



## 270<sup>th</sup> ENMC International Workshop:

**Location:** Hoofddorp, The Netherlands

**Title:** Consensus for *SMN2* genetic analysis in SMA patients

**Date:** 10–12 March 2023

**Organisers:** Prof. Enrico Bertini (Italy), Prof. F. Danilo Tiziano (Italy), Prof. Eduardo F. Tizzano (Spain)

**Participants:** Dr. Emanuela Abiusi (Italy), Dr. Giovanni Baranello (UK), Dr. François Boemer (Belgium), Prof. Arthur Burghes (USA), Dr. Marta Codina-Solà (Spain), Dr. Mar Costa-Roger (Spain), Dr. Tamara Dangouloff (Belgium), Dr. Ewout Groen (Netherlands), Dr. Monika Gos (Poland), Dr. Maria Jędrzejowska (Poland), Prof. Jan Kirschner (Germany), Dr. Henny Lemmink (Netherlands), Prof. Wolfgang Müller-Felber (Germany), Ms Marie-Christine Ouillade (France), Dr. Susana Quijano-Roy (France), Mr Kacper Rucinski (Poland/UK), Prof. Brunhilde Wirth (Germany).

Der 270. ENMC-Workshop fand vom 10. bis 12. März 2023 statt und brachte 20 Vertreter von Patientenvertretungen und der Industrie sowie neuromuskuläre und klinische Experten aus acht europäischen Ländern und den Vereinigten Staaten zusammen. Das Hauptziel dieses Workshops war die Entwicklung eines gemeinsamen Verfahrens zur Optimierung der Zuverlässigkeit bei der Bestimmung der Anzahl von *SMN2*-Genkopien und der Aufbau von Kollaborationsnetzwerken zwischen Laboren und Klinikern zur bestmöglichen Bestimmung Anzahl der *SMN2*-Genkopien.

In früheren Jahren wurde die Bestimmung der Anzahl der *SMN2*-Genkopien hauptsächlich verwendet, um Genotyp-Phänotyp-Korrelationen zu erarbeiten, derzeit ist es der wichtigste Biomarker um Therapieentscheidungen zu treffen, insbesondere bei Säuglingen, die durch Neugeborenen-Screening-Programme identifiziert wurden. Während die genetische Bestätigung von SMA relativ unkompliziert ist, indem das Fehlen beider *SMN1*-Genkopien (mütterlich und väterlich; 95 % der Patienten können mit einem einfachen qualitativen Test diagnostiziert werden) festgestellt wird, erfordert die Bestimmung der Anzahl der *SMN2*-Genkopien quantitative Methoden, die in den meisten Labors nicht einfach zu implementieren sind. In diesem Sinne hat das erneute Testen von DNA-Proben zwischen Labors überraschende Abweichungen von bis zu 40 % aufgewiesen. Die Quantifizierung der Anzahl der *SMN2*-Genkopien sollte in jedem Labor, das SMA-Tests durchführt, rigoros und zuverlässig umgesetzt werden können, unabhängig von seiner Expertise.

Die DNA-Probenqualität sowie positive und negative Kalibrierkontrollen sind von entscheidender Bedeutung für das Testen jeder Probe; Darüber hinaus sollten Laboratorien parallele Tests in verschiedenen Laboratorien berücksichtigen, um mehrdeutige Fälle zu lösen. Die Gruppe einigte sich darauf, dass die Befunde sowohl die eingesetzte Technologie als auch die exakte Anzahl von *SMN2*-Genkopien angeben sollte. Zu diesem Zweck war eine Videositzung während des Workshops mit den Spezialisten verschiedener Firmen gewidmet, die Laborkits für die Bestimmung der Anzahl der *SMN2*-Genkopien herstellen. Die Gruppe hat vorgeschlagen, eine Reihe von Empfehlungen für die Unternehmen auszuarbeiten, die beitragen sollen, das Fehlerrisiko bei der Bestimmung der Anzahl der *SMN2*-Genkopien zu minimieren, unabhängig von der Expertise einzelner Labors.

Viel Aufmerksamkeit wurde auch der Behandlung von Fällen gewidmet, die eine Genotyp-Phänotyp-Diskordanz aufweisen (schwere Symptome bei Patienten mit einer höheren Anzahl von *SMN2*-Genkopien oder umgekehrt) und Fällen mit einer hohen Anzahl von *SMN2*-Genkopien (> 4): die Gruppe einigte sich auf die Definition eines speziellen Protokolls und die Bildung eines europäischen Netzwerks, das Protokolle teilen, bei Bedarf Proben austauschen und Zentren mit weniger Erfahrung in den komplexesten Diagnosen unterstützen kann. Darüber hinaus wurde ein europäisches Patientenregister mit Fällen mit vier *SMN2*-Genkopien vorgeschlagen, um den natürlichen Verlauf besser zu definieren.

Neben der Anzahl der *SMN2*-Kopien waren auch punktuelle und strukturelle Varianten des *SMN2*-Gens Teil der Diskussion, wobei die Relevanz einer besseren Untersuchung dieser Genvarianten hervorhoben wurde. Die Teilnehmer stimmten darin überein, dass die validierten und positiv-sich-auswirkenden *SMN2*-Genvarianten (c.859G>C und c.835-44A>G) routinemäßig in jedem diagnostischen Kontext (im Zusammenhang mit oder ohne Neugeborenen-Screening) getestet und gemeldet werden sollten, obwohl es nicht genug Daten gibt, um Behandlungsentscheidungen basierend auf diesen Varianten zu treffen. Darüber hinaus wurde festgestellt, dass die klinischen Folgen von *SMN1/SMN2* Strukturvarianten (sogenannte Hybridgene) noch unklar sind und weitere Studien mit NGS-Techniken sowie eine Datenbank zur klinischen Entwicklung erfordern.

Eine der Sitzungen des Workshops konzentrierte sich auf das Neugeborenen-Screening. Alle Teilnehmer waren sich einig, dass ein klarer Arbeitsablauf für die Diagnose und Behandlung von Säuglingen, die durch Neugeborenen-Screening identifiziert wurden, mit einem optimierten Kommunikationsprozess etabliert werden muss. Dies sollte auch die Anwesenheit eines neuromuskulären Experten beim ersten Treffen mit der Familie beinhalten, um umfassendere Informationen bereitzustellen und eine genaue klinische Beurteilung des Kindes vorzunehmen. Ein spezialisiertes Referenzzentrum, das den Bestätigungstest und die Bewertung prognostischer Marker durchführt, wird dringend empfohlen. Auch die Notwendigkeit einer möglichst zeitnahen Diagnose und Patientenversorgung wurde betont: Die Arbeitsgruppe schlägt vor, eine Empfehlung für die Bearbeitungszeit des Erstgesprächs mit der Familie, des genetischen Bestätigungstests und des Behandlungsbeginns zu erarbeiten. Ein weiterer entscheidender Punkt ist der von präsymptomatischen Personen mit vier *SMN2*-Genkopien, für die manchmal die „wait-and-watch“-Strategie angewendet wird: Das Hauptanliegen bei dieser Strategie betrifft das Risiko einer frühen Manifestation der Krankheit bei diesen Personen, die in der frühen Kindheit auftreten und das therapeutische Ergebnis verschlechtern können. Aus diesem Grund wurde darauf hingewiesen, dass aus biologisch/physiopathologischer Sicht eine frühzeitige Behandlung von Personen mit vier *SMN2*-Genkopien ratsam ist und die Notwendigkeit besteht, weitere klinische Daten dieser Personen zu erheben, um die Therapiegenehmigung bei den Aufsichtsbehörden zu erhalten.

In Bezug auf das Management und die Behandlung von symptomatischen Personen wurde mit Besorgnis festgestellt, dass die Anzahl der *SMN2*-Genkopien manchmal als regulatorisches Kriterium verwendet wurde, das den Zugang zu SMA-Therapien in bestimmten Regionen bestimmt, und es wurde vereinbart, dass die Behandlungsentscheidung unabhängig von den *SMN2*-Genkopien sein sollte. Auch hier wurde vorgeschlagen, eine empfohlene Bearbeitungszeit für einen genetischen Bestätigungstest (konfiguriert als echte medizinische Dringlichkeit) zu definieren, um zu vermeiden, wertvolle Zeit für die Einleitung der Behandlung zu verschwenden.

Schließlich fehlt es den bisher verfügbaren Biomarkern an Reproduzierbarkeit und Längsschnittdaten; Sie sind daher nicht geeignet, das Ansprechen auf die Behandlung und die Prognose von Patienten (insbesondere bei präsymptomatischen Personen) vorherzusagen und zu überwachen. Aus diesem Grund regt die Arbeitsgruppe zukünftige internationale Verbundstudien an, die dazu beitragen

können, die Gültigkeit der jetzt verfügbaren Biomarkerkandidaten zu definieren und neue zu bewerten.

Als konkrete Ergebnisse dieses Workshops vereinbarten die Teilnehmer, ein Standardverfahren für die Bestimmung der Anzahl der *SMN2*-Genkopien und einen spezifischen Arbeitsablauf für die Diagnose und Behandlung von SMA-Patienten festzulegen, die beim Neugeborenen-Screening identifiziert wurden, sowie gemeinsame Anstrengungen zur Gründung eines europäischen Netzwerks, um Diskrepanzen zwischen Expertenzentren zu beseitigen. Diese Bemühungen werden im Laufe des Jahres 2023 fortgesetzt.

Ein vollständiger Bericht wird in *Neuromuscular Disorders* veröffentlicht.