



270° Workshop Internazionale ENMC :

Luogo: Hoofddorp, Paesi Bassi

Titolo: Consenso per l'analisi genetica dei geni *SMN2* nei pazienti SMA

Data: 10–12 Marzo 2023

Organizzatori: Prof. Enrico Bertini (Italia), Prof. F. Danilo Tiziano (Italia), Prof. Eduardo F. Tizzano (Spagna)

Traduzioni della presente relazione a cura di:

Spagnolo - Dott.ssa Mar Costa-Roger

Italiano - Dott.ssa Emanuela Abiusi

Tedesco - Prof.ssa Brunhilde Wirth

Olandese - Dott. Ewout Groen

Polacco - Sig. Kacper Rucinski

Francese - Sig.ra Marie-Christine Ouillade

Partecipanti: Dott.ssa Emanuela Abiusi (Italia), Dott. Giovanni Baranello (Regno Unito), Dott. François Boemer (Belgio), Prof. Arthur Burghes (Stati Uniti), Dott.ssa Marta Codina-Solà (Spagna), Dott.ssa Mar Costa-Roger (Spagna), Dott.ssa Tamara Dangouloff (Belgio), Dott. Ewout Groen (Paesi Bassi), Dott.ssa Monika Gos (Polonia), Dott.ssa Maria Jędrzejowska (Polonia), Prof. Jan Kirschner (Germania), Dott. Henny Lemmink (Paesi Bassi), Prof. Wolfgang Müller-Felber (Germania), Sig.ra Marie-Christine Ouillade (Francia), Dott.ssa Susana Quijano-Roy (Francia), Sig. Kacper Rucinski (Polonia/Regno Unito), Prof.ssa Brunhilde Wirth (Germania).

Il 270° workshop ENMC si è tenuto dal 10 al 12 marzo 2023 e ha riunito 20 esperti del settore (rappresentanti delle associazioni dei pazienti e dell'industria, esperti neuromuscolari e clinici) di 8 Paesi europei e degli Stati Uniti. L'obiettivo principale del workshop è stato lo sviluppo di una procedura comune per ottimizzare la determinazione del numero di copie del gene *SMN2* e la creazione di una rete di collaborazione tra laboratori e clinici.

Negli anni precedenti, la determinazione del numero di copie di *SMN2* aveva uno scopo principalmente informativo ed era usata per elaborare le correlazioni genotipo-fenotipo; attualmente, tuttavia, questo biomarcatore genomico è diventato uno dei fattori principali per decidere se sia opportuno il trattamento e quale terapia intraprendere, soprattutto nei pazienti identificati attraverso programmi di screening neonatale.

Mentre la diagnosi genetica della SMA è relativamente semplice, tramite la rilevazione dell'assenza di entrambe le copie del gene *SMN1* (materna e paterna; 95% dei pazienti può essere diagnosticato con un semplice test qualitativo), la valutazione del numero di copie di *SMN2* richiede metodologie quantitative che non sono facilmente implementate nella maggior parte dei laboratori. A tal proposito, è stata osservata una sorprendente discordanza, fino al 40%, in campioni di DNA analizzati

in laboratori differenti. La quantificazione dei geni *SMN2* dovrebbe essere attuata con precisione in qualsiasi laboratorio che esegue test diagnostici per la SMA, indipendentemente dalla sua esperienza. La qualità dei campioni di DNA e i controlli di calibrazione positivi e negativi sono di fondamentale importanza per l'analisi di qualsiasi campione; inoltre, per la risoluzione di casi ambigui, bisognerebbe prendere in considerazione l'idea di effettuare test paralleli in laboratori differenti. Il gruppo ha convenuto di raccomandare l'uso di una tecnologia che consenta di stimare il numero esatto di copie di *SMN2* e l'indicazione dello stesso nel referto diagnostico. A questo scopo, una sessione del workshop è stata dedicata alla discussione con gli specialisti di diverse aziende che realizzano kit commerciali per la determinazione del numero di copie di *SMN2*; il gruppo ha proposto di elaborare una serie di raccomandazioni per le aziende volte a ridurre al minimo il rischio di errori, indipendentemente dall'esperienza dei singoli laboratori.

Grande attenzione è stata rivolta anche alla gestione dei casi con una discordanza genotipo/fenotipo (sintomi gravi in pazienti con un elevato numero di copie o viceversa) e dei casi con un elevato numero di copie di *SMN2* (> 4): il gruppo ha deciso di definire un protocollo dedicato per questi casi e di promuovere la creazione di una rete europea che possa condividere protocolli, scambiare campioni quando necessario e sostenere i centri con minore esperienza nelle diagnosi più complesse. Inoltre, è stata proposta la creazione di un registro europeo di pazienti con quattro copie di *SMN2*, per definirne meglio la storia naturale.

Oltre al numero di copie di *SMN2*, sono state oggetto di discussione anche le varianti puntiformi e strutturali del gene; ne è emersa la necessità di indagare meglio questi fattori. I partecipanti hanno convenuto che le varianti di *SMN2* validate come modificatori positivi del fenotipo (c.859G>C e c.835-44A>G) dovrebbero essere testate e riportate di routine in qualsiasi contesto diagnostico (correlato o meno allo screening neonatale), sebbene i dati sulle stesse non siano attualmente sufficienti per modificare le decisioni terapeutiche. Inoltre, è stato osservato che le strutture ibride del gene *SMN2* determinano effetti ancora poco chiari dal punto di vista clinico e richiedono ulteriori studi con tecniche di Next Generation Sequencing e la creazione una banca dati di pazienti con tali varianti, che possa descriverne l'evoluzione clinica.

Una delle sessioni del workshop è stata incentrata sullo screening neonatale. Tutti i partecipanti hanno concordato sulla necessità di stabilire un workflow chiaro per la diagnosi e la gestione dei pazienti identificati mediante screening neonatale, per ottimizzare il processo di comunicazione. Ciò dovrebbe includere anche la presenza di un esperto neuromuscolare durante il primo incontro con la famiglia, per fornire informazioni più complete ed eseguire una valutazione clinica accurata del bambino. E' altamente raccomandato che il test di conferma e la valutazione dei marcatori prognostici siano effettuati in un centro di riferimento specializzato. È stata inoltre sottolineata la necessità di essere tempestivi nella diagnosi e nella presa in carico del paziente: il gruppo di lavoro si è proposto di elaborare una raccomandazione per le tempistiche della prima consulenza con la famiglia, del test di conferma e dell'inizio del trattamento. Un altro punto cruciale è quello dei pazienti pre-sintomatici con quattro copie di *SMN2*, per i quali viene talvolta utilizzata la strategia "dell'attesa": la principale preoccupazione legata a questa strategia è il rischio di una manifestazione precoce della malattia, che in questi pazienti può avvenire anche durante la prima infanzia, peggiorando il risultato terapeutico. Per questo motivo è stato sottolineato che, dal punto di vista biologico/fisiopatologico, è consigliabile il trattamento precoce anche nei pazienti con quattro copie di *SMN2* ed è necessario raccogliere ulteriori dati clinici su questi pazienti per ottenere l'approvazione del trattamento delle agenzie di regolamentazione dei farmaci.

Per quanto riguarda la gestione e il trattamento dei pazienti sintomatici, è stato osservato con preoccupazione che in determinate aree geografiche il numero di copie di *SMN2* è stato talvolta

utilizzato come criterio normativo per determinare l'accesso alla terapia; il gruppo ha concordato sul fatto che la decisione terapeutica dovrebbe invece essere indipendente dal numero di *SMN2*. Ancora una volta, è stato proposto di raccomandare un tempo di consegna per il test genetico di conferma (configurato come una vera urgenza medica) al fine di evitare di perdere tempo prezioso per l'inizio del trattamento.

Infine, è stato osservato che i biomarcatori attualmente disponibili mancano di riproducibilità e di dati longitudinali e quindi non sono adatti a predire e monitorare la risposta al trattamento e la prognosi dei pazienti (in particolare dei pazienti pre-sintomatici); per questo motivo, il gruppo di lavoro incoraggia futuri studi collaborativi internazionali che possono aiutare a definire la validità dei biomarcatori candidati ora disponibili e a valutarne eventualmente di nuovi.

Come risultati specifici di questo workshop, il gruppo di lavoro ha concordato di determinare una procedura operativa standard per la determinazione del numero di copie *SMN2* e un workflow specifico per la diagnosi e la gestione dei pazienti SMA identificati mediante screening neonatale, nonché di impegnarsi in sforzi collaborativi per la creazione di una rete per affrontare le discrepanze tra i centri diagnostici. Questi sforzi saranno perseguiti nel corso del 2023.

Un report completo sarà pubblicato nella rivista scientifica specializzata *Neuromuscular Disorders*.