

# IVNPD – Gruppo di lavoro Genetica

## Raccomandazioni per la compilazione del referto

Il gruppo di lavoro ha discusso le criticità relative alla refertazione di pannelli NGS in caso di malattia di Parkinson e demenze, ed ha elaborato le seguenti raccomandazioni.

### 1. Minimal gene sets

I pannelli utilizzati possono essere diversi da laboratorio a laboratorio. Per tale motivo si è deciso di identificare “**minimal gene sets**” associati a specifici fenotipi (malattia di Parkinson, NBIA, demenze ecc.), cioè dei set di geni “obbligatori” che dovranno essere sempre analizzati nei pazienti con quello specifico sospetto diagnostico. La definizione dei “minimal gene sets” sarà oggetto di un prossimo incontro, e tali elenchi di geni andranno periodicamente aggiornati dal gruppo di lavoro.

### 2. Coperture dei geni analizzati

E' auspicabile che la **copertura >20x di tutti i geni inclusi nel “minimal gene set”** sia almeno **pari o superiore al 95%**. Il referto deve comunque riportare l'elenco di tutti i geni analizzati e relative coperture, oppure in alternativa (in caso di coperture molto uniformi), si può includere una frase per indicare che la copertura >20x di tutti i geni analizzati è pari o superiore al 95%.

### 3. Refertazione delle varianti

Il gruppo di lavoro raccomanda di **refertare le varianti** in due sezioni distinte:

#### **Sezione 1 – varianti causative o verosimilmente causative del fenotipo per cui è stato richiesto il test**

Questa sezione riporta la variante o le varianti che verosimilmente sono causative del fenotipo per cui è stato richiesto il test genetico.

Per queste varianti è opportuno indicare:

- gene e relativo NM
- OMIM number
- annotazione a livello di cDNA e proteina (ove possibile)
- classificazione ACMG (patogenetica, verosimilmente patogenetica)\*
- modalità di trasmissione
- segregazione (ove disponibile)\*\*

Queste varianti devono essere validate mediante sequenziamento Sanger e il commento al referto deve spiegare il nesso causale tra le varianti ed il fenotipo.

\*Anche le VUS possono essere occasionalmente incluse nella sezione 1. Esempio: VUS missenso con frequenza molto bassa in gnomAD e criteri predittivi consistentemente “damaging”, che non raggiunge i criteri ACMG di “verosimile patogenicità”, in eterozigosi composta con una variante patogenetica in un gene plausibile per spiegare il fenotipo.

\*\*in caso di identificazione di due varianti distinte in geni recessivi, e in mancanza di DNA da membri familiari per lo studio di segregazione, il commento al referto deve riportare la

necessità di estendere l'analisi ai familiari disponibili per definire la fase delle varianti identificate.

## **Sezione 2 – varianti non chiaramente causative del fenotipo per cui è stato richiesto il test**

In questa sezione, il gruppo di lavoro raccomanda di includere le seguenti varianti, indipendentemente da quanto riportato nella sezione 1 (cioè se sia stata o meno raggiunta una diagnosi genetica per il fenotipo per cui è stato richiesto il test)

- a) **VUS identificate nei geni compresi nel “minimal gene set”** (questa categoria comprende sia le varianti effettivamente classificate come VUS secondo i criteri ACMG, sia le singole varianti eterozigoti in geni recessivi che, anche se classificate come patogenetiche o verosimilmente patogenetiche secondo i criteri ACMG, diventano VUS in assenza della seconda variante in trans).

Per tali varianti, l'interpretazione resta più incerta. Ad esempio si può aggiungere in caso di VUS novel:

*La variante identificata non è stata precedentemente descritta in pazienti con malattia di Parkinson né in soggetti sani. Secondo le linee guida ACMG la variante è classificata come variante di significato incerto. 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.*

Per varianti eterozigoti patogenetiche o verosimilmente patogenetiche in geni recessivi, se non già effettuato o in corso, è opportuno indicare la necessità di un approfondimento diagnostico (es MLPA).

*La variante identificata è attualmente classificata come patogenetica secondo le linee guida ACMG. Varianti bialleliche nel gene xxx sono associate a malattia di Parkinson a trasmissione autosomica recessiva. L'analisi effettuata non ha evidenziato la presenza di una seconda variante potenzialmente rilevante nello stesso gene, sebbene non si possa escludere la possibile presenza di varianti non evidenziabili con la metodica utilizzata. A tal fine, è opportuno approfondimento diagnostico con altra metodica (es. MLPA).*

- b) **Varianti patogenetiche e verosimilmente patogenetiche identificate in geni esterni al “minimal gene set”** (queste possono essere equiparate ad “secondary findings” e quindi devono essere riportate solo nel caso in cui il paziente abbia dato il consenso e il laboratorio decida di refertare il pannello allargato). Se il paziente non ha dato il consenso, si raccomanda che il laboratorio referti esclusivamente il “minimal gene set” correlato al quesito diagnostico
- c) **Varianti patogenetiche e verosimilmente patogenetiche in “actionable genes”** (solo per laboratori che analizzano esoma o esoma clinico). Queste varianti rappresentano “secondary findings” e quindi devono essere riportate solo nel caso in cui il paziente abbia dato il consenso e quindi devono essere riportate solo nel caso in cui il paziente abbia dato il consenso e il laboratorio decida di refertare il pannello allargato). Se il paziente non ha dato il consenso, si raccomanda che il laboratorio referti esclusivamente il “minimal gene set” correlato al quesito diagnostico.

Il gruppo di lavoro concorda nella NON NECESSITA' di effettuare validazione Sanger per le varianti descritte nella Sezione 2a, soprattutto in presenza di coperture adeguate (>20x).

## **Varianti da NON riportare nel referto**

Il gruppo di lavoro raccomanda di **NON riportare nel referto**:

- le varianti classificate come benigne o verosimilmente benigne
- le VUS in geni esterni al “minimal gene set” relativo al quesito diagnostico
- le varianti in geni inclusi nel pannello come parte di progetti di ricerca ma non ancora confermati come geni-malattia (indipendentemente dalla classificazione delle varianti). Tali varianti, se rilevanti, potranno essere riportate separatamente dal laboratorio in un apposito “referto per ricerca”.

## **Validazione funzionale delle varianti**

In alcuni casi (es. CNVs identificate dai dati NGS, varianti predette come alteranti lo splicing ecc.), è opportuno riportare nel referto che la variante riportata o il suo impatto funzionale devono essere confermati o validati con metodiche alternative (es. MLPA se disponibile, real time PCR su DNA genomico, studio dell’RNA). Se tale indagine non è disponibile presso il laboratorio stesso, il laboratorio potrà contattare gli altri centri partecipanti al gruppo di lavoro per indirizzare nella maniera più corretta il paziente per la prosecuzione delle indagini.

## **Consulenza genetica**

Il gruppo di lavoro consiglia di includere in tutti i referti in cui vengono riportate varianti nella Sezione 1 e/o nella Sezione 2 **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.*