

Consensus 2019 per l'analisi genetica in Fibrosi Cistica: presentazione del Documento

Marco Lucarelli^{1,2,3}, Adriano Angioni^{3,4}, Maria Baffico^{3,5}, Cristina Bombieri^{3,6}, Alberto Bonizzato^{3,7}, Graziella Borgo^{3,8}, Giuseppe Castaldo^{3,9}, Carlo Castellani^{3,10}, Claudia Centrone^{3,11}, Alessandra Coiana^{3,12}, Maria Rosaria D'Apice^{3,13}, Caterina Di Girgenti^{3,14}, Sarah Egiziano^{3,15}, Mosè Favarato^{3,15}, Annalisa Ferlisi^{3,16}, Paola Melotti^{3,17}, Laura Minicucci^{3,10}, Elisabetta Pelo^{3,11}, Angela Ragusa^{3,18}, Anna Ravani^{3,19}, Gianfranco Savoldi^{3,20}, Manuela Seia^{3,21}, Lisa Termini^{3,16}

¹Dipartimento di Medicina Sperimentale

²Istituto Pasteur Italia, Fondazione Cenci Bolognetti, Sapienza Università di Roma

³Gruppo di lavoro per la revisione del documento Consensus 2019 per l'analisi genetica in fibrosi cistica della Società italiana per lo studio della fibrosi cistica (SIFC)

⁴Laboratorio di Genetica Medica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

⁵U.O.C. Laboratorio di Genetica Umana, I.R.C.C.S. Giannina Gaslini, Genova

⁶Dipartimento di Neuroscienze, Biomedicina e Movimento, Sezione di Biologia e Genetica, Università di Verona

⁷Laboratorio analisi, A.O.U. Integrata, Verona

⁸Fondazione per la Ricerca sulla Fibrosi Cistica, Verona

⁹CEINGE-Biotecnologie avanzate, Napoli; Dipartimento di Biologia Molecolare e Biotecnologie Mediche, Università di Napoli Federico II

¹⁰Centro di Riferimento Regionale Fibrosi Cistica, I.R.C.C.S. Giannina Gaslini, Genova

¹¹S.O.D. Diagnostica Genetica, A.O.U. Careggi, Firenze

¹²Laboratorio di Genetica e Genomica, Ospedale Pediatrico Microcitemico "A. Cao" - A.O. Brotzu, Cagliari; Dipartimento di Scienze Mediche e Sanità Pubblica, Università di Cagliari

¹³Laboratorio di Genetica Medica, Policlinico Tor Vergata, Roma

¹⁴U.O.s.d. Genetica Molecolare, Dipartimento di Pediatria, ARNAS Civico G. Di Cristina Benfratelli, Palermo

¹⁵U.O.S. Diagnostica Molecolare – U.O.C. Laboratorio Analisi, Dipartimento di Patologia Clinica e Medicina Trasfusionale, Azienda ULSS 3 Serenissima

¹⁶Centro di Riferimento Regionale Fibrosi Cistica, ISMEP II Pediatria, ARNAS Civico Di Cristina Benfratelli, Palermo

¹⁷Centro di Riferimento Regionale Fibrosi Cistica, A.O.U. Integrata di Verona

¹⁸Laboratorio Centralizzato, Sezione di Genetica Molecolare, A.O.U. Policlinico Vittorio Emanuele, Catania

¹⁹Laboratorio di Genetica Molecolare, U.O. Genetica Medica, A.O.U. S. Anna, Ferrara

²⁰Sezione Specializzata di Citogenetica e Genetica Medica, U.O. Anatomia Patologica, Spedali Civili, Brescia

²¹Laboratorio di Genetica Medica, Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

ABSTRACT

Presentation of the Consensus Document 2019 on the genetic analysis of Cystic Fibrosis.

The causative gene of Cystic Fibrosis (CF) is the Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR). Although monogenic, CF has a complex genotype – phenotype relationship mainly originated by the high number of CFTR variants, the challenging mutational analysis, the incomplete functional knowledge and the variable clinical outcome of most variants, the action of modifier genes. This complexity affects diagnosis, prognosis and precision

A cura della Società italiana per lo studio della fibrosi cistica (SIFC) e approvato da: Società italiana di andrologia e medicina della sessualità (SIAMS), Società italiana di biochimica clinica e biologia molecolare clinica (SIBioC), Società italiana di genetica umana (SIGU).

Corrispondenza a: Marco Lucarelli; Dipartimento di Medicina Sperimentale, Sapienza Università di Roma; c/o AOU Policlinico Umberto I, Edificio 42 (Malattie Infettive), piano -1, Viale Regina Elena 324 - 00161 Roma, Tel 06-49970458, E-mail marco.lucarelli@uniroma1.it

Ricevuto: 20.06.2020

Accettato: 20.06.2020

Publicato on-line: 07.08.2020

DOI: 10.19186/BC_2020.074

therapy. A correct and complete genetic analysis is crucial for all these aspects. The Consensus Document 2019 on the genetic analysis of CF (1S) provides a guidance to practitioners for the appropriate request and proper use of genetic testing in CF, as well as for the correct interpretation of the test result. It is to be hoped that the broad sharing achieved between the scientific societies involved can standardize the approach at national level and can improve the usefulness of the information provided to users, as part of a continuous process of improvement.

INTRODUZIONE

La Fibrosi Cistica (FC; Online Mendelian Inheritance in Man - OMIM - 219700) è una frequente malattia genetica della popolazione Caucasica (1, 2). Il modello di ereditarietà monogenico, autosomico e recessivo è apparentemente semplice. Tuttavia, una sempre più approfondita conoscenza dei meccanismi molecolari causativi, dipendenti dal gene Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR; 7q31.2; RefSeq NG_016465.4) (3, 4) ha svelato un'insospettata complessità con ricadute diagnostiche, prognostiche e terapeutiche (5-7). Riguardo a quest'ultimo aspetto, la corretta caratterizzazione genetica risulta fondamentale per l'applicazione di protocolli di medicina di precisione, ormai una realtà nel trattamento della FC. La grande variabilità delle manifestazioni fenotipiche ha indotto ad identificare diverse macro-categorie cliniche originate da varianti patogenetiche del CFTR (8, 9). Con il termine FC si intende ormai solo la forma classica, polisintomatica e multiorgano, di malattia. Tutte le forme mono-, oligo-sintomatiche, al momento comprendenti più di dieci diverse entità cliniche (10-15), sono indicate come patologie correlate al CFTR (CFTR-related disorders, CFTR-RD). Le CFTR-RD maggiormente caratterizzate sono l'assenza congenita bilaterale dei vasi deferenti (CBAVD) in forma monosintomatica come unica manifestazione clinica di alterazione del CFTR (anche presente nella quasi totalità dei pazienti con FC poli-sintomatica come una delle manifestazioni cliniche), le pancreatiti idiopatiche e le bronchiectasie disseminate. Anche i neonati positivi allo screening neonatale per FC con diagnosi non conclusiva vanno a costituire un'entità clinica separata, denominata Cystic Fibrosis screening positive inconclusive diagnosis (CFSPID) in nomenclatura europea (16) o Cystic Fibrosis transmembrane conductance regulator – related metabolic syndrome (CRMS) in nomenclatura nordamericana (17). L'analisi genetica, volta ad individuare le varianti patogenetiche del CFTR, è fondamentale per la conferma diagnostica, in quanto la FC e le CFTR-RD originano quando entrambi gli alleli sono mutati, in omozigosi o eterozigosi composta. Grande importanza ha anche la ricerca del portatore, con un solo allele mutato che, non manifestando sintomi clinici, è individuabile solo mediante l'analisi genetica. L'elevato numero di varianti del CFTR e la loro combinazione in *cis* (su uno stesso allele, come alleli complessi) (18, 19) e in *trans* (sui due diversi alleli), i numerosi meccanismi molecolari e cellulari che intervengono nel percorso del CFTR dal gene alla proteina funzionale in membrana, nonché l'intervento di geni modificatori e dell'interattoma del CFTR, rendono complessa l'analisi genetica e la sua interpretazione in chiave diagnostica, prognostica e terapeutica. I test genetici di nuova generazione hanno dato grande impulso alla ricerca mutazionale rendendo realizzabile l'analisi di sequenza del CFTR (ma anche di geni modificatori e interattori del CFTR) rapidamente, a basso costo e ad elevata produttività (20, 21). Un risultato importante della genetica molecolare della FC è stato quello di individuare classi mutazionali del CFTR che possono essere utilizzate per l'uso di agenti terapeutici specifici nell'ambito della medicina personalizzata della FC. Questa complessità genetica e la centralità dell'indagine mutazionale oltre che per scopi diagnostici e prognostici anche per quelli terapeutici di medicina personalizzata (22), ha reso necessario codificare strategie di analisi genetica rigorose e condivise.

STRUTTURA DEL DOCUMENTO

Il documento (1S) tratta gli aspetti specifici dell'analisi genetica in FC e aggiorna le indicazioni contenute nel testo "Modelli di analisi genetica per la fibrosi cistica" del 2005 (elaborato dalla Società italiana di genetica medica e dalla Società italiana di pediatria). Il testo completo è disponibile sui siti web delle società scientifiche coinvolte, oltre che come materiale supplementare collegato a questo breve articolo di presentazione.

Il documento si compone di due parti. Una prima parte tratta della descrizione generale della malattia, della consulenza genetica, delle strategie generali di ricerca mutazionale (in FC, CFTR-RD, infertilità e diagnosi genetica preimpianto), nonché della caratterizzazione di varianti nuove, rare o non precedentemente caratterizzate dal punto di vista funzionale. Una seconda parte si occupa delle strategie specifiche di analisi mutazionale nello screening neonatale, nella diagnosi prenatale, nella ricerca del portatore (individuale e di coppia), nei genitori (di affetti con FC o sospetta FC, anche relativamente all'iperecogenicità intestinale e/o dilatazione delle anse intestinali nel feto), nelle coppie (sia di popolazione generale, sia con aumentato rischio per FC o CFTR-RD), nonché di consanguinei. Sono inoltre presenti capitoli sull'assicurazione di qualità, sulla struttura del referto, sui principali database, siti web e software di analisi, nonché un elenco della bibliografia essenziale. Particolare attenzione è stata data all'appropriatezza dei protocolli di ricerca mutazionale in relazione a specifiche indicazioni di richiesta.

Il documento è corredato di diagrammi di flusso che guidano l'operatore nella scelta della corretta strategia di ricerca mutazionale in specifiche situazioni genetiche, alle quali sono associate tabelle di rischio che aiutano nell'interpretazione e comunicazione del risultato.

L'intento è quello di fornire agli operatori del settore una guida all'appropriata richiesta e al corretto uso dei test genetici per FC attualmente disponibili, nonché alla corretta interpretazione del risultato del test. È auspicabile che l'ampia condivisione raggiunta tra le società scientifiche coinvolte possa uniformare i comportamenti a livello nazionale e migliorare l'utilità dell'informazione fornita agli utenti, nell'ambito di un continuo processo di miglioramento.

BIBLIOGRAFIA

1. Lucarelli M. Indagini genetiche di nuova generazione e terapia personalizzata: l'esempio vincente della Fibrosi Cistica. *Biochim Clin* 2018;42:44-50.
2. Cutting GR. Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet* 2015;16:45-56.
3. Lucarelli M, Bruno SM, Pierandrei S, et al. A genotypic-oriented view of CFTR genetics highlights specific mutational patterns underlying clinical macrocategories of Cystic Fibrosis. *Mol Med* 2015;21:257-75.
4. Lucarelli M, Bruno SM, Pierandrei S, et al. The impact on genetic testing of mutational patterns of CFTR gene in different clinical macrocategories of Cystic Fibrosis. *J Mol Diagn* 2016;18:554-65.
5. Terlizzi V, Carnovale V, Castaldo G, et al. Clinical expression of patients with the D1152H CFTR mutation. *J Cyst Fibros* 2015;14:447-52.
6. Terlizzi V, Lucarelli M, Salvatore D, et al. Clinical expression of cystic fibrosis in a large cohort of Italian siblings. *BMC Pulm Med* 2018;18:196.
7. Farrell PM, White TB, Ren CL, et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr* 2017;181S:S4-S15.
8. Bombieri C, Claustres M, De BK, et al. Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J Cyst Fibros* 2011;10 Suppl 2:S86-102.
9. Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA, et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. *Eur J Hum Genet* 2009;17:51-65.
10. Rossi T, Grandoni F, Mazzilli F, et al. High frequency of (TG)mTn variant tracts in the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene in men with high semen viscosity. *FertilSteril* 2004;82:1316-22.
11. de Souza DAS, Faucz FR, Pereira-Ferrari L, et al. Congenital bilateral absence of the vas deferens as an atypical form of cystic fibrosis: reproductive implications and genetic counseling. *Andrology* 2018;6:127-35.
12. Jiang L, Jin J, Wang S, et al. CFTR gene mutations and polymorphism are associated with non-obstructive azoospermia: From case-control study. *Gene* 2017;626:282-9.
13. Bombieri C, Seia M, Castellani C. Genotypes and phenotypes in cystic fibrosis and cystic fibrosis transmembrane regulator-related disorders. *Semin Respir Crit Care Med* 2015;36:180-93.
14. Sofia VM, Surace C, Terlizzi V, et al. Trans-heterozygosity for mutations enhances the risk of recurrent/chronic pancreatitis in patients with Cystic Fibrosis. *Mol Med* 2018;24:38.
15. Kang SH, Piltcher OB, Dalcin Pde T. Sinonasal alterations in computed tomography scans in cystic fibrosis: a literature review of observational studies. *Int Forum Allergy Rhinol* 2014;4:223-31.
16. Munck A, Mayell SJ, Winters V, et al. Cystic Fibrosis Screen Positive, Inconclusive Diagnosis (CFSPID): A new designation and management recommendations for infants with an inconclusive diagnosis following newborn screening. *J Cyst Fibros* 2015;14:706-13.
17. Borowitz D, Parad RB, Sharp JK, et al. Cystic Fibrosis Foundation practice guidelines for the management of infants with cystic fibrosis transmembrane conductance regulator-related metabolic syndrome during the first two years of life and beyond. *J Pediatr* 2009;155(6 Suppl):S106-16.
18. Lucarelli M, Narzi L, Pierandrei S, et al. A new complex allele of the CFTR gene partially explains the variable phenotype of the L997F mutation. *Genet Med* 2010;12:548-55.
19. Terlizzi V, Castaldo G, Salvatore D, et al. Genotype-phenotype correlation and functional studies in patients with cystic fibrosis bearing CFTR complex alleles. *J Med Genet* 2017;54:224-35.
20. Lucarelli M, Porcaro L, Biffignandi A, et al. A new targeted CFTR mutation panel based on Next-Generation Sequencing Technology. *J Mol Diagn* 2017;19:788-800.
21. Bergougnoux A, D'Argenio V, Sollfrank S, et al. Multicenter validation study for the certification of a CFTR gene scanning method using next generation sequencing technology. *Clin Chem Lab Med* 2018;56:1046-53.
22. Di Lullo AM, Scorza M, Amato F, et al. An "ex vivo model" contributing to the diagnosis and evaluation of new drugs in cystic fibrosis. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2017;37:207-13.