

Poster P.11.95

POMPE DISEASE, NEW APPROACHES TO ADDRESS UNMET NEEDS

Parenti G.*^[1], Tarallo A.^[1], Damiano C.^[1], Minopoli N.^[1], Strollo S.^[1], Gragnaniello V.^[2], Fecarotta S.^[2], Gatto F.^[1]

^[1]Telethon Institute of Genetics and Medicine ~ Pozzuoli ~ Italy, ^[2]Department of Translational Medical Sciences, Federico II University ~ Napoli ~ Italy

Pompe disease (PD) is a severe and progressive myopathy caused by mutations of the GAA gene and acid alpha-glucosidase (GAA) deficiency. PD is highly debilitating and impacts heavily on patients' health. Currently, the only treatment for PD is enzyme replacement therapy (ERT) with recombinant GAA (rhGAA). However, ERT shows limited efficacy in some patients and in critical target tissues, leaving major medical needs unmet. In our research programs we have addressed some of these needs. Specifically:

- need for improved knowledge of PD pathophysiology. Glycogen storage and impairment of autophagy are responsible for secondary abnormalities of cellular pathways that need further characterization. We studied oxidative stress as a consequence of impaired autophagy. We showed increased oxidative stress in PD patient cultured cells and in the animal model of the disease. Increased oxidative stress affects the uptake and processing of rhGAA and impacts on the efficacy of ERT. The characterization of secondary abnormalities of cellular pathways is particularly important since these pathways may represent novel therapeutic targets.

- need for reliable, measurable and objective disease markers. The availability of markers to monitor disease course and effects of treatment (including future novel therapies) is a challenging issue in the management and care of PD patients. Current clinical tests are often non-specific and are influenced by inter and intra-investigator variance. We identified circulating microRNAs (miR-133a, miR-1, miR-106), as quantitative and measurable biomarkers, significantly correlating with patient phenotype and with the effects of ERT [Tarallo et al, 2019].

- need for novel and more efficacious therapies and identification of novel therapeutic targets. We have conducted studies based on different approaches. First, we studied pharmacological chaperone therapy in PD, either alone, or in combination with ERT [Parenti et al, 2015]. This approach was translated into the first clinical trial based on this approach in a lysosomal disease. The combination of a chaperone and ERT resulted in highly and significantly increased exposure to the therapeutic enzyme in PD patients [Parenti et al, 2014]. We are currently evaluating the use of new, allosteric, non-inhibitory chaperones for GAA [Porto et al, 2012; Roig-Zamboni et al, 2017].

We also evaluated the possibility of manipulating pathways that are secondarily dysregulated in PD as a therapeutic strategy. We studied modulation of autophagy by TFEB overexpression. AAV- TFEB gene therapy improved muscle pathology, autophagy markers, and functional performance in PD mice [Gatto et al, 2017]. These results support the idea that progress in the treatment of PD, and possibly of other lysosomal diseases, should not only be based on the development of more effective therapeutic agents, but should also be directed towards correction of secondary abnormalities in recipient cells and tissues.

La malattia di Pompe, nuovi approcci per le problematiche irrisolte associate alla malattia

La malattia di Pompe è una grave miopatia progressiva causata da mutazioni del gene GAA e deficit di alfa-glucosidasi acida (GAA). Nonostante sia disponibile un trattamento per questa malattia, la

terapia sostitutiva enzimatica (ERT) con GAA ricombinante (rhGAA), questa terapia non ha risolto tutti i problemi dei pazienti ed ha lasciato alcune problematiche ancora aperte ed irrisolte. Nei nostri programmi di ricerca abbiamo affrontato alcune di queste problematiche. In particolare:

- necessità di una migliore conoscenza dei meccanismi patogenetici alla base della malattia di Pompe. L'accumulo di glicogeno e la compromissione dell'autofagia sono ormai ben caratterizzati. L'alterazione di questi processi può però innescare ulteriori anomalie secondarie di altre funzioni cellulari. Una potenziale conseguenza della disfunzione dell'autofagia è un aumento dello stress ossidativo. In effetti abbiamo dimostrato l'aumento dello stress ossidativo nella malattia ed abbiamo osservato che questa alterazione può avere conseguenze negative sulla efficacia della ERT. La accurata caratterizzazione delle anomalie secondarie delle funzioni cellulari è particolarmente importante poiché queste vie possono rappresentare nuovi bersagli terapeutici.

- necessità di marcatori di malattie affidabili, misurabili e oggettivi. La disponibilità di strumenti per monitorare il decorso della malattia e gli effetti del trattamento (comprese eventuali future nuove terapie) è un aspetto di grande importanza nella gestione e nella cura dei pazienti con malattia di Pompe. Gli attuali test clinici sono spesso aspecifici e sono influenzati dalla esperienza dei medici che li utilizzano. Abbiamo identificato i microRNA circolanti, piccoli RNA non codificanti, come marcatori affidabili dello stato dei pazienti e degli effetti della terapia.

- necessità di nuove e più efficaci terapie e identificazione di nuovi target terapeutici. Abbiamo condotto studi basati su approcci diversi. Innanzitutto, abbiamo studiato la terapia con i cosiddetti farmaci "chaperone", sia da soli che in combinazione con la ERT. Gli studi in laboratorio sono stati tradotti nella prima sperimentazione clinica basata su questo approccio in una malattia lisosomiale e sono ora in fase di ulteriore sviluppo per rendere questa terapia disponibile ai pazienti. Stiamo attualmente valutando l'uso di nuovi farmaci "chaperone" identificati nel nostro laboratorio.

Abbiamo inoltre valutato la possibilità di manipolare sistemi cellulari secondariamente disregolati nella malattia di Pompe come strategia terapeutica aggiuntiva. Abbiamo studiato la modulazione dell'autofagia mediante sovraespressione del gene TFEB, che è un gene regolatore dell'autofagia. Questi studi sono stati condotti finora in laboratorio ed hanno mostrato un effetto positivo delle sovraespressione di TFEB.

Tarallo A, Carissimo A, Gatto F, Nusco E, Toscano A, Musumeci O, Coletta M, Karali M, Acampora E, Damiano C, Minopoli N, Fecarotta S, Della Casa R, Mongini T, Vercelli L, Santoro L, Ruggiero L, Deodato F, Taurisano R, Bembi B, Dardis A, Banfi S, Pijnappel WWP, van der Ploeg AT, Parenti G. microRNAs as biomarkers in Pompe disease. *Genet Med.* 2019 Mar;21(3):591-600

Parenti G, Andria G, Valenzano KJ. Pharmacological Chaperone Therapy: Preclinical Development, Clinical Translation, and Prospects for the Treatment of Lysosomal Storage Disorders. *Mol Ther.* 2015 Jul;23(7):1138-1148

Parenti G, Fecarotta S, la Marca G, Rossi B, Ascione S, Donati MA, Morandi LO, Ravaglia S, Pichiecchio A, Ombrone D, Sacchini M, Pasanisi MB, De Filippi P, Danesino C, Della Casa R, Romano A, Mollica C, Rosa M, Agovino T, Nusco E, Porto C, Andria G. A chaperone enhances blood α -glucosidase activity in Pompe disease patients treated with enzyme replacement therapy. *Mol Ther.* 2014 Nov;22(11):2004-12.

Porto C, Ferrara MC, Meli M, Acampora E, Avolio V, Rosa M, Cobucci-Ponzano B, Colombo G, Moracci M, Andria G, Parenti G. Pharmacological enhancement of α -glucosidase by the allosteric chaperone N-acetylcysteine. *Mol Ther.* 2012 Dec;20(12):2201-11

Roig-Zamboni V, Cobucci-Ponzano B, Iacono R, Ferrara MC, Germany S, Bourne Y, Parenti G, Moracci M, Sulzenbacher G. Structure of human lysosomal acid α -glucosidase-a guide for the treatment of Pompe disease. Nat Commun. 2017 Oct 24;8(1):1111

Gatto F, Rossi B, Tarallo A, Polishchuk E, Polishchuk R, Carrella A, Nusco E, Alvino FG, Iacobellis F, De Leonibus E, Auricchio A, Diez-Roux G, Ballabio A, Parenti G. AAV-mediated transcription factor EB (TFEB) gene delivery ameliorates muscle pathology and function in the murine model of Pompe Disease. Sci Rep. 2017 Nov 8;7(1):15089

Malattia di Pompe

Coordinator: Alberto Auricchio

Telethon Project (nr):

TIGEM

Disease Name:

Pompe Disease

Keywords:

Pompe disease, microRNA, autophagy