

Incontro informativo GoFAR

Milano, 13 Dicembre 2008

Riassunto delle presentazioni medico - scientifiche

1. Terapia per l'Atassia di Friedreich: inibitori della deacetilasi degli istoni (HDACi)

Dott.ssa **Myriam Ray**

Lab of Experimental Neurology, Erasme Hospital - Brussels

L'atassia di Friedreich e' una malattia neurodegenerativa genetica causata da un'espansione delle triplette GAA nel primo introne del gene FXN che codifica per la proteina mitocondriale denominata fratassina.

Lunghe ripetizioni GAA nel primo introne del gene negli individui affetti provocano la sua soppressione e conseguentemente la perdita dell' RNA a causa di una struttura abnorme della cromatina che trasformata in eterocromatina (nei soggetti sani è presente invece l' eucromatina) impedisce l' espressione della fratassina.

Partendo dal fatto che alcune sostanze che si chiamano *Inibitori della deacetilasi degli istoni* (HDACi) sono in grado di trasformare l'eterocromatina in eucromatina, nel laboratorio di Joel Gottesfeld a San Diego (USA), è stato sintetizzato un gruppo di nuovi inibitori che sono stati testati sulle cellule dei pazienti. Dopo il trattamento con uno di questi inibitori, il livello di fratassina ha raggiunto e superato quello del portatore sano.

Nel laboratorio di Bruxelles è stata testata questa sostanza sui topi Friedreich (KIKI) che sono stati paragonati ai topi di controllo sani. L'inibitore della deacetilasi degli istoni è stato iniettato nei topi KIKI ed è stata misurata la fratassina dopo l'iniezione. Il livello dell'RNA dopo l'iniezione è risultato uguale a quello dei topi sani.

A seguito di questi promettenti risultati preliminari, l'industria biofarmaceutica Repligen Corporation di Waltham, MA (USA), ha acquistato il brevetto per lo sviluppo degli inibitori della deacetilasi degli istoni e attualmente li sta perfezionando per arrivare ad un possibile loro impiego per la cura dell'Atassia di Friedreich.

Nel laboratorio di Bruxelles, le sostanze create dalla Repligen sono state testate nei linfociti dei pazienti e si è constatato che fanno aumentare la fratassina.

Conclusioni e Prospettive

- Gli inibitori della deacetilasi degli istoni aumentano la fratassina nei linfociti dei pazienti in vitro e nei topi transgenici offrendo un approccio terapeutico per l'Atassia di Friedreich
- Attualmente la Dott.ssa Myriam Ray sta testando nei linfociti dei pazienti e nei topi Friedreich le diverse sostanze prodotte dalla Repligen per determinare la dose minima efficace, la durata del loro effetto e l'eventuale influenza sull'espressione di altri geni

2. PPAR-g agonisti come trattamento per l'Atassia di Friedreich.

Dott. **Daniele Marmolino**

Laboratorio di Neurologia Sperimentale "Prof. Pandolfo" Università Libera di Bruxelles (ULB)

E' stata presentata una anteprima dello studio condotto dal Dott. Daniele Marmolino nel quale sono stati indagati gli effetti di un composto chimico (APAF) in uso in laboratorio che è un potente agonista PPAR-gamma, su culture cellulari di fibroblasti di pazienti FRDA. I risultati ottenuti mostrano che trattando i fibroblasti FRDA e un modello di cellule neuronali (SKNBE) di controllo con due dosi crescenti di APAF si riesce ad aumentare la quantità di fratassina nella cellula al 45%, vale a dire vicini a quelli di un portatore sano.

Inoltre lo studio ha mostrato che nei pazienti FRDA risultano ridotti anche i livelli di un'altra proteina (PGC1alpha) molto importante per le funzioni mitocondriali e per l'attivazione delle difese cellulari che seguono allo stress ossidativo. Tale proteina è stata trovata essere presente in quantità ridotta sia nei linfociti e fibroblasti dei pazienti FRDA che nelle cellule provenienti dai modelli animali che mimano la malattia (topi con espansione GAA, KIKO e KIKI).

Questi dati suggeriscono un ruolo critico di questa proteina nello sviluppo della malattia e di alcuni sintomi clinici tra cui il diabete, aprendo una nuova prospettiva terapeutica.

In conclusione si può ipotizzare che farmaci quali il Pioglitazone e il Rosiglitazone, ben conosciuti e già utilizzati nella clinica per il trattamento del diabete mellito (diabete tipo 2) appartenenti alla classe degli agonisti del recettore PPAR-gamma come la molecola APAF di laboratorio utilizzata, possano essere considerati potenziali candidati per la terapia dell'Atassia di Friedreich.

E' appena iniziato uno studio su modelli animali (topo KIKO), in accordo con la società farmaceutica TAKEDA che produce il Pioglitazone il cui protocollo prevede la somministrazione di Pioglitazone per 4 settimane alla dose di 25 mg/kg al giorno per via orale. Lo studio utilizzerà 10 topi di controllo (sani) e 10 topi KIKO trattati con Pioglitazone o con placebo. Dati preliminari su un piccolo gruppo di topi KIKO non hanno mostrato effetti tossici durante il trattamento

3. La sperimentazione clinica in Italia

Prof. **Antonio Piga**

Centro Microcitemie-Pediatria, Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche
Facoltà di Medicina S. Luigi, Università di Torino
Ospedale S. Luigi Gonzaga, Orbassano, Torino

E' stata fatta un'overview dell'attività del Centro Microcitemie-Pediatria dell'Università di Torino, riferimento regionale per la diagnosi, la cura e la prevenzione delle talassemie ed emoglobinopatie. L'attività del Centro si rivolge inoltre a pazienti con vari disordini del metabolismo del ferro; la disponibilità presso il Centro di apparecchiature molto sofisticate per la quantificazione non invasiva del ferro corporeo come il biosuscettometro SQUID, unico in Italia, la Risonanza Magnetica per la valutazione del ferro cardiaco e l'elastometria epatica ad ultrasuoni (Fibroscan) hanno portato ad un significativo miglioramento nella diagnosi e terapia di tali patologie.

Il Prof Piga ha poi illustrato lo stato dell'arte della terapia ferrochelante: sono stati presentati i 3 farmaci disponibili attualmente (deferoxamina, deferiprone, deferasirox) che sono stati confrontati in termini di efficacia, sicurezza ed applicabilità nelle diverse patologie con accumulo di ferro. In particolare l'esposizione ha riguardato il deferiprone che, grazie alle sue caratteristiche fisico-chimiche, è risultato in grado di penetrare le cellule del sistema nervoso centrale e rimuovere il ferro in eccesso in diverse malattie neurologiche.

La relazione si è poi focalizzata sul razionale scientifico dell'utilizzo del deferiprone in pazienti con atassia di Friedreich (FRDA); sono stati illustrati i risultati dello studio francese pubblicato su una prestigiosa rivista di ematologia che ha riguardato un gruppo di 15 pazienti con FRDA che hanno assunto deferiprone per 6 mesi. I risultati di tale studio sono stati incoraggianti anche se la tipologia di questo studio, che non prevedeva il confronto in cieco con un gruppo di controllo, non ha permesso di provare in maniera conclusiva l'efficacia del farmaco. Sulla base di tali interessanti premesse, il Centro Microcitemie ha disegnato uno studio di tipo non controllato sull'utilizzo del deferiprone in pazienti con FRDA. Lo studio ha riguardato 17 pazienti di età compresa tra 10 e 35 anni che hanno assunto deferiprone alla dose di 20-30 mg/kg/die per 18 mesi. I pazienti hanno eseguito una valutazione clinico-laboratoristica-strumentale prima di entrare nello studio volta ad escludere la presenza di fattori di rischio di accumulo di ferro legati a cause indipendenti dalla FRDA (emocromatosi genetica, situazioni acquisite comportanti aumentato assorbimento intestinale di ferro, ecc.). Per tutta la durata del trattamento, i pazienti hanno eseguito il controllo settimanale dell'emocromo per il monitoraggio della neutropenia/agranulocitosi che, seppur evento raro, può portare a gravi conseguenze se non rilevata e trattata tempestivamente. Il tempo medio di osservazione è stato di circa 16 mesi. Su oltre 1100 controlli settimanali dell'emocromo, si sono verificate neutropenie lievi in 5 pazienti, alcune ripetute nel tempo ma sempre asintomatiche e prontamente regredite con la sospensione temporanea del farmaco. Solo in un paziente l'abbassamento dei neutrofili ha raggiunto il livello di agranulocitosi che non ha avuto complicanze cliniche e si è risolto senza terapia specifica. I livelli medi di emoglobina hanno mostrato nel tempo una lieve riduzione che, in alcuni pazienti è stata più marcata anche se la valutazione dell'entità delle scorte di ferro epatico valutata tramite biosuscettometria magnetica SQUID si è mantenuta mediamente entro i range di normalità. La valutazione clinico-neurologica eseguita con frequenza trimestrale ha rilevato miglioramenti di grado variabile in 13 sui 15 che hanno completato l'anno di terapia con deferiprone. Nei 2 pazienti rimanenti si è assistito, invece ad un lieve peggioramento della situazione neurologica. Il confronto dei risultati clinici con quanto percepito dal paziente e/o segnalato dai familiari ha, in alcuni casi, evidenziato piccole discordanze sia in senso positivo che negativo. Ancora una volta, dunque, si è sottolineato il grosso limite degli studi osservazionali come quello appena illustrato che, non disponendo di un gruppo di pazienti-controllo da valutare in cieco, non possono fornire risultati conclusivi in merito all'efficacia del farmaco a causa della presenza di fattori confondenti (mancanza di un marker di efficacia specifico, aspettativa del paziente, dei genitori e dei curanti, effetto placebo, ecc.)

E' stato dunque annunciato l'inizio dello studio randomizzato controllato in doppio cieco per la valutazione della tollerabilità ed efficacia del deferiprone su pazienti con FRDA presso l'Istituto Besta di Milano che potrà, invece, fornire risultati conclusivi.

L'ultima parte della relazione ha preso in considerazione i possibili sviluppi terapeutici futuri quali gli inibitori dell'HDAC ed il Pioglitazone (illustrati in dettaglio nelle precedenti relazioni) ma anche il razionale dell'uso dell'eritropoietina e di eventuali combinazioni di farmaci.