

Progetto per Assegno di Ricerca

Titolo: “Storia naturale e gestione clinica delle neuropatie ottiche ereditarie.”

Introduzione

Le neuropatie ottiche ereditarie (NOE) sono un gruppo di malattie rare che colpiscono il nervo ottico, causate da mutazioni a carico di geni nucleari e/o mitocondriali con impatto sulla funzionalità mitocondriale^{1,2}.

Ad oggi, le due più frequenti NOE non-sindromiche sono la neuropatia ottica ereditaria di Leber (LHON) e l'atrofia ottica dominante (DOA), entrambe con una prevalenza di 1 su 30.000 – 65.000 a seconda dei diversi studi e paesi¹⁻³. LHON e DOA sono caratterizzate dalla perdita delle cellule ganglionari della retina, uno specifico tipo di neuroni da cui origina il nervo ottico, che si traduce clinicamente in una perdita della visione, rapida nel caso della LHON e lentamente progressiva nel caso della DOA, che esita in ipovisione o cecità permanente^{1,2}.

La LHON è una malattia a trasmissione matrilineare, che colpisce tipicamente giovani adulti maschi con età d'esordio media tra i 18 e i 35 anni, ma possono esserne colpiti anche i bambini, le donne e i pazienti di età superiore ai 60 anni^{1,2}. Nel 90% dei casi, la LHON è dovuta a una mutazione a carico di uno dei tre geni del DNA mitocondriale (11778/ND4, 3460/ND1, 14484/ND6) codificanti le subunità del complesso I della catena respiratoria mitocondriale^{1,2,4,5}. Clinicamente, questa malattia è caratterizzata da perdita indolore, rapida e grave dell'acuità visiva e della visione dei colori, associata a scotoma centrale/centrocecale, inizialmente in un occhio, seguita dal coinvolgimento del secondo occhio nell'arco di settimane o pochi mesi^{6,7}.

La maggior parte dei pazienti LHON progredisce verso un deficit visivo simmetrico, bilaterale, che rientra nella definizione legale di cecità, entro un anno dall'esordio di malattia, mentre solo una minoranza di essi manifesta un recupero visivo spontaneo, spesso da correlare con il tipo di mutazione riscontrata nel paziente e con l'età di insorgenza della malattia^{1,2,8}.

La DOA, diversamente dalla LHON, esordisce prima dei 10 anni, anche se i tipici sintomi visivi (deterioramento bilaterale dell'acuità visiva, discromatopsia, scotoma centrale, pallore del nervo ottico) possono comparire più tardi e la sua progressione è lenta^{1,2}. La DOA si trasmette con modalità autosomica dominante ed è causata nel 60-70% dei casi da mutazioni nel gene nucleare OPA1, mentre la restante percentuale può essere associata a mutazioni a carico di altri geni più rari^{1,2,4}.

Entrambe le patologie mostrano una penetranza incompleta e possono avere diversi livelli di gravità anche all'interno della stessa famiglia. In particolare, nella LHON i portatori di mutazione hanno una probabilità di ammalarsi che è stimata attorno al 50% nei maschi e al 10% nelle femmine^{4,5}. Sebbene rimanga sconosciuto il meccanismo che determina la variabile espressione fenotipica di malattia, diversi fattori anatomici, ormonali, genetici, ambientali, abitudini di vita e le complesse interazioni tra tutti questi stessi fattori sono stati chiamati in causa^{1,2,8-11}.

Ad oggi, sono disponibili una serie di test genetici per confermare la presenza di mutazioni patogenetiche responsabili di alcune di queste patologie (LHON/DOA). Tuttavia, esistono altre cause genetiche più rare, attualmente investigabili mediante metodiche di *Next Generation Sequencing*, associate a fenotipi clinicamente indistinguibili da LHON e DOA¹²⁻¹⁵. La maggior parte dei geni attualmente noti come causativi di NOE determinano una disfunzione mitocondriale secondaria¹⁶. Tuttavia, numerosi pazienti affetti da neuropatie ottiche mitocondriali rimangono senza una

diagnosi genetica (circa il 60%) e la lista di geni associati a forme di NOE, sindromiche e non, è in costante aumento¹⁷⁻²¹.

Il percorso clinico-assistenziale dei pazienti NOE include, oltre alle indagini genetiche, l'esecuzione dell'esame obiettivo neurologico, dell'esame oftalmologico con valutazione dell'acuità visiva e della visione dei colori, l'analisi dei campi visivi computerizzati e del fondo oculare, l'OCT (tomografia ottica computerizzata) e l'angio-OCT^{1,2,8,22}. Nei casi di coinvolgimento extra-oculare, i cosiddetti fenotipi LHON/DOA "*plus*", vengono eseguiti ulteriori esami di approfondimento, tra i quali risonanza magnetica (RMN) dell'encefalo con eventuale spettroscopia del protone, elettroencefalogramma (EEG), curva dell'acido lattico da sforzo, elettromiografia (EMG), audiometria, test visivi neurofisiologici, biopsia muscolare e cutanea^{1,2,8,22}.

Al momento non esistono terapie approvate per le NOE²³⁻²⁵, ad eccezione dell'idebenone, che nel 2015 è stato approvato come terapia per la LHON in virtù della sua attività antiossidante e della capacità di bypassare il difetto del complesso I della catena respiratoria mitocondriale^{8,26}. L'ambulatorio di Neuroftalmologia dell'IRCCS ISNB (Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna, UOC Clinica Neurologica, Ospedale Bellaria, Bologna) è coinvolto in trials clinici internazionali di terapia genica per la LHON i cui risultati sono stati recentemente pubblicati (iniezione intravitreale di un vettore virale adeno-associato di tipo 2 (AAV2) contenente una copia funzionale del gene ND4)²⁶⁻²⁸. È attualmente in corso di valutazione da parte del Comitato Etico locale il possibile uso compassionevole di tale opzione terapeutica in pazienti LHON in fase subacuta/dinamica di malattia.

Dati preliminari suggeriscono, infine, il possibile beneficio dell'idebenone anche nella DOA, ma necessitano della conferma da parte di studi controllati inclusivi di casistiche più ampie di pazienti^{29,30}.

Scopo della ricerca

Questo studio nasce dall'esigenza di definire in una casistica ampia l'inquadramento clinico, il follow-up longitudinale e la gestione terapeutica dei pazienti NOE afferenti all'ambulatorio di neuroftalmologia presso l'IRCCS ISNB. La mancanza di una raccolta completa e sistematica dei dati clinici, genetici e funzionali nel tempo limita le attuali conoscenze sulla patogenesi e sulla storia naturale delle NOE con conseguenti implicazioni sulle scelte terapeutiche.

L'assegnista svolgerà la sua attività di ricerca nell'Ambulatorio di Neuroftalmologia dell'IRCCS ISNB che comprenderà sia la visita neuro-oftalmologica completa che gli esami strumentali per lo studio anatomo-funzionale delle cellule ganglionari retiniche (OCT e campo visivo) che verranno inoltre correlati con i dati genetici e biochimici. Verrà valutata la storia naturale dei pazienti affetti da NOE con controlli longitudinali oltre che la risposta alla terapia, per le necessarie stratificazioni.

Obiettivi primari

Obiettivo primario dello studio è di caratterizzare, nei soggetti con diagnosi clinica di NOE, la storia naturale della malattia, analizzando i fattori protettivi e/o di rischio in grado di influenzare la prognosi e l'efficacia delle attuali terapie disponibili.

Obiettivi secondari

Obiettivi secondari dello studio sono:

- valutare l'efficacia delle attuali terapie mediche nel modificare la storia clinica delle NOE sia utilizzate singolarmente sia sinergicamente combinate tra loro.
- caratterizzare il fenotipo visivo nei pazienti adulti e minorenni affetti da LHON.
- valutare l'influenza di fattori clinici, genetici (mutazione, aplogruppo), sociodemografici, ambientali, dello stile di vita (sport, alcol, fumo, terapie concomitanti) e del genere sull'espressione fenotipica di malattia in soggetti con diagnosi clinica di NOE (LHON, DOA, forme rare di NOE con diagnosi clinica e negatività allo screening genetico).
- indagare e caratterizzare le manifestazioni extra-oculari (fenotipo "*plus*") nei pazienti affetti da NOE.

Piano formativo dell'assegnista

In relazione al progetto di ricerca il piano di formazione permetterà all'assegnista di acquisire conoscenze cliniche e scientifiche in un ambito multidisciplinare che comprende la genetica, l'epidemiologia, la Neurologia e l'Oftalmologia.

Specificamente il piano di formazione prevede che il candidato acquisisca esperienze riguardanti principalmente:

- la caratterizzazione clinica e neuroftalmologica di pazienti con NOE
- l'utilizzo di metodiche di analisi delle cellule ganglionari retiniche come l'OCT e il campo visivo applicate allo studio di patologie ereditarie
- valutazione longitudinale dell'efficacia di terapie per le neuropatie ottiche ereditarie

REFERENZE

1. Carelli, V., Ross-Cisneros, F.N. & Sadun, A.A. Mitochondrial dysfunction as a cause of optic neuropathies. *Prog Retin Eye Res* **23**, 53-89 (2004).
2. Yu-Wai-Man, P., Griffiths, P.G. & Chinnery, P.F. Mitochondrial optic neuropathies - disease mechanisms and therapeutic strategies. *Prog Retin Eye Res* **30**, 81-114 (2011).
3. Rosenberg, T. *et al.* Prevalence and Genetics of Leber Hereditary Optic Neuropathy in the Danish Population. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **57**, 1370-5 (2016).
4. Maresca, A. *et al.* Genetic Basis of Mitochondrial Optic Neuropathies. *Curr Mol Med* **14**, 985-992 (2014).
5. Caporali, L. *et al.* Incomplete penetrance in mitochondrial optic neuropathies. *Mitochondrion* **36**, 130-137 (2017).
6. Barboni, P. *et al.* Retinal nerve fiber layer evaluation by optical coherence tomography in Leber's hereditary optic neuropathy. *Ophthalmology* **112**, 120-6 (2005).
7. Barboni, P. *et al.* Natural history of Leber's hereditary optic neuropathy: longitudinal analysis of the retinal nerve fiber layer by optical coherence tomography. *Ophthalmology* **117**, 623-7 (2010).
8. Carelli, V. *et al.* International Consensus Statement on the Clinical and Therapeutic Management of Leber Hereditary Optic Neuropathy. *J Neuroophthalmol* **37**, 371-381 (2017).
9. Giordano, C. *et al.* Oestrogens ameliorate mitochondrial dysfunction in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* **134**, 220-34 (2011).
10. Giordano, C. *et al.* Efficient mitochondrial biogenesis drives incomplete penetrance in Leber's hereditary optic neuropathy. *Brain* **137**, 335-53 (2014).
11. Giordano, L. *et al.* Cigarette toxicity triggers Leber's hereditary optic neuropathy by affecting mtDNA copy number, oxidative phosphorylation and ROS detoxification pathways. *Cell Death Dis* **6**, e2021 (2015).
12. Allen, K.F., Gaier, E.D. & Wiggs, J.L. Genetics of Primary Inherited Disorders of the Optic Nerve: Clinical Applications. *Cold Spring Harb Perspect Med* **5**, a017277 (2015).
13. Caporali, L. *et al.* Peculiar combinations of individually non-pathogenic missense mitochondrial DNA variants cause low penetrance Leber's hereditary optic neuropathy. *PLoS Genet* **14**, e1007210 (2018).
14. Finsterer, J., Mancuso, M., Pareyson, D., Burgunder, J.M. & Klopstock, T. Mitochondrial disorders of the retinal ganglion cells and the optic nerve. *Mitochondrion* **42**, 1-10 (2018).
15. Ferrè, M. *et al.* Molecular screening of 980 cases of suspected hereditary optic neuropathy with a report on 77 novel OPA1 mutations. *Hum Mutat* **30**, E692-705 (2009).
16. Yu-Wai-Man, P. *et al.* A neurodegenerative perspective on mitochondrial optic neuropathies. *Acta Neuropathol* **132**, 789-806 (2016).
17. Barbet, F. *et al.* A first locus for isolated autosomal recessive optic atrophy (ROA1) maps to chromosome 8q. *Eur J Hum Genet* **11**, 966-71 (2003).
18. Hanein, S. *et al.* TMEM126A, encoding a mitochondrial protein, is mutated in autosomal-recessive nonsyndromic optic atrophy. *Am J Hum Genet* **84**, 493-8 (2009).

19. Metodiev, M.D. *et al.* Mutations in the tricarboxylic acid cycle enzyme, aconitase 2, cause either isolated or syndromic optic neuropathy with encephalopathy and cerebellar atrophy. *J Med Genet* **51**, 834-8 (2014).
20. Tucci, A. *et al.* Novel C12orf65 mutations in patients with axonal neuropathy and optic atrophy. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* **85**, 486-92 (2014).
21. Reynier, P. *et al.* OPA3 gene mutations responsible for autosomal dominant optic atrophy and cataract. *J Med Genet* **41**, e110 (2004).
22. La Morgia, C., *et al.* Medical management of hereditary optic neuropathies. *Front Neurol* **5**, 141 (2014).
23. Sadun, A.A., La Morgia, C. & Carelli, V. Mitochondrial optic neuropathies: our travels from bench to bedside and back again. *Clin Exp Ophthalmol* **41**, 702-12 (2013).
24. Carelli, V., *et al.* Optic neuropathies: the tip of the neurodegeneration iceberg. *Hum Mol Genet* **26**, R139-R150 (2017).
25. Del Dotto, V. *et al.* OPA1: How much do we know to approach therapy? *Pharmacol Res* **131**, 199-210 (2018).
26. Amore G., *et al.* Therapeutic Options in Hereditary Optic Neuropathies. *Drugs* **81**, 57-86 (2021)
27. Yu-Wai-Man, *et al.* Bilateral visual improvement with unilateral gene therapy injection for Leber hereditary optic neuropathy. *Sci Transl Med* **12**, eaaz7423 (2020).
28. Newman NJ., *et al.* Efficacy and Safety of Intravitreal Gene Therapy for Leber Hereditary Optic Neuropathy Treated within 6 Months of Disease Onset. *Ophthalmology* **S0161-6420**, 31187-8 (2021).
29. Barboni, P. *et al.* Idebenone treatment in patients with OPA1-mutant dominant optic atrophy. *Brain* **136**, e231 (2013).
30. Romagnoli, M., *et al.* Idebenone increases chance of stabilization/recovery of visual acuity in OPA1-dominant optic atrophy. *Ann Clin Transl Neurol* **7**, 590-594 (2020).