

# **232° ENMC Workshop Internazionale: Linee Guida per la Diagnosi e la Terapia con nucleosidi delle Malattie da difetto della stabilità del DNA mitocondriale**

Heemskerk, Olanda, 16-18 Giugno 2017

## **Organizzatori**

Ramon Martí (Barcellona, Catalonia, Spagna) e Michio Hirano (New York, NY, Stati Uniti d'America)

## **Descrizione**

Nel fine settimana dal 16 al 18 Giugno 2017, quindici, tra scienziati clinici e di ricerca di base, familiari di pazienti, e rappresentanti di case farmaceutiche si sono riuniti ad Heemskerk, in Olanda. I delegati lavorano in quattro paesi membri dell' ENMC, un paese membro associato, e quattro paesi non membri. Il meeting è stato il terzo workshop ENMC dedicato ai disturbi della stabilità del DNA mitocondriale (mtDNA). I due workshops precedenti dedicati a questo argomento si sono svolti nel settembre 2007, workshop 155, dal titolo "Polimerasi gamma e disturbi della sintesi del DNA mitocondriale", e nel dicembre 2008, workshop 163, " Disordini del DNA mitocondriale".

## **Razionale ed Obiettivi del Workshop**

I mitocondri sono piccole strutture presenti in quasi tutte le cellule umane, preposti alla produzione dell'energia necessaria per condurre le reazioni chimiche richieste per il corretto funzionamento delle cellule. Per questo motivo, essi sono talvolta chiamati "centrale energetica" della cellula. I mitocondri contengono il proprio "materiale genetico" (DNA), chiamato "DNA mitocondriale" abbreviato come mtDNA. Questo mtDNA è essenziale per il normale funzionamento dei mitocondri. Un importante gruppo di malattie mitocondriali, chiamato "disturbi della stabilità di mtDNA", è causato da alterazioni ("mutazioni") nei geni che codificano proteine necessarie per replicare e mantenere integre le molecole di mtDNA. Poiché importanti proteine e altri fattori necessari per la corretta funzione mitocondriale sono fabbricati sulla base delle informazioni contenute nel mtDNA, il difetto di stabilità di questa molecola comporta disfunzione mitocondriale associata a numerosi problemi clinici che colpiscono, talora gravemente, i pazienti. La presentazione clinica varia a seconda del particolare gene interessato e di altri fattori: in alcuni casi, la malattia colpisce principalmente la funzione muscolare, e può portare a insufficienza respiratoria ed alla morte nell'infanzia o in età pediatrica; in altri casi, la presentazione clinica include disfunzioni gravi del fegato, del tratto gastrointestinale o del sistema nervoso centrale, con possibili conseguenze fatali anche nei primi anni di vita.

Questo workshop ha avuto lo scopo di migliorare il riconoscimento, la diagnosi ed il trattamento clinico di questi pazienti con una discussione mirata sul trattamento di due malattie: difetti di timidina chinasi 2 (TK2) ed la sindrome MNGIE o encefalomiopatia mitocondriale neurogastrointestinale.

### **Obiettivi del Workshop**

- (I) Presentare e discutere gli ultimi aggiornamenti e lo stato dell'arte nella diagnosi e trattamento delle malattie da difetto di stabilità del mtDNA, compresa l'identificazione di nuovi geni malattia, i nuovi risultati sul meccanismo con cui la disfunzione di questi geni e delle relative proteine causano i sintomi, nonché le evidenze precliniche e cliniche sulla potenzialità di nuovi trattamenti.
- (II) Sviluppare linee guida per il trattamento delle patologie dovute a difetti di TK2 e di altre malattie da difetto della stabilità del mtDNA.
- (III) Sviluppare una strategia per reclutare i pazienti con difetti di TK2 per uno studio clinico internazionale per il trattamento della patologia, dato che il workshop includeva neurologi, neurologi pediatri e rappresentanti di gruppi di pazienti.

### **Risultati del Workshop**

Il workshop ha avuto inizio con presentazioni sulla biologia di base della replicazione del mtDNA (Dr Copeland, Rampazzo e Wang) e sulle malattie umane causate da difetto di stabilità del mtDNA (Drs. Rahman e Martí). Questa sessione introduttiva è stata seguita da discussioni sui principali sintomi e segni, le alterazioni biochimiche e genetiche, la loro evoluzione clinica da fase pre-sintomatica a quella terminale, l'approccio ad una diagnosi rapida ed accurata di questi disturbi e l'individuazione dei risultati clinici da utilizzare come indicatori obiettivi di efficacia e miglioramento dei trattamenti per studi clinici (Dr Lombès, Garone e Saada). Poiché i modelli animali delle malattie umane sono strumenti fondamentali per comprendere sia come le alterazioni genetiche causano malattie che per la sperimentazione delle terapie, i ricercatori hanno presentato i dati derivanti dallo studio di diversi modelli transgenici murini e zebrafish (Dr Hirano, Karlsson, Suomalainen, Spinazzola e Horvath). Va notato che diversi studi scientifici sui modelli murini e cellulari hanno rivelato l'importanza del pool bilanciato dei quattro deossinucleosidi trifosfati necessari per la sintesi di mtDNA: dATP, dGTP, dCTP e dTTP. Queste quattro molecole, conosciute collettivamente come "dNTPs", sono i "mattoni" necessari per la stabilità del mtDNA. Alcune di queste malattie sono dovute a difetti in geni codificanti le proteine coinvolte nella sintesi di dNTP. Per esempio, la proteina Timidina Chinasi 2 (TK2) è necessaria per la sintesi di dTTP e dCTP all'interno dei mitocondri mentre la proteina Deossiguanosina Chinasi (dGK) è necessaria per la sintesi di dATP e dGTP sempre nei mitocondri. Ci sono prove complessive sui potenziali benefici terapeutici della somministrazione di deossinucleosidi e deossinucleotidi, che sono precursori o molecole intermedie necessarie per la sintesi di dNTP. La somministrazione di queste sostanze a cellule (in vitro) o modelli animali (in vivo) by-passa la disfunzione di TK2 e

dGK e può ripristinare l'equilibrio dei dNTP.

Ulteriori studi in modelli *in vivo* sono necessari per chiarire se il trattamento è potenzialmente trasferibile anche ad altre malattie caratterizzate da difetto di stabilità del mtDNA (Dott. Horvath, López, Cámara e Saada). Sulla base di questi studi di laboratorio, alcuni pazienti con difetti in TK2 in Europa e nel Nord, Centro e Sud America sono stati trattati con terapie a base di deossinucleosidi e deossinucleotidi con protocolli autorizzati per uso compassionevole ed i risultati sono sorprendenti ed incoraggianti (Dr Hirano e Paradas e Arturo Estopiñán e Mr. Lander Nogués). Per ottenere l'approvazione completa da parte della Food and Drug Administration (FDA) e dell'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) all'uso di deossinucleosidi per trattare il difetto di TK2, è necessario uno studio clinico che dimostri inequivocabilmente l'efficacia del prodotto. Nel tentativo di raggiungere questo obiettivo, i medici, i rappresentanti delle aziende farmaceutiche ed un esperto di sperimentazione biostatistica/clinica hanno esaminato i molteplici passaggi e le potenziali difficoltà che hanno portato nuovi farmaci alla valutazione in studi clinici (Peter Barber, Curtis Cui e John Thompson). In contrasto con la carenza di TK2, MNGIE dispone di numerose terapie disponibili (Dott. Hirano, Carelli, Martí e De Co). Sono state create linee guida per le terapie nella sindrome di MNGIE.

### **Futuri benefici per i pazienti**

Uno degli obiettivi principali del workshop è stato quello di pianificare la sperimentazione continua della terapia deossinucleosidica per la carenza di TK2. Se questi studi confermeranno ulteriormente il beneficio di questa promettente terapia, l'approvazione regolatoria porterà ad una maggiore disponibilità del primo trattamento specifico ed efficace per questa malattia. Altri elementi che possono essere utili per i pazienti includono: 1) una diagnosi più rapida per i difetti di TK2; 2) linee guida più chiare per aiutare i medici a scegliere l'opzione più appropriata tra le molteplici terapie innovative per la sindrome di MNGIE; 3) potenziali nuove future sperimentazioni cliniche della terapia deossinucleosidica per altre patologie da difetto di stabilità del mtDNA.

### **Lista dei Partecipanti**

Ramon Martí, PhD, Vall d'Hebron Research Institute and CIBERER, Barcelona, Spain

Michio Hirano, MD, Columbia University Medical Center, New York, USA

Peter H. Barber, Meves Pharmaceutical, Inc., New York, USA

Yolanda Cámara, PhD, Vall d'Hebron Research Institute and CIBERER, Barcelona, Spain

Valerio Carelli, MD, PhD, University of Bologna, Italy

René de Co, MD, PhD, Neuromuscular and Mitochondrial research center (NeMo), Rotterdam, The Netherlands

William C. Copeland, PhD, National Institute of Environmental Health Sciences, Research Triangle Park, NC, USA

Curtis Cui, Hongene Biotechnology USA, Morrisville, NC, USA

Arturo Estopiñán, Baltimore, MD, USA

Caterina Garone, MD, PhD, Medical Research Council Mitochondrial Biology Unit, University of Cambridge, Cambridge, UK

Rita Horvath, MD, PhD, Newcastle University, Newcastle Upon Tyne, UK

Anna Karlsson, MD, PhD, Karolinska Institutet, Stockholm, Sweden

Juan Cruz Landoni, BSc, University of Helsinki, Finland.

Anne Lombès, MD, PhD, Inserm UMR 1016, Institut Cochin, Paris, France

Carlos López, PhD, Columbia University Medical Center, New York, USA

Lander Nogués, Donostia, Spain

Carmen Paradas, MD, PhD, University Hospital Virgen del Rocío, Seville, Spain

Shamima Rahman, FRCP, PhD, University College, London, UK

Chiara Rampazzo, PhD, Department of Biology, University of Padova, Italy

Ann Saada, PhD, Hadassah-Hebrew Medical Center, Jerusalem, Israel

Antonella Spinazzola, MD, PhD, University College London, London, UK

Anu Suomalainen Wartiovaara, MD, PhD, Research Programs Unit, Molecular Neurology, University of Helsinki, Finland.

John LP (Seamus) Thompson, PhD, Mailman School of Public Health, Columbia University, New York, USA

Liya Wang, PhD, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden



*I partecipanti del 232° workshop ENMC sui disordini del mantenimento del mtDNA*

Un resoconto complete di questo ENMC workshop sarà pubblicato nella rivista Neuromuscular Disorders.

Questo workshop è stato co-sponsorizzato da MDA USA.