

Rinaldi M.¹, Tonin R.¹, Feo F.¹, Falliano S.¹, Cardona F.², Clemente F.², Matassini C.², Ramat S.³, Caremani L.³, Govoni A.³, Della Bona M.⁴, la Marca G.⁴, Guerrini R.^{1,5}, Morrone A.^{1,5}

¹ Lab Bio Mol Mal Neuromet, AOU Meyer, Firenze, Italia; ² Dip di Chimica "Ugo Schiff", (DICUS), Univ Studi Firenze, Italia; ³ Parkinson Unit, AOU Careggi, Firenze, Italia; ⁴ Lab Screen Neonat, Chim Clin e Farm, AOU Meyer, Firenze; ⁵ Dip Neurofarba, Univ Studi Firenze, Italia.

Email: amelia.morrone@meyer.it; marina.rinaldi@meyer.it

BACKGROUND E OBIETTIVI

Il gene *GBA* (OMIM # 606463) codifica l'enzima lisosomiale β -glucocerebrosidasi (GCase). La riduzione o assenza è causativa della malattia di Gaucher (MG).

Varianti *GBA* rappresentano il principale fattore di rischio genetico per lo sviluppo della malattia di Parkinson (MP) (Zampieri et al. 2017; Beavan et al. 2013).

Netta correlazione tra differenti varianti nel gene e gravità del quadro clinico della MP non è ancora del tutto chiarita. È invece già riportata un'attività ridotta dell'enzima GCase nei pazienti con MP, portatori e non di varianti nel gene *GBA* (Simona Petrucci et al. 2020).

Obiettivi:

- Determinare la frequenza delle varianti nel gene *GBA* in una vasta coorte di pazienti con MP con bassa attività dell'enzima GCase;
- Testare lo chaperone farmacologico CF30 sui fibroblasti di pazienti portatori rispettivamente delle varianti *GBA* p.(Asn370Ser) e p.(Leu444Pro).

METODI E PAZIENTI

Selezione di 252 pazienti con MP selezionati secondo i criteri della Movement Disorder Society.

Screening dell'attività dell'enzima GCase valutata su Dried Blood Spot e spettrometria di massa tandem (LC-MS/MS).

Sequenziamento del gene *GBA* con NGS e conferma delle varianti con metodica Sanger pannello AmpliSeq Illumina Custom DNA su piattaforma MiniSeq.

Test CF30 sui fibroblasti di pazienti Gaucher e su cellule progenitrici Neuronal (NPC) di controlli sani.

RISULTATI

Lo screening ha rilevato 78 pazienti con attività di GCase $\leq 5 \mu\text{mol/h/L}$ (31%) (Figura 1.a.).

L'analisi NGS su questo sottoinsieme ha identificato 22 portatori di varianti a carico del gene *GBA* (8,7%). Le varianti più comuni nei 22 eterozigoti sono risultate 5 (Figura 1. b.).

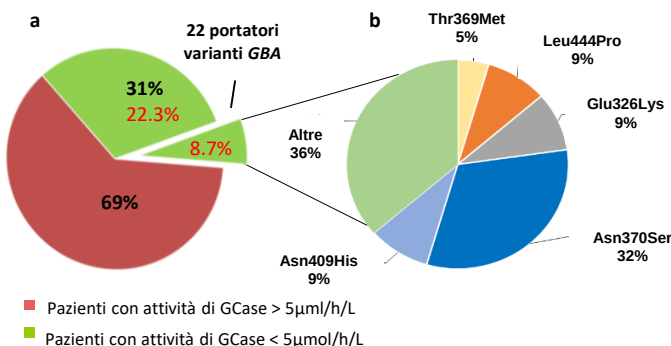
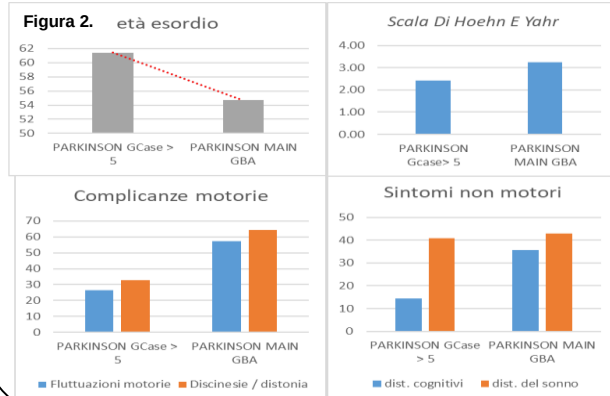


Figura 1. a. Screening biochimico dell'attività GCase della coorte di pazienti con MP. **b.** Frequenza delle varianti nel gene *GBA* più comuni rilevate.

Le varianti più comuni sono associate a (Figura 2):

- esordio precoce della MP;
- maggiore frequenza di complicanze motorie;
- progressione più rapida e maggiore coinvolgimento sintomi non motori (funzioni cognitive e disturbi del sonno REM).



Il composto CF30 aumenta l'attività di GCase:

- fino a 1,8 volte sui fibroblasti di pazienti Gaucher (Asn370Ser/RecNcil) e (Leu444Pro/Leu444Pro) (Clemente et al. 2020, Bioorg Chem);
- 1,5 e 2,12 volte su cellule NPC di controlli sani (Figura 3).

DISCUSSIONE

Nella coorte dei 252 pazienti con MP analizzati, in linea con quanto già riportato in letteratura, l'8,7% è risultato essere portatore in eterozigosi di varianti *GBA*, clinicamente rilevanti per la progressione della MP. L'attività di GCase, aumentata grazie alla somministrazione del composto CF30, potrebbe rappresentare un potenziale target terapeutico per la MP.

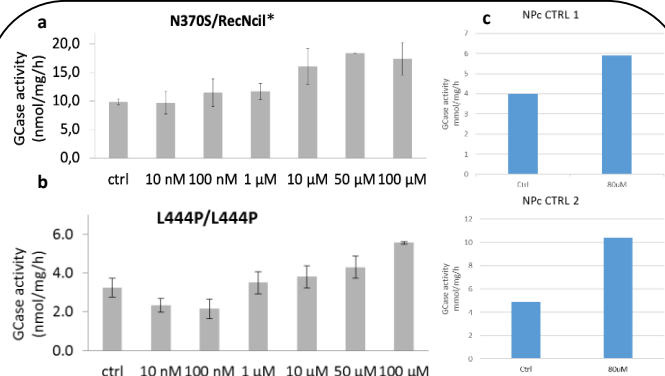


Figura 3. a. b. Test di CF30 nei fibroblasti derivati dai due pazienti portatori delle due varianti; *RecNcil: l'allele di ricombinazione tra i geni *GBA* e *GBAP*; **c.** CF30 aumenta l'attività di 1,5 e 2,12 volte nelle cellule NPC.