

# IVNPD – Gruppo di lavoro Genetica

## SOP refertazione analisi molecolare del gene GBA in pazienti con malattia di Parkinson

### 1. Nomenclatura delle varianti

Il gruppo di lavoro raccomanda di includere nel referto le sequenze di riferimento del gene GBA (es. ENST00000368373.8, NM\_000157.4, P04062), e di utilizzare una doppia nomenclatura per le varianti, riportando sia la nomenclatura corrente che la nomenclatura classica (-39aa), come da esempio qui sotto.

es. *GBA c. 1226A>G; p.N409S (N370S)*

Nelle note o altrove nel referto si può riportare la seguente frase (o analoga):

*Le varianti nel gene GBA sono riportate sia secondo la nomenclatura corrente sia, in parentesi, secondo la nomenclatura classica basata sulla posizione aminoacidica nell'enzima maturo, considerando p.Ala40 come il primo residuo della proteina.*

### 2. Limiti del test

In caso di analisi NGS (pannelli, clinical exome o WES), il gruppo di lavoro raccomanda di specificare nelle note i limiti di sensibilità del test. Ad esempio, potrebbe essere inserita la seguente frase:

*A seguito della presenza dello pseudogene GBAP1 con elevata omologia di sequenza con il gene GBA, la metodica utilizzata presenta sensibilità <100% e non è esente dalla possibilità di non identificare varianti potenzialmente rilevanti, in particolari gli alleli complessi.*

### 3. Classificazione ed interpretazione delle varianti note

Il gruppo di lavoro raccomanda di indicare, nell'interpretazione delle varianti note, che queste sono associate ad un aumentato rischio di sviluppare malattia di Parkinson (o demenza a corpi di Lewy).

Raccomanda inoltre di segnalare nel referto, oltre alla classificazione ACMG, anche la classificazione basata sull'impatto della variante sulla attività enzimatica (vedi file "*PMID\_32658388 Suppl.Table - GBA variants classification*", in allegato, che contiene una lista aggiornata pur se non esaustiva delle varianti note e relativa classificazione):

- varianti "mild"
- varianti "severe"
- varianti "complex"
- varianti "risk"

Ad esempio, il commento al referto potrebbe prevedere la seguente frase:

*La variante p.N409S (N370S) viene classificata come "mild" sulla base dell'impatto sull'attività enzimatica della glucocerebrosidasi (PMID 32658388). Questa variante è associata ad un aumentato rischio di sviluppare malattia di Parkinson.*

### 4. Classificazione delle varianti nuove

Per le varianti nuove, non è ovviamente a disposizione la classificazione in classi di rischio sulla base del dosaggio dell'attività enzimatica, e pertanto l'unica classificazione possibile è quella ACMG.

Le varianti troncanti o splicing possono essere verosimilmente commentate in maniera simile alle varianti note, ad esempio nel commento al referto si può aggiungere la seguente frase, da customizzare a seconda della tipologia di variante:

*La variante identificata non è stata precedentemente descritta né in pazienti con malattia di Parkinson o malattia di Gaucher né in soggetti sani. Secondo le linee guida ACMG la variante è classificata come patogenetica in quanto è predetta risultare in una proteina tronca. Varianti troncanti del gene GBA sono associate ad un aumentato rischio di sviluppare malattia di Parkinson.*

Viceversa le varianti missenso sono solitamente classificate come VUS e l'interpretazione necessariamente resta più incerta. Ad esempio:

*La variante identificata non è stata precedentemente descritta né in pazienti con malattia di Parkinson o malattia di Gaucher né in soggetti sani. Secondo le linee guida ACMG la variante è classificata come variante di significato incerto. Numerose varianti missenso sono state associate ad aumentato rischio di sviluppare malattia di Parkinson; tuttavia alla luce delle conoscenze attuali non è possibile attribuire alla variante identificata un chiaro ruolo patogenetico, né escludere un suo coinvolgimento nella patogenesi della malattia. E' possibile che questa variante possa essere riclassificata in futuro alla luce di nuove evidenze scientifiche.*

## **5. Riscontro di più varianti**

In caso di riscontro di più varianti, il gruppo di lavoro consiglia di verificare innanzitutto se la combinazione delle varianti possa configurare un allele complesso noto (vedi file "elenco alleli complessi" in allegato). In questo caso, il referto deve riportare la descrizione dell'allele complesso. Ad esempio, nel commento si può aggiungere la seguente frase:

*Le varianti L444P, A456P e V460V, quando riscontrate insieme, indicano la presenza di un riarrangiamento tra il gene GBA e lo pseudogene GBAP1 noto come "RecNcil allele" (PMID: 28727984), che configura una variante classificata come "complex".*

Se la combinazione delle varianti identificate NON configura un allele complesso noto, è necessario richiedere l'estensione dell'analisi ai familiari disponibili per definire la fase delle varianti identificate.

Nel caso in cui l'analisi di segregazione dimostra la presenza di varianti *in trans* (con l'eccezione di due varianti "risk"), è opportuno nel commento al referto consigliare ulteriori approfondimenti (es. approfondimenti ematologici) per escludere una concomitante malattia di Gaucher.

## **6. Consulenza genetica**

Il gruppo di lavoro consiglia di includere in tutti i referti positivi (anche per singole varianti "risk" eterozigoti) l'indicazione alla consulenza genetica. Ad esempio, nel referto si può aggiungere la seguente frase:

*Si raccomanda consulenza genetica. In particolare, per una corretta interpretazione, il risultato riportato nel presente referto deve essere discusso con il genetista medico e con il neurologo esperto di malattia di Parkinson.*

## **7. Altri commenti al referto**

In caso di variante riscontrata mediante NGS, il gruppo di lavoro consiglia di includere nei commenti al referto la seguente frase relativa alla validazione della variante:

*La variante identificata è stata confermata mediante sequenziamento Sanger utilizzando una amplificazione specifica per il gene GBA (in modo da escludere lo pseudogene GBAP1).*