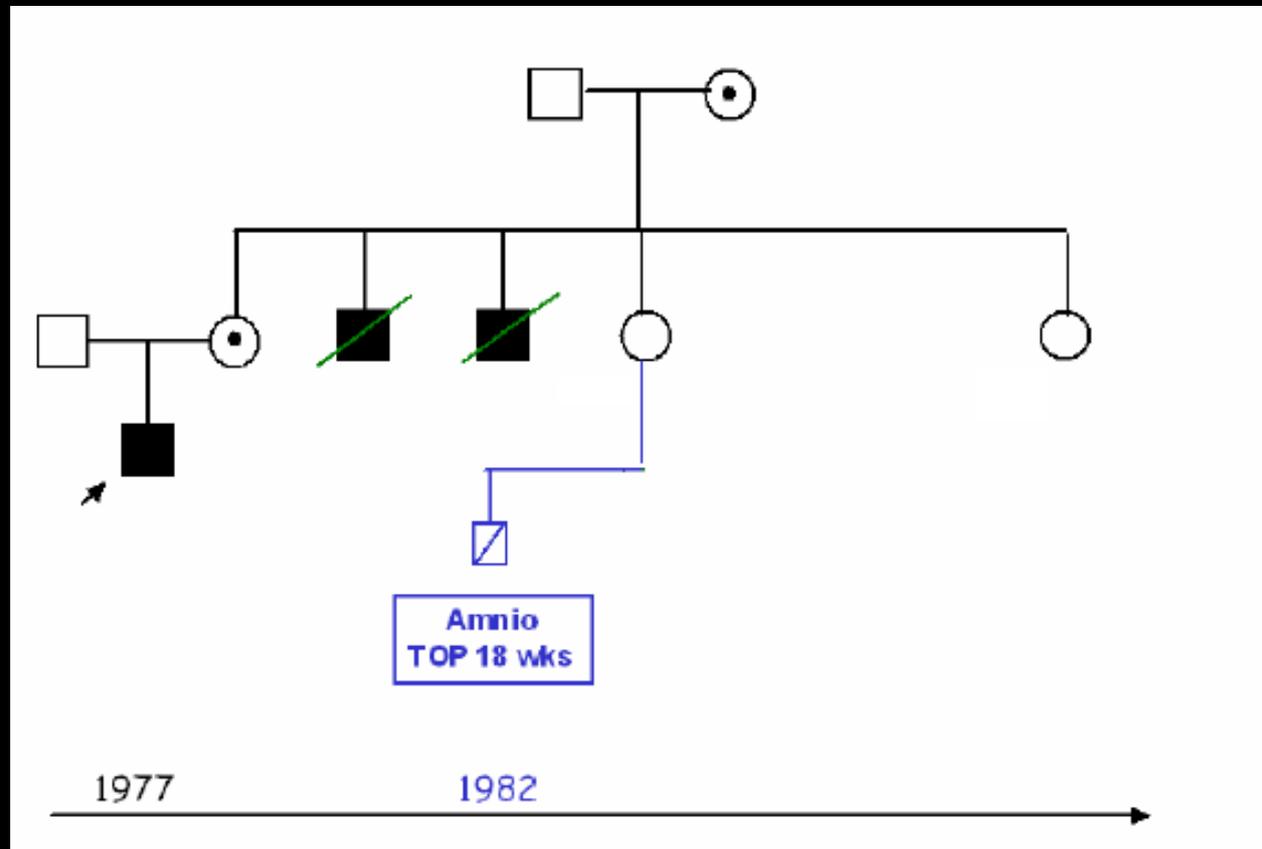
# Cos'è cambiato nella diagnosi genetica dell'Emofilia



# Cos'è cambiato nella diagnosi genetica dell'Emofilia

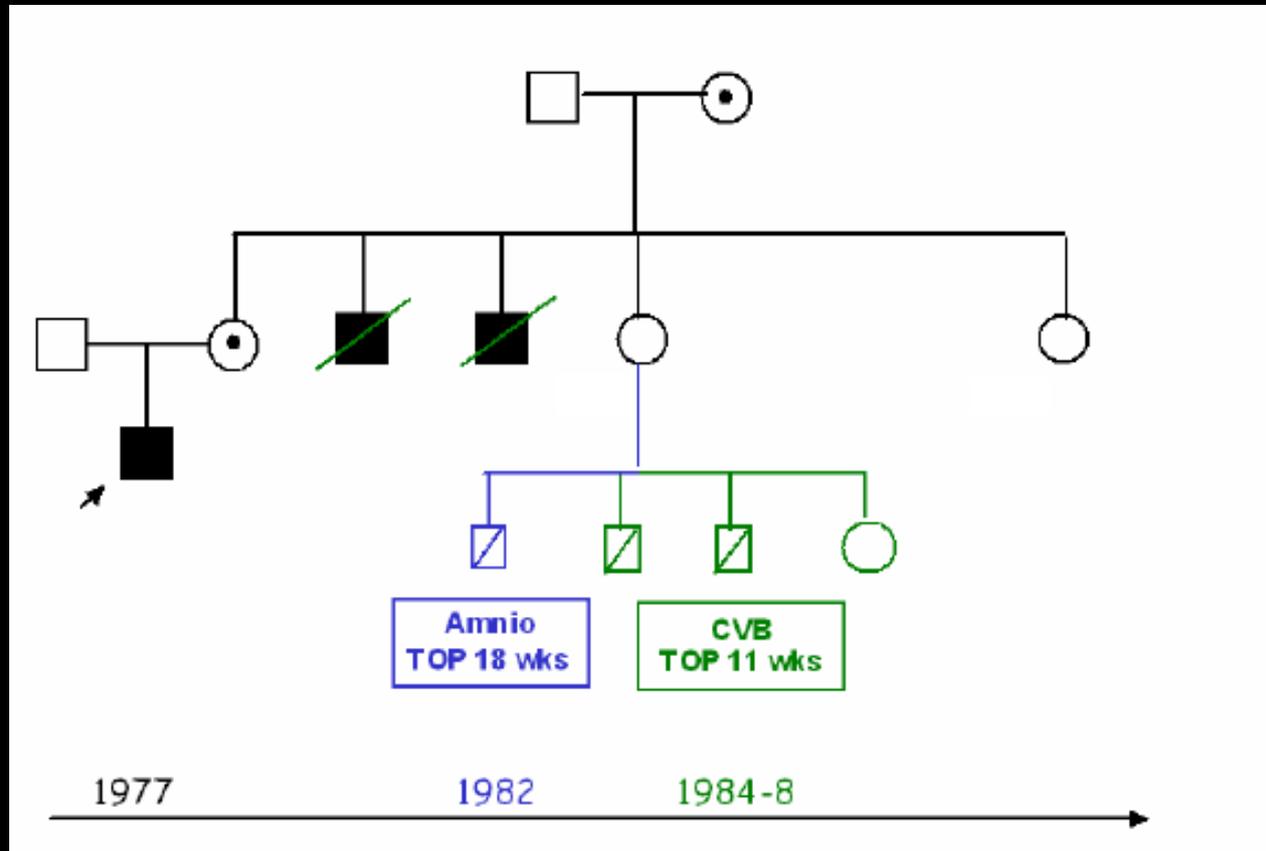


# Cos'è cambiato nella diagnosi genetica dell'Emofilia



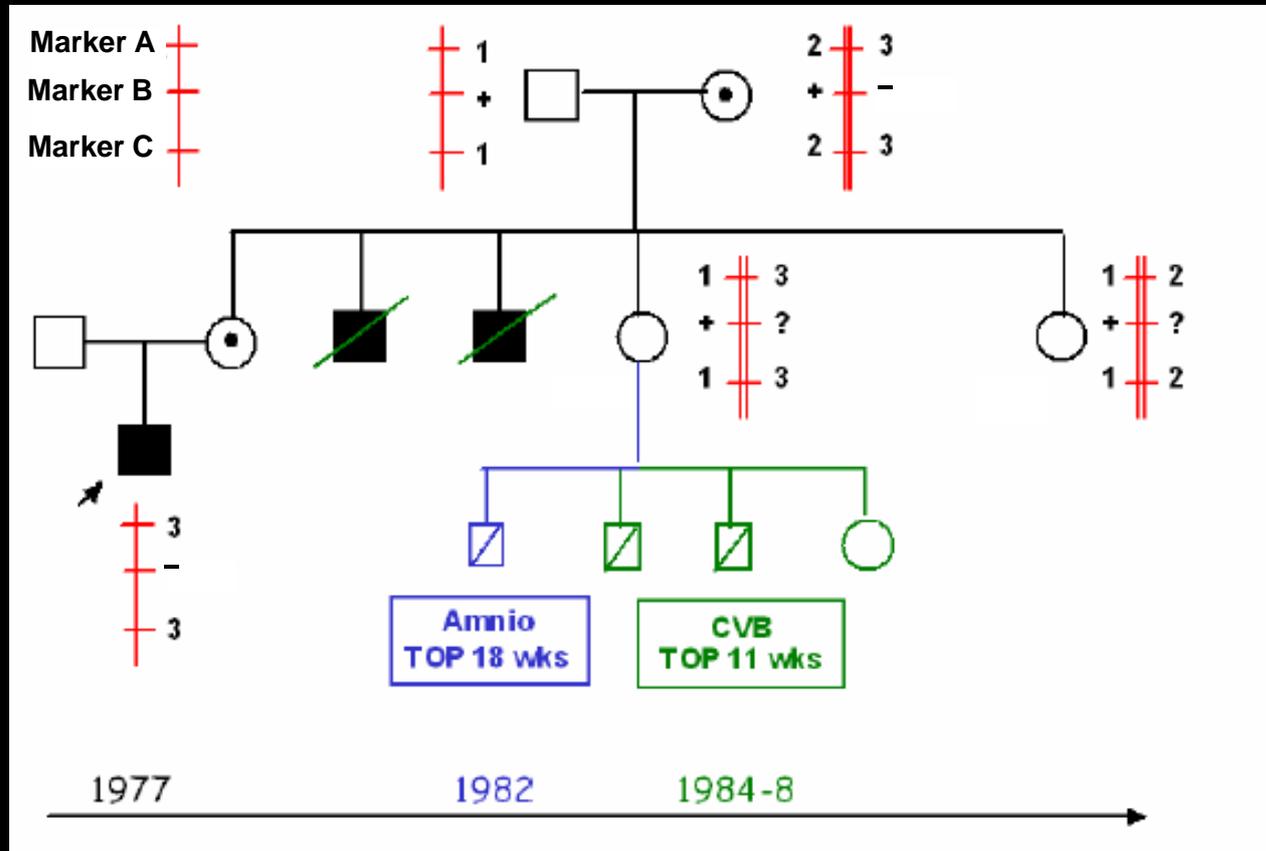
**Diagnosi prenatale invasiva: amniocentesi**

# Cos'è cambiato nella diagnosi genetica dell'Emofilia



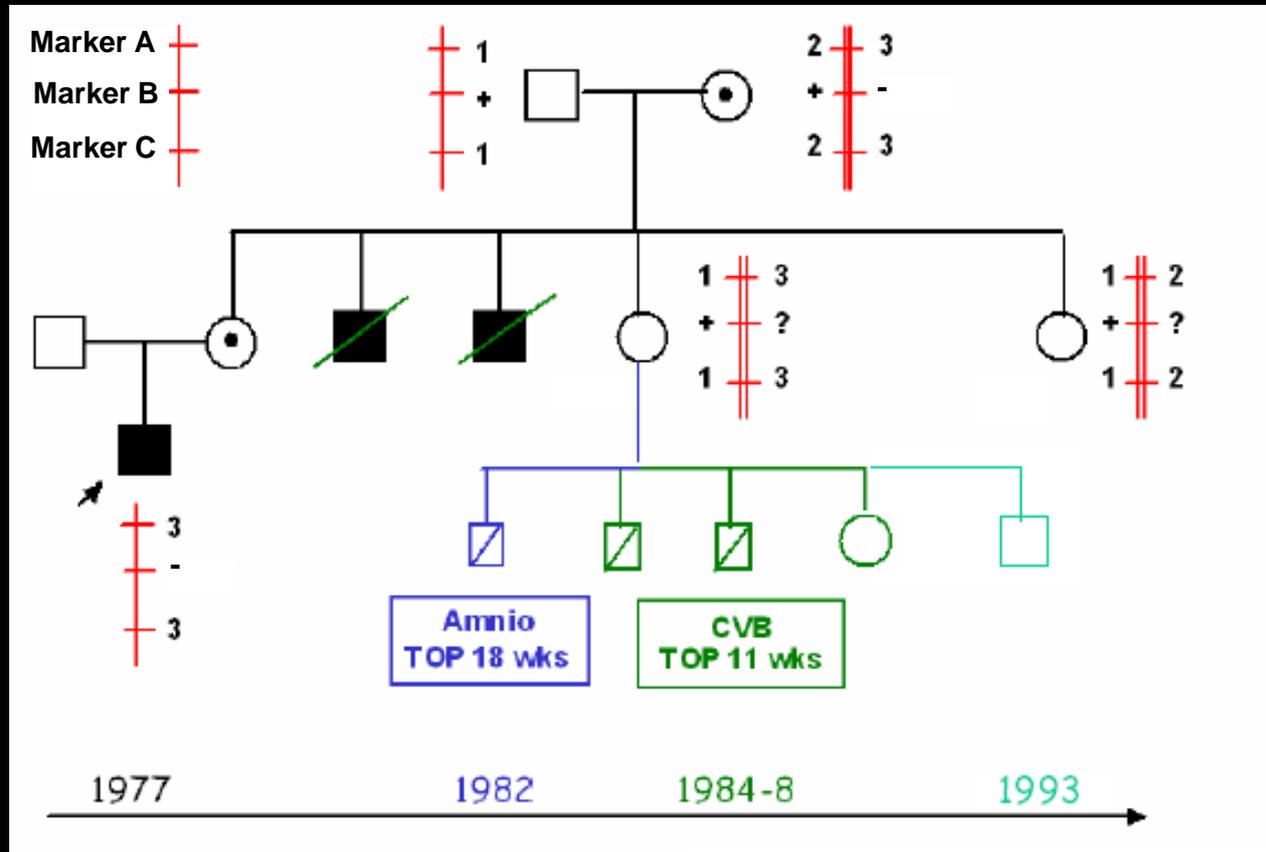
**Diagnosi prenatale invasiva: villocentesi**

# Cos'è cambiato nella diagnosi genetica dell'Emofilia

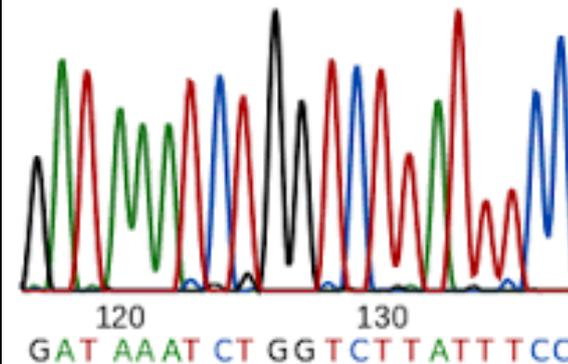


**Diagnosi prenatale invasiva + identificazione indiretta**

# Cos'è cambiato nella diagnosi genetica dell'Emofilia



**Diagnosi prenatale invasiva**  
 +  
**identificazione diretta**

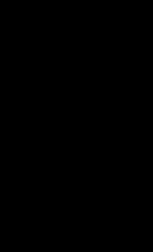




# Identificazione diretta della mutazione

**Pro**

- ✦ Informativa in “tutti” i casi
- ✦ Non necessari più familiari affetti



# Problemi correlati ai test genetici

## Mutazioni difficili da interpretare

- mutazioni missenso: sempre patogenetiche?
- mutazioni eterozigoti in geni recessivi: fattori di rischio?
- alleli intermedi: significato?

## Tipo di mutazione identificata

- Mutazione causale riportata in letteratura
- Mutazione possibilmente causale ma non riportata in letteratura
- Mutazione di incerto significato clinico
- Mutazione possibilmente benigna ma non riportata in letteratura (sporadica/polimorfismo?)
- Mutazione possibilmente benigna riportata in letteratura (sporadica/polimorfismo)



# Problemi correlati ai test genetici

## Eterogeneità genetica allelica, mutazioni difficili da individuare

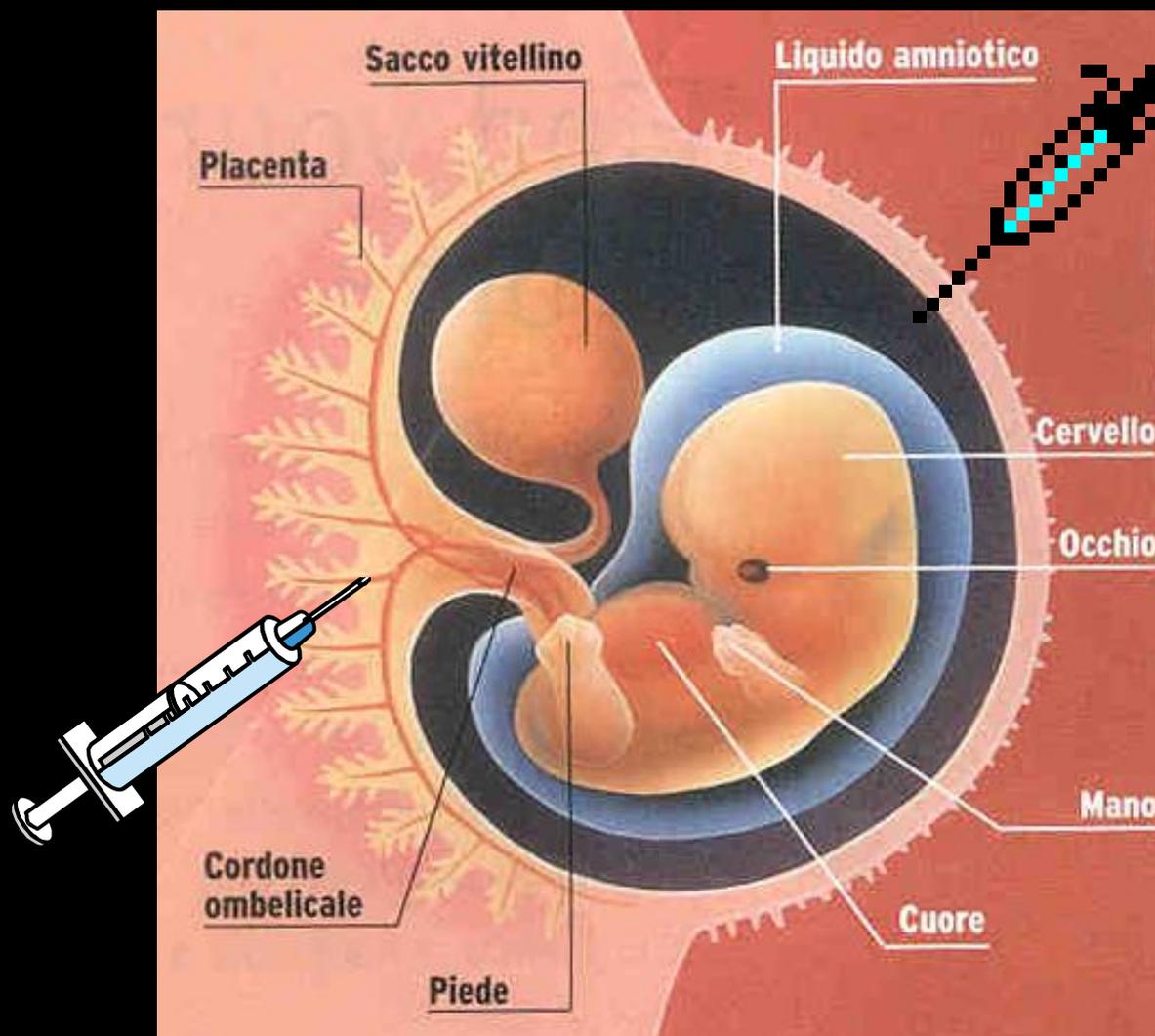
- geni di dimensioni notevoli, no hot spots, mutazioni private
- mutazioni introniche o in sequenze regolatorie
- delezioni o moltiplicazioni (multi)esoniche in eterozigosi
- identificazione di alleli intermedi (per mutazioni dinamiche)

## Eterogeneità genetica di locus

- lo stesso fenotipo può essere causato da **mutazioni in geni distinti** (alcuni possono essere ancora non identificati)
- trans-eterozigosità / ereditarietà digenica → 2 mutazioni in 2 geni distinti contribuiscono alle manifestazioni cliniche e possono influenzare la gravità del fenotipo
- ereditarietà triallelica: in aggiunta a due mutazioni in un singolo gene, una terza mutazione in un gene distinto è necessaria per determinare il fenotipo patologico o la sua espressione



# Diagnosi prenatale: prelievo



# DIAGNOSI PRENATALE: RISCHI

Tutte le tecniche attualmente in uso, che hanno lo scopo di ottenere campioni di DNA fetale per la diagnosi prenatale, sono invasive e non prive di rischi per il feto e la donna.



# Identificazione diretta della mutazione

**Contro**

- ✦ **La mutazione dev'essere conosciuta**
- ✦ **Approccio differente nei diversi casi**
- ✦ *Tempi per la risposta*



Un centro per la diagnosi di portatrice e per la diagnosi prenatale di emofilia necessita della collaborazione delle seguenti strutture:

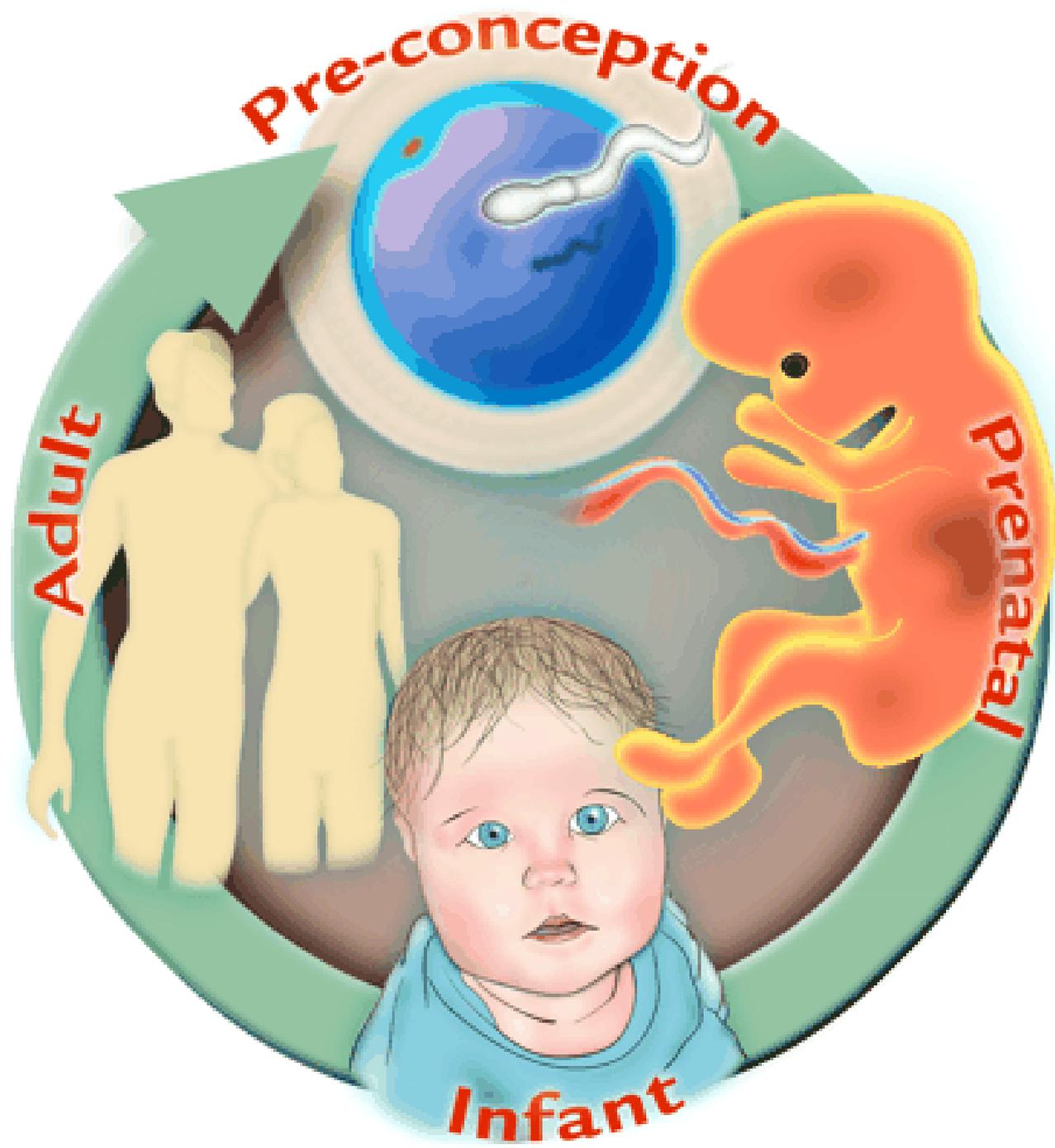
- Centro per la diagnosi e terapia dell' emofilia.
- Laboratorio di biologia molecolare per lo studio del DNA.
- Reparto di ostetricia per il prelievo dei villi coriali o del liquido amniotico.
- Laboratorio di citogenetica per lo studio del cariotipo e la determinazione del sesso nel feto.



# Perché eseguire un test genetico?

- **Identificazione dei carrier**
- **Diagnosi prenatale**
- **Predizione della risposta terapeutica o dell'insorgenza delle complicanze**





# Test genetico

Analisi di un gene specifico, il suo prodotto o funzione, o di ogni altro tipo d'indagine di DNA, RNA o dei cromosomi, finalizzata a individuare o escludere una mutazione associata a una malattia genetica.

P. Harper. *J Med Genet* 34, 749-757, 1997

## Qualsiasi test che produca dati genetici

Commissione europea - Bruxelles 2004  
“25 raccomandazioni concernenti le implicazioni etiche giuridiche e sociali dei test genetici”



# La natura dell'informazione genetica

**L'informazione genetica è diversa o uguale alle altre informazioni mediche?**

**Eccezionalità genetica o semplice informazione medica?**



# Test genetici: perché sono diversi dalle consuete analisi di laboratorio?

- I risultati sono **permanenti** per l'individuo sottoposto al test
- Possono essere eseguiti con **finalità diagnostiche** ma anche **predittive** per patologie future
- I risultati possono avere **conseguenze importanti per altri membri familiari**, solitamente figli, ma talvolta fratelli e genitori
- Occasionalmente alcune forme di test genetico possono rivelare informazioni non desiderate (paternità)

*Ogni molecola di DNA di una persona è un possibile diario di eventi futuri, piuttosto che la memoria del passato*  
(Annas, 1993)



# Problemi etici

## Indagini

- Indagini su soggetti non interessati alla consulenza
- Indagini su minori o disabili
- Indagini invasive

## Risultati

- Risultati di difficile interpretazione
- Risultati che aprono problemi inattesi
- Risultati che hanno ripercussioni su soggetti non interessati alla consulenza
- Risultati che riguardano minori o disabili
- Diagnosi preclinica o diagnosi di predisposizione a malattie gravi



*“Il test genetico deve essere considerato un servizio integrato, nel senso che deve essere preceduto e seguito da una informazione specifica (consulenza genetica collegata al test genetico)”*

*Conferenza Stato-Regioni, 15 luglio 2004, Linee-Guida per le Attività di Genetica Medica*

*Il pubblico riceva informazioni sempre corrette e aggiornate sui limiti e sugli obblighi imposti dalle disposizioni vigenti al trattamento dei propri dati di natura genetica (Art. 90 del Dlgs 196 del 2003 e disposizioni presenti nella “Autorizzazione generale al trattamento dei dati genetici” - G.U. n. 65 del 19-3-2007), in particolare sull’obbligo che venga fornita una completa informativa e acquisito sempre un consenso scritto prima dell’esecuzione del test*

*Commissione Ministero della Salute per la Genetica nel Servizio Sanitario Nazionale*



# Consulenza genetica

Il “counseling” genetico **fornisce** informazioni **pratiche** alle persone sul proprio rischio di sviluppare o trasmettere una malattia ereditaria o un difetto congenito.

Il “counseling” genetico **discute** il meccanismo di ereditarietà della malattia, la sua incidenza, il rischio di trasmissibilità, i test per identificarne lo stato di malattia o di portatore e gli eventuali metodi di prevenzione e terapia.

Il consulente genetista ha un approccio teso a fornire informazioni alle persone e discutere con loro perchè siano in grado di prendere in autonomia una decisione “informata”.



# Consulenza genetica

## Consulenza pre-test:

- Identificazione dei possibili test genetici utili
- Informazione sulle potenzialità e limiti dei test identificati
- Scelta del consultando se sottoporsi o no al test

## Consulenza post-test:

- Interpretazione e comunicazione dei risultati del test
- Suggerimenti su eventuali protocolli terapeutici o preventivi
- Supporto psicologico

# Reazioni psicologiche riscontrabili in sede di consulenza genetica

## Reazioni emotive:

- Rabbia
- Ansia
- Negazione
- Vergogna
- Fatalismo
- Cambio della percezione di sé
- Sensi di colpa (parentali e di sopravvivenza)

## Reazioni elaborate:

- Intellettualizzazione
- Razionalizzazione
- Ricerca di significati
- Cambio del ruolo sociale
- Cambio nella religiosità
- Paura della discriminazione umana e sociale

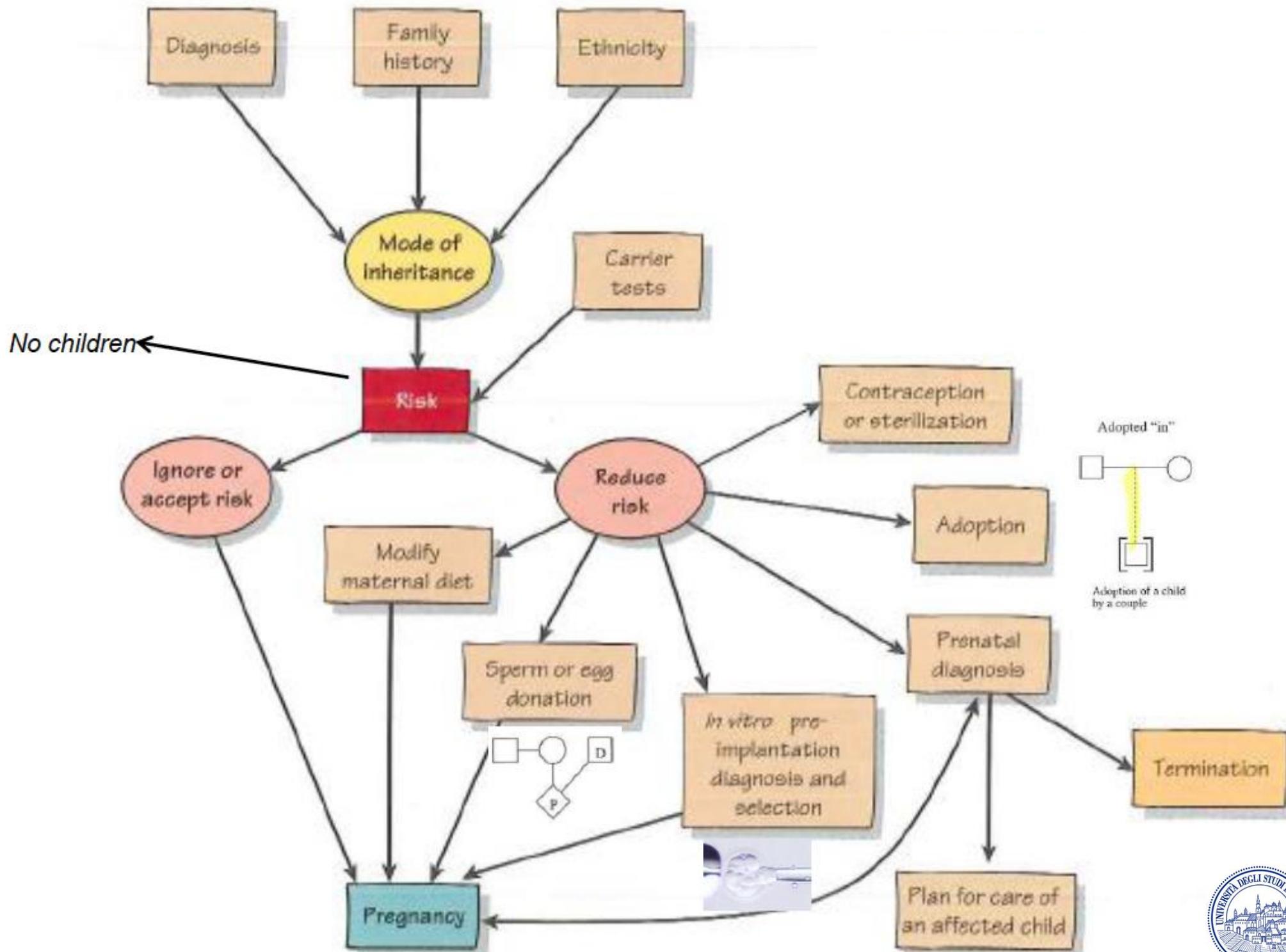


# Consulenza genetica:

altri fattori che condizionano la decisione

- Conoscenza della malattia
- Decorso della malattia
- Possibilità terapeutiche
- Limitazioni sociali che impone
- Concetto di “condizione accettabile”
- Motivi religiosi/morali
- Numero di figli
- Presenza di figli sani





# Altre opzioni

- Diagnosi Prenatale / aborto
- Adozione
- *Inseminazione artificiale da donatore*
- *Fertilizzazione in vitro con ovocellula da donatrice*
- Ignorare il rischio
- Astenersi dal concepire
  - contraccezione o sterilizzazione



# Consulenza Genetica

Parere unanime sul fatto che durante la consulenza genetica non si deve:

- indirizzare il consultando verso una scelta ben precisa;
- esprimere giudizio in merito alle scelte del consultando;
- rispondere a domande del tipo “Lei al mio posto cosa farebbe?” ma, piuttosto, illustrare e discutere le possibili conseguenze delle differenti scelte possibili.

**Non orientata e non coercitiva**





