

## INFORMATIVA ALLA DIAGNOSI MOLECOLARE DI TROMBOFILIA EREDITARIA

Gentilissimo/a Signore/a,

nel modulo di consenso informato che Le accludiamo troverà alcune informazioni sugli aspetti clinici, sull'analisi genetica dei principali geni responsabili della trombofilia ereditaria, sul trattamento dei dati sensibili, genetici e sulla conservazione del campione biologico.

### Aspetti generali

Le donne sofferenti di trombofilia ereditaria hanno la predisposizione genetica a formare trombi che, in caso di gravidanza, possono favorire l'insorgenza di una trombosi placentare, cioè un'ostruzione dei vasi sanguigni che portano il nutrimento al feto, determinando eventuali complicazioni (ritardo di crescita fetale, distacco di placenta, ecc.) fino all'interruzione spontanea della gravidanza stessa.

I geni che sembrano maggiormente coinvolti nel conferire suscettibilità (predisposizione) ad eventi trombotici sono quelli relativi al Fattore V di Leiden, al Fattore II della coagulazione (Protrombina), alla Metilentetraidrofolato-reduttasi (MTHFR) e all'Inibitore dell'Attivatore del Plasminogeno (PAI 1).

Nella popolazione la maggior parte dei difetti della coagulazione si presenta in forma eterozigote, cioè i soggetti sono portatori di una variante (polimorfismo) in una delle due copie del gene; essi hanno una possibilità su due di trasmettere la predisposizione alla malattia ai figli, indipendentemente dal sesso. Gli individui in cui sono alterate entrambe le copie del gene sono definiti omozigoti.

### Fattore V di Leiden

Il Fattore V è una proteina molto importante nel promuovere il processo di coagulazione del sangue. Nei soggetti non portatori di alcuna mutazione genetica tale evento è regolato ed avviene correttamente. La presenza invece di una variante, nota come R506Q o G1691A, definita variante di Leiden, comporta una maggiore attività pro-coagulativa del Fattore V con conseguente aumento del rischio di sviluppare una trombosi venosa: nei soggetti eterozigoti che costituiscono complessivamente il 3-8% della popolazione (2-3% in Italia) il rischio è superiore di 5-10 volte; negli omozigoti (frequenza 1 su 5000, ma varia notevolmente tra le diverse popolazioni) il rischio è pari a 50-100 volte.

Il rischio di un evento trombotico aumenta ulteriormente in presenza di altre condizioni predisponenti quali la gravidanza (fino a 50 volte), l'assunzione di contraccettivi orali (30 volte negli eterozigoti e centinaia di volte negli omozigoti), gli interventi chirurgici.

### Fattore II (Protrombina)

Il Fattore II della coagulazione o Protrombina, per azione del Fattore V viene trasformata in trombina che svolge un ruolo fondamentale nella formazione del coagulo.

Un polimorfismo del gene, denominato G20210A, comporta un innalzamento dei livelli di protrombina, e quindi di trombina, nel plasma con aumentato rischio di insorgenza di un episodio trombotico. I soggetti eterozigoti (genotipo AG) per la mutazione hanno una frequenza nella popolazione del 2-3% e un rischio aumentato di 3 volte. L'evento trombotico è favorito anche in presenza di altre condizioni quali il diabete (rischio di 7 volte), gravidanza (15 volte) e l'assunzione di contraccettivi orali (fino a 150 volte). I soggetti omozigoti per la mutazione sono invece rari.

### **Metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR)**

La metilentetraidrofolato reduttasi (MTHFR) è una proteina che, a differenza dei fattori II e V, non è direttamente coinvolta nel processo di coagulazione del sangue, ma è importante in diverse reazioni metaboliche tra cui la trasformazione dell'omocisteina nell'aminoacido metionina.

Dal punto di vista genetico un polimorfismo nel gene MTHFR, indicato come C677T, determina una riduzione dell'attività della proteina che, quindi, è meno efficiente, nel convertire l'omocisteina in metionina; questo comporta un aumento dei livelli di omocisteina nel sangue (omocisteinemia) e nelle urine (omocisteinuria).

Livelli plasmatici elevati di omocisteina sono considerati fattore di rischio per lo sviluppo di una trombosi.

Nella popolazione la frequenza degli eterozigoti per C677T (genotipo CT) è circa il 45%, quella degli omozigoti (TT) di poco superiore al 10%.

Nei soggetti in cui la variante C677T in eterozigosi è associata alla variante di Leiden (Fattore V) o alla G20210A (Fattore II), può aumentare ulteriormente il rischio di eventi trombotici, già alto per la presenza dell'altra variante.

Nel gene MTHFR vi è un'altro polimorfismo, noto come A1298C, che causa una riduzione dell'attività enzimatica del 30% se presente singolarmente, che non sembra però influenzare i livelli di omocisteina nel plasma, e del 60% se associata con la variante C677T (eterozigoti composti); valori plasmatici elevati di omocisteina sono, invece, osservati negli eterozigoti composti C677T/A1298C.

### **Inibitore tipo 1 dell'Attivatore del Plasminogeno (PAI 1)**

L'inibitore dell'Attivatore del Plasminogeno (PAI 1) in condizioni normali, blocca l'attivatore tissutale del plasminogeno (t-PA) impedendo la trasformazione del plasminogeno in plasmina e la conseguente distruzione del coagulo di fibrina.

Elevati livelli di PAI 1 nel plasma sono quindi associati ad un aumento del rischio di insorgenza di eventi trombotici per la persistenza del coagulo.

Nel gene PAI 1 è stato individuato un polimorfismo noto come 4G/5G che influenza l'espressione del gene, cioè i livelli di proteina PAI 1 nel sangue.

Gli individui omozigoti 5G/5G che costituiscono circa il 25% della popolazione hanno valori plasmatici normali di PAI 1; i soggetti eterozigoti 4G/5G (50% della popolazione) e omozigoti 4G/4G (25%) presentano livelli plasmatici di PAI 1 superiori e, numerosi studi hanno dimostrato che gli omozigoti 4G/4G hanno valori più elevati del 25% rispetto ai soggetti 5G/5G; in generale la presenza dell'allele 4G, sia in omo che in eterozigosi, quindi, sembra correlare con un aumento del rischio di insorgenza di un evento trombotico, e nelle donne in gravidanza anche di preeclampsia.

La rilevanza del genotipo 4G/4G aumenta se accompagnata da altri fattori di rischio, quali la variante R506Q (variante del Fattore V di Leiden), la variante G20210A del fattore II o il polimorfismo C677T nel gene MTHFR.

La ricerca delle varianti polimorfiche dei geni FV, FII, MTHFR, PAI-1 viene eseguita su DNA genomico estratto da linfociti di sangue periferico o da cellule della mucosa orale tramite tampone cotonato a secco.

Il risultato dell'analisi è disponibile entro 7 giorni dall'arrivo del campione in laboratorio dal prelievo, tuttavia problemi tecnici legati alle procedure di laboratorio possono ritardare l'analisi e la risposta di qualche giorno.

Gli studi sul DNA non sono esenti da possibilità di errore diagnostico. Tali errori possono derivare da limiti di sensibilità delle metodiche applicate, tracce di contaminazione nelle reazioni di amplificazione (PCR), rare varianti genetiche che possono interferire con l'analisi.

Il materiale biologico residuo viene conservato per 6 mesi dalla conclusione dell'analisi.

## CONSENSO ALLA DIAGNOSI MOLECOLARE DI TROMBOFILIA EREDITARIA

Letta e compresa l'informativa, di cui mi è stata consegnata copia,

Il/la sottoscritto/a \_\_\_\_\_ nato/a il \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

a \_\_\_\_\_ (Prov \_\_\_\_.) residente a \_\_\_\_\_ (Prov \_\_\_\_.)

via \_\_\_\_\_ n° \_\_\_\_ CAP \_\_\_\_\_ tel \_\_\_\_\_

**A nome proprio**

**In qualità di:**  genitore  coniuge  tutore **in caso di minore o di persona non in grado di esprimere il proprio consenso, compilare anche la parte sottostante** *(nel caso di un minore, il consenso deve essere manifestato da chi esercita legalmente la potestà ovvero nel caso di un soggetto incapace di agire da chi esercita la curatela o la tutela)*

Nome e Cognome \_\_\_\_\_ nato/a il \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

a \_\_\_\_\_ (Prov \_\_\_\_.) residente a \_\_\_\_\_ (Prov \_\_\_\_.)

via \_\_\_\_\_ n° \_\_\_\_ CAP \_\_\_\_\_ tel \_\_\_\_\_

Richiede che venga eseguita l'analisi genetica su sangue periferico con lo scopo di individuare

mutazione G20210A del gene del Fattore II di coagulazione (protrombina)

mutazione R506Q del gene del Fattore V di Leiden

mutazione C677T del gene MTHFR  mutazione A1298C del gene MTHFR

polimorfismo 4G/5G del gene PAI 1

e dichiara di essere consapevole dei limiti diagnostici legati alla tecnica

Firma del/la paziente/genitore/tutore \_\_\_\_\_

Nome di chi ha raccolto il consenso \_\_\_\_\_

Firma di chi ha raccolto il consenso \_\_\_\_\_

Inoltre,

1)  ACCONSENTE  NON ACCONSENTE

A che i risultati delle analisi sui campioni biologici siano comunicati a:

Cognome e Nome \_\_\_\_\_

Cognome e Nome \_\_\_\_\_

2)  ACCONSENTE  NON ACCONSENTE

A che i suoi campioni biologici siano conservati e trattati per finalità di ricerca medico-scientifica **e/o per attività volte al miglioramento della qualità dei risultati delle analisi di laboratorio**

3)  ACCONSENTE  NON ACCONSENTE

A che i suoi dati anonimizzati ed i relativi risultati genetici siano condivisi con altri centri in attività di collaborazione.

4)  ACCONSENTE  NON ACCONSENTE

Ad essere informato in merito ad eventuali nuovi risultati o possibilità diagnostiche derivanti dai suddetti studi o ricerche.

5)  ACCONSENTE  NON ACCONSENTE

Ad essere informato in merito a eventuali risultati inattesi rispetto a quelli per le quali erano state effettuate le analisi richieste

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Firma del/la paziente/genitore/tutore \_\_\_\_\_

Nome di chi ha raccolto il consenso \_\_\_\_\_

Firma di chi ha raccolto il consenso \_\_\_\_\_

**REVOCO** il consenso sopra espresso al punto [1], al punto [2], al punto [3], al punto [4], al punto [5]

Data: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Firma del/la paziente/genitore/tutore \_\_\_\_\_

Firma di chi ha raccolto la revoca \_\_\_\_\_