

Piano Strategico di Ricerca del “Cyfip2 Network”



Questo piano strategico raccoglie le conoscenze, le riflessioni, le idee e le opinioni dei principali stakeholder impegnati nello sviluppo di trattamenti per la Encefalopatia Epilettica dello Sviluppo 65 (DEE65), una condizione causata più frequentemente da varianti patogenetiche dominanti nel gene Cyfip2 insorte de novo. Il documento è pensato per servire da guida al “Cyfip2 Network” e ai suoi componenti in tutto il mondo nel definire le priorità relative al finanziamento e ad altri possibili tipi di supporto alla ricerca, con l’obiettivo di sviluppare soluzioni per i pazienti affetti da DEE65.

Sommario

| | |
|--|----|
| Sfondo | 5 |
| Descrizione della Patologia | 10 |
| Panorama della ricerca | 16 |
| Casi Clinici | 19 |
| Biochimica di Cyfip2 | 23 |
| Strumenti di ricerca su Cyfip2 | 27 |
| Sviluppo di terapie | 41 |
| Riposizionamento farmacologico | 43 |
| Oligonucleotidi antisenso allele-selettivi | 47 |
| Trattamenti in fase di studio per tutte le DEE | 52 |
| Studi clinici per le DEE | 55 |
| Conclusioni | 59 |
| Glossary | 60 |
| Cronologia dell Ricerca su Cyfip2 | 66 |
| Riferimenti Bibliografici | 91 |



Honzik, Repubblica Ceca





Il "Cyfip2 Network" è stato creato nel 2023 per aumentare la consapevolezza, sostenere i bambini e le famiglie colpite da DEE65 e finanziare la ricerca per lo sviluppo di possibili trattamenti. Il "Cyfip2 Network" ha:

- Collaborato con RARE-X per creare un piano di raccolta dati dei pazienti online, facilmente accessibile
- Avviato lo sviluppo di una terapia a base di oligonucleotidi antisenso (ASO) mirata alla variante Arg87Cys del gene Cyfip2
- Ottenuto finanziamenti per generare un modello murino condizionato della variante Arg87Cys del gene Cyfip2
- Riunito ricercatori di tutto il mondo, con background scientifici diversi, per discutere in merito alla ricerca sul gene Cyfip2 in una serie di incontri virtuali.

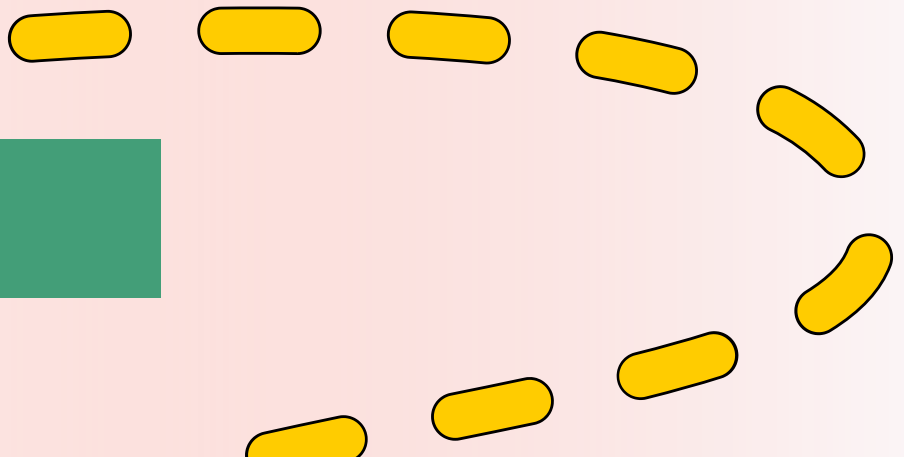
www.cyfip2network.org

Questa mappa della strategia di ricerca presenta il piano dettagliato per sostenere lo sviluppo di trattamenti per la DEE65 mirati alla causa principale della malattia. I colloqui condotti con ricercatori e famiglie dei pazienti hanno suggerito attività orientate allo sviluppo di possibili terapie. Tali attività verranno presentate come potenziali programmi che il "Cyfip2 Network" potrebbe supportare. L'identificazione di una cura per questa malattia non può derivare da un singolo progetto o da un'unica opzione terapeutica.



Eli, Regno Unito

Le priorità strategiche includono anche azioni da parte del "Cyfip2 Network" non strettamente legate alla ricerca, come il supporto alle famiglie attraverso risorse e comunità, e un aumento della consapevolezza circa la DEE65 a livello globale.




Riguardante DEE65

La DEE65 è una rara condizione genetica che provoca crisi epilettiche e impedisce ai bambini di raggiungere tappe fondamentali dello sviluppo, come camminare e parlare. È un tipo di encefalopatia epilettica dello sviluppo (developmental epileptic encephalopathy), una forma grave di epilessia accompagnata da ritardo dello sviluppo ed encefalopatia. Una recente revisione ha rilevato che oltre 900 geni diversi sono associati alle DEE (Poke et al., 2023). La DEE65 è causata da varianti patogenetiche nel gene *Cyfp2*. Non esiste alcun trattamento o cura per questa malattia.



In the Unknown

A woman with short blonde hair, wearing a black t-shirt, is standing behind a young boy with brown hair, wearing a white polo shirt and blue jeans. The boy is using a white and yellow four-wheeled walker. The woman is holding the handles of the walker, assisting the boy. They are in a brightly lit room with large windows in the background. In the foreground, there are several colorful, padded blocks (orange, yellow, green, red) and a blue ball. The floor is covered with a blue patterned rug.

GeneDx is on a mission to shorten and prevent the diagnostic odyssey. By providing clear, accurate, and meaningful genetic information, our comprehensive genetic tests help guide healthcare decisions, fuel the discovery of new genetic causes of disease, and accelerate the development of new therapies.

Since 2015 in the US, GeneDx has identified 27 patients with a pathogenic or likely pathogenic variant in the CYFIP2 gene.

In addition to helping individuals by enabling their genetic diagnosis, each patient tested at GeneDx enables us to more precisely interpret the genetic information of future patients we test—helping even more families find answers.

There is power in numbers. When patients come together, we can do great things.

This number is current as of February 2025 and is subject to change. For example, patients may opt out of data sharing or be part of institutional agreements which prohibits data sharing, new patients may be identified, and variant classifications may evolve.

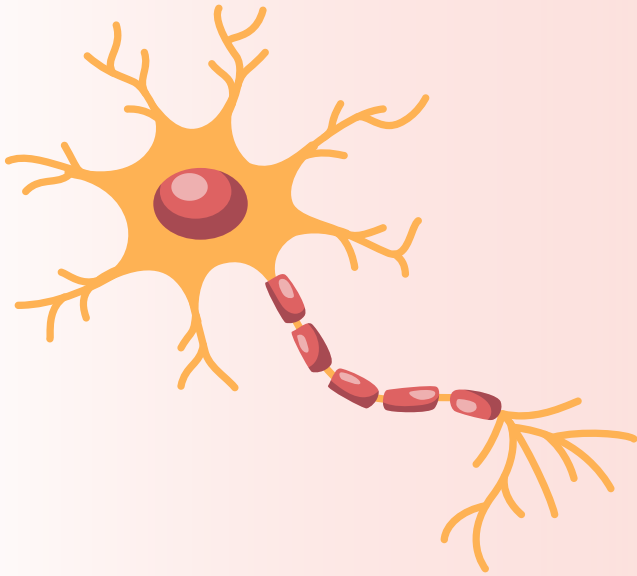
Riguardante Cyfip2

Cyfip2 è l'abbreviazione di Cytoplasmic Fragile X Messenger Ribonucleoprotein 1 Interacting Protein 2. Il gene è stato identificato per la prima volta nel 2001 da ricercatori che studiavano la sindrome dell'X fragile (Schenck et al., 2001). La causa genetica della sindrome dell'X fragile è un gene chiamato FMRP, e la proteina Cyfip2 agisce come partner della FMRP. Tuttavia, trascorsero altri nove anni prima che biochimici che studiavano una proteina chiamata actina chiarissero un ulteriore ruolo di Cyfip2 (Chen et al., 2010). Cyfip2, che si trova principalmente nei neuroni del cervello, controlla il complesso proteico che rimodella il citoscheletro, una rete di "cavi" proteici all'interno della cellula. Quando Cyfip2 non funziona correttamente, questi cavi vengono depositati in punti che causano problemi ai neuroni, compromettendo lo sviluppo e la funzione cerebrale.

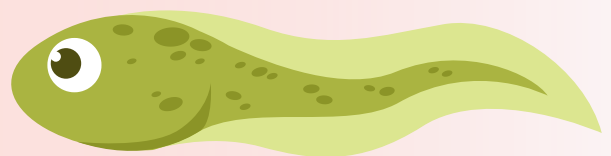
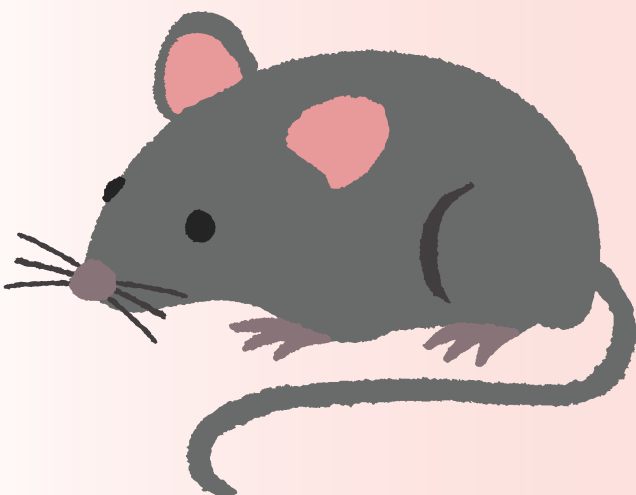
Ad oggi, clinici e scienziati hanno confermato che 26 diverse varianti genetiche di Cyfip2 sono collegate alla DEE65, con altre due varianti sospettate di essere associate alla malattia (Begemann et al., 2021; Zweier et al., 2019; Begemann, dati non pubblicati). Quasi la metà delle varianti si concentra sull'arginina 87, un amminoacido cruciale per il controllo del rimodellamento del citoscheletro. Anche la maggior parte delle altre varianti sembra coinvolta in questo stesso processo di regolazione del citoscheletro. La maggior parte dei pazienti con DEE65 presenta epilessia, ridotto tono muscolare e grave disabilità intellettiva/ritardo dello sviluppo. È in corso uno studio completo di storia naturale su 46 pazienti (Begemann, dati non pubblicati).



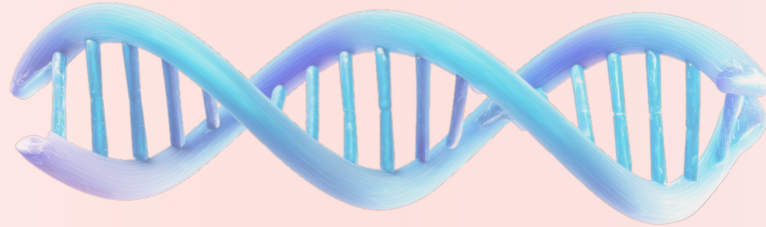
Modelli di Malattia



I modelli di DEE65 utilizzabili per individuare e testare potenziali trattamenti includono: topi e zebrafish con Cyfip2 knockout, un girino in cui l'mRNA Cyfip2 Arg87Cys è stato introdotto temporaneamente, e un topo con una modifica genomica che converte uno dei due alleli Cyfip2 nella variante Arg87Cys. Inoltre, campioni provenienti da pazienti sono stati utilizzati per creare linee cellulari che portano diverse varianti responsabili della malattia.



Trattamenti in Sviluppo



I trattamenti in sviluppo per la DEE65 sono nelle fasi iniziali. Le opzioni terapeutiche includono la rimozione selettiva dell'mRNA patogenetico tramite oligonucleotidi antisenso (ASO), la riproposizione di farmaci già approvati dalla FDA e da altri enti regolatori, e molecole che modulano altri aspetti della via biologica compromessa dalle varianti Cyfip2.

“Studi recenti a livello molecolare, cellulare e sui modelli animali stanno gradualmente chiarendo i meccanismi patologici alla base dei disturbi dello sviluppo neurologico associati a CYFIP2. Tuttavia, esistono ancora significative lacune nello sviluppo di strategie terapeutiche, indicando la necessità di ulteriori progressi e di una collaborazione più stretta tra ricerca clinica e di base.” Ma et al., 2024

Descrizione della Patologia

Attualmente, i pazienti ricevono la diagnosi di DEE65 in base al quadro clinico, che include crisi epilettiche intrattabili con esordio entro i primi sei mesi di vita, ritardo dello sviluppo psicomotorio, microcefalia, dismorfismi facciali e ipotonia. Questo insieme di sintomi viene talvolta chiamato sindrome di Ohtahara o sindrome di West (Scheffer et al., 2025). Poiché questo cluster di sintomi indica una causa genetica, i pazienti sono spesso sottoposti a sequenziamento dell'intero genoma (WGS) o a sequenziamento dell'intero esoma (WES). Con oltre 900 geni diversi che possono potenzialmente portare a una DEE, individuare l'esatta causa genetica per ciascun paziente è un processo meticoloso.



Descrizione della Patologia

Il termine DEE è stato introdotto nel 2017 per differenziare le sindromi epilettiche in cui le crisi sono la causa del ritardo dello sviluppo da quelle in cui il ritardo dello sviluppo è un sintomo della malattia indipendente. Già allora era chiaro che la maggior parte delle sindromi DEE erano causate da varianti genetiche. La forma di DEE più comune è la sindrome di Dravet. Le DEE sono disturbi neurologici complessi e, di conseguenza, sono difficili da diagnosticare. Spesso la diagnosi e l'identificazione della causa genetica non portano a un piano di trattamento efficace, ma poiché alcune sindromi DEE sono trattabili con farmaci, chirurgia o cambiamenti dietetici, è importante stabilire la causa genetica il prima possibile (Samanta et al., 2025).

La DEE65 è un sottogruppo molto raro di DEE. In uno studio epidemiologico condotto in Scozia nel 2021, l'incidenza di DEE era di circa 1 su 1200 bambini nati (Symonds et al., 2021). La DEE più comune, la sindrome di Dravet, costituisce circa il 7,5% dei casi di DEE in quello studio. È molto difficile stimare l'incidenza di una malattia rara come la DEE65. L'ultimo rapporto sulla storia naturale di Anais Begemann in Svizzera identifica 46 pazienti con DEE65 che sono stati riportati in letteratura o identificati direttamente nella pratica clinica della Dott.ssa Begemann. Con l'adozione incompleta dei test genetici a livello mondiale, è probabile che esistano più casi, ma non siano diagnosticati.



Sindrome di West

Sindrome di Ohtahara

or



DEE65



A molte malattie rare vengono attribuiti nomi multipli poiché diversi medici descrivono in modo indipendente quadri sintomatici correlati o, spesso, identici. Queste sindromi sono differenziate l'una dall'altra in base al tipo di crisi, all'età di insorgenza e alla progressione dei sintomi. Nell'era dei test genetici, è emerso un nuovo sistema di denominazione e classificazione, in cui a ciascuna causa genetica della malattia viene assegnato un identificatore univoco, come DEE65 per i pazienti con varianti Cyfip2. Assegnare alla sindrome un nome come West o Ohtahara può dare ai medici un quadro generale dei sintomi del paziente e suggerire regimi terapeutici. Conoscere la precisa causa genetica potrebbe non portare a una maggiore comprensione dei sintomi o a percorsi di trattamento diversi nel breve termine, ma potrebbe suggerire un piano a lungo termine per lo sviluppo di farmaci. Pertanto, possiamo ancora utilizzare il nome di un medico che ha descritto un insieme di sintomi molto prima dell'era della moderna genetica (il Dott. West descrisse la sindrome che porta il suo nome nel 1840) come abbreviazione per una sindrome complessa e variabile.

Segni e sintomi

Tutti i pazienti affetti da DEE65 manifestano disabilità intellettiva e ritardo dello sviluppo. La maggior parte presenta anche epilessia, consistente in diversi tipi di crisi (incluse crisi toniche, miocloniche, tonico-cloniche, assenze e spasmi epilettici) e anomalie nei test di risonanza magnetica (RM) ed elettroencefalogramma (EEG). La maggior parte dei pazienti mostra ipotonia (debolezza muscolare) e circa la metà presenta una dimensione della testa inferiore alla norma per l'età e il peso (microcefalia). Molti pazienti manifestano anche problemi visivi (atrofia ottica, compromissione visiva corticale o strabismo), difficoltà nell'alimentazione e problemi comportamentali simili al disturbo dello spettro autistico (Begemann et al., 2021). In alcuni pazienti è stata riscontrata una carenza del normale complemento di neutrofili nel sangue. Sebbene l'incidenza riportata di questa neutropenia sia bassa, non si tratta di un esame che verrebbe normalmente richiesto in un work-up per un paziente epilettico. È quindi possibile che le varianti Cyfip2 influenzino anche la produzione o la sopravvivenza dei neutrofili e possano, di conseguenza, compromettere la risposta del paziente alle infezioni.



Isabella e la sua famiglia, Brasile

"Riponiamo le nostre speranze nella scienza affinché possa migliorare significativamente la qualità della vita di Isabella, soprattutto per quanto riguarda la sua capacità di comunicare."

- La mamma di Isabella



Opzioni Terapeutiche

Alcuni pazienti con DEE65 sono stati trattati con successo con farmaci anticonvulsivanti, come esaminato in Squire, 2025. Gli autori menzionano l'efficacia dell'acido valproico e della lacosamide, ma i farmaci anticonvulsivanti riportati nei casi clinici variano notevolmente. A volte i caregiver possono assumersi la responsabilità di scegliere un regime di trattamento efficace all'interno di una serie di farmaci e dosaggi forniti dai loro medici. Incoraggiare i clinici a condividere le loro esperienze nel trattamento dei pazienti con DEE65 potrebbe abbreviare il tempo necessario per ottimizzare il trattamento per i pazienti futuri. La ricerca sui topi e le prove aneddotiche sui pazienti sollevano la possibilità che l'attività convulsiva possa attenuarsi alcuni anni dopo la nascita, ma ricomparire più tardi nella vita.

I sintomi non convulsivi della DEE65, come quelli di altre DEE, sono difficili da caratterizzare e hanno poche opzioni di trattamento. I caregiver e i genitori dei pazienti con DEE indicano la comunicazione e la funzione motoria grossolana come le loro principali priorità per i trattamenti (Hecker et al., 2024). I genitori di pazienti con DEE65 hanno espresso che, sebbene le crisi siano l'obiettivo principale delle visite mediche e degli interventi quotidiani, i sintomi non convulsivi, inclusi i problemi di sonno, sono altrettanto se non più preoccupanti.

Panorama della ricerca



La ricerca sulla funzione del Cyfip2 è iniziata nel 1999, quando il gene fu chiamato per la prima volta PIR121 (Saller et al., 1999). È stato solo nel 2018 che i clinici in Giappone hanno collegato quattro casi di DEE a varianti nell'Arginina 87 di Cyfip2 (Nakashima et al., 2018). Sebbene il numero di laboratori che studiano Cyfip2 e DEE65 rimanga esiguo, l'interesse scientifico per diversi aspetti della funzione di Cyfip2 ha portato a progressi significativi nella nostra comprensione delle cause della patologia.

Uno studio per trovare
la ragione per cui due
ceppi di topi correlati
rispondono in modo
diverso alla cocaina

Genitori di un bambino
con encefalopatia
epilettica in cerca di
risposte nella scienza di
laboratorio

Cyfip2 Ricerca

Una ricerca di geni
che controllano la
risposta delle larve di
pesce ai rumori forti

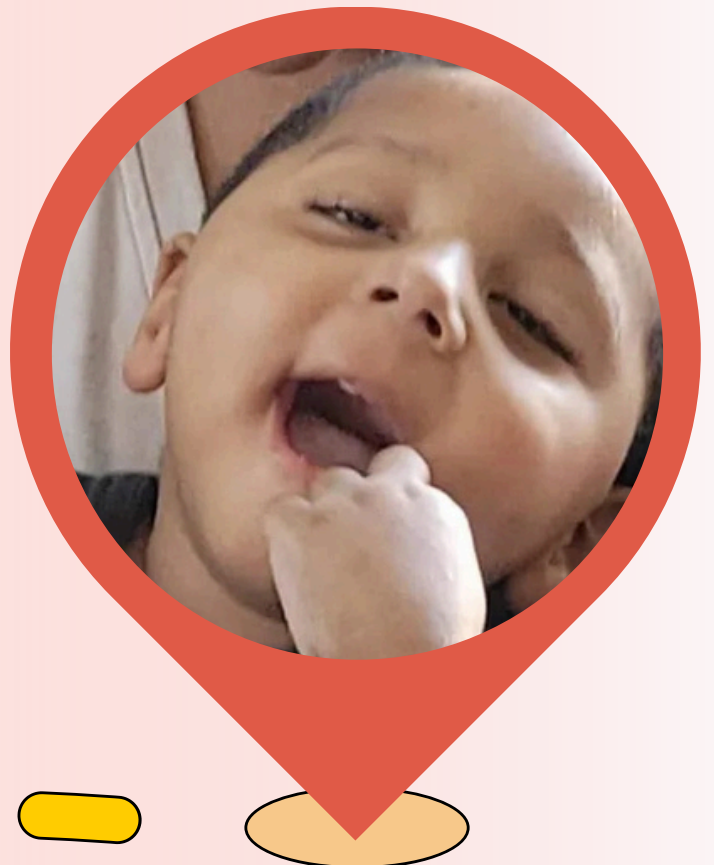
Una dissezione
molecolare dei
componenti di un
complesso proteico che
controlla il movimento e
la forma cellulare

Un'indagine sulla
causa della sindrome
dell'X fragile

In che modo gli scienziati arrivano a interessarsi allo studio di Cyfip2 e DEE65?

Gli scienziati intraprendono un'area di studio per molte ragioni. Alcuni sono guidati verso un particolare progetto di ricerca dai loro mentor di carriera. Altri rimangono incuriositi da un rapporto scientifico e avviano una nuova linea di indagine. Talvolta, pazienti o i loro caregiver richiedono a un ricercatore di indagare sulla loro malattia, innescando un interesse che dura una vita intera per la scoperta di trattamenti. Ai principali ricercatori su Cyfip2 è stato chiesto cosa li abbia spinti a interessarsi a quest'area della biologia. Le loro risposte sono state varie, ma tutte hanno portato a contributi significativi nel campo.

In onore della memoria di
Marcellus, Stati Uniti



Casi Clinici

Per una malattia ultra rara, ogni paziente descritto alla comunità scientifica aggiunge dati significativi alla nostra comprensione della patologia. I clinici che scoprono una diagnosi genetica di DEE solitamente riportano tale risultato in un articolo scientifico chiamato studio clinico. Ad oggi, sono stati pubblicati 8 rapporti di studi clinici in letteratura, inclusi due rapporti più ampi che compilano i precedenti casi clinici, chiamati storie naturali retrospettive (Amato et al., 2025; Arisaka et al., 2021; Begemann et al., 2021; Da Silva Cardoso et al., 2023; Nakashima et al., 2018; Peng et al., 2018; Salokivi et al., 2024; Zhong et al., 2019; Zweier et al., 2019). Questi rapporti confrontano le caratteristiche cliniche di ciascun paziente, così come la causa genetica della malattia (la specifica variante patogena in *Cyfp2*). I dati risultanti consentono una correlazione genotipo/fenotipo, ovvero un raggruppamento di pazienti in base al decorso della loro malattia e alla loro specifica mutazione. Con un campione di dati molto limitato, questa correlazione genotipo/fenotipo è imperfetta. A questo punto è impossibile prevedere il decorso clinico che un paziente potrebbe manifestare in base alla sua variante patogena. Tuttavia, finora sembra che le varianti nella posizione 87 portino a sintomi più gravi rispetto alle varianti in altre parti del gene.

Guadagno o Perdita di Funzione?

Per sviluppare un trattamento efficace per la DEE65 è importante determinare se la malattia sia causata da un "guadagno di funzione" o da una "perdita di funzione" di Cyfip2. Un gene che è "perduto" o mutato in modo tale da non sintetizzare alcuna proteina funzionale (perdita di funzione) potrebbe essere trattato mediante la sostituzione genica. Tuttavia, quando un gene acquisisce una funzione o assume un ruolo diverso e dannoso nella cellula a causa di un cambiamento nella sequenza amminoacidica (guadagno di funzione), ridurre la quantità della proteina dannosa sarebbe un trattamento efficace.

Un'informazione importante utilizzata per determinare se le varianti patogene di Cyfip2 rappresentino un guadagno o una perdita di funzione è la correlazione genotipo/fenotipo. Se esistessero pazienti portatori di una perdita completa del gene, una variante nulla, allora sarebbe possibile un meccanismo di perdita di funzione. Tuttavia, nella panoramica più recente dei casi clinici, la Dott.ssa Anais Begemann ha riscontrato che tutti i casi clinici descritti di pazienti in cui la causa genetica è confermata presentano piccole modifiche nel gene che non risulterebbero in una variante nulla. Pertanto, date le informazioni disponibili fino ad oggi, è molto probabile che il meccanismo alla base della DEE65 sia il guadagno di funzione di Cyfip2. Ci sono altri modi per determinare se il meccanismo della DEE65 sia un guadagno o una perdita di funzione, che saranno discussi di seguito.

Programma di Raccolta Dati Cyfip2

Il Network Cyfip2 ha stretto una partnership con RARE-X per raccogliere informazioni sui pazienti affetti da DEE65 e per facilitare la ricerca e lo sviluppo di trattamenti. Il Programma di Raccolta Dati consente alle famiglie di partecipare alla ricerca senza alcun costo e senza la necessità di visite cliniche obbligatorie.

Quando i caregiver accedono alla piattaforma, viene loro proposto un questionario "dalla testa ai piedi" riguardante il paziente. In base alle risposte fornite, vengono generate indagini aggiuntive. Oltre ai dettagli su crisi e spasmi, i questionari possono includere domande su disturbi del sonno, compromissioni psicomotorie, capacità comunicative, comportamento aberrante, problemi gastrointestinali, problemi visivi e salute immunitaria. La piattaforma raccoglierà anche informazioni sugli interventi medici, sulla dieta, sulla fisioterapia e sulla qualità della vita del paziente e del caregiver. Queste informazioni aiuteranno i ricercatori a studiare il meccanismo della malattia e a creare potenziali trattamenti per i pazienti.

Iscriviti qui



Giuseppe e la sua famiglia, Italia

"È un esempio di forza e coraggio per tutti."

-La mamma di Giuseppe

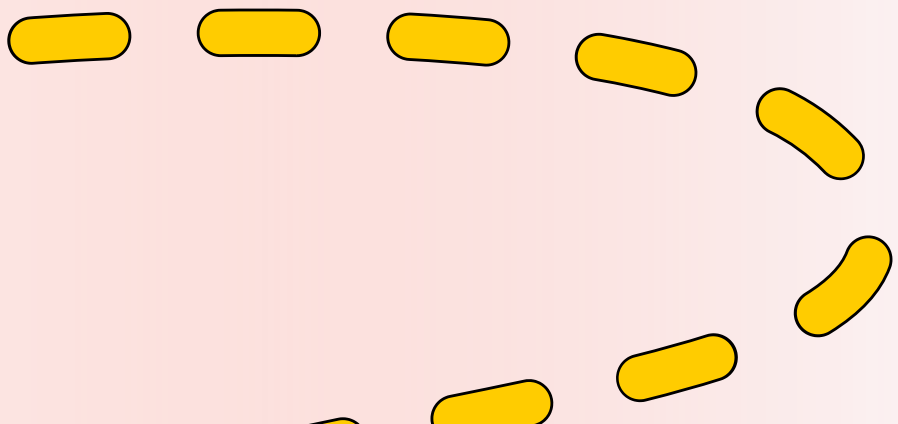


Biochimica di Cyfip2

Il gene Cyfip2 è stato identificato per la prima volta come un gene che veniva attivato da una forma mutante della proteina p53 (Saller et al., 1999), che è spesso mutata nei tumori umani. La connessione tra Cyfip2 e p53 ha portato a decine di articoli di ricerca sul ruolo di Cyfip2 nel cancro. Sebbene questi studi incentrati sul cancro non si colleghino direttamente al ruolo delle varianti di Cyfip2 nella DEE65, il continuo interesse per la proteina da parte della comunità di ricerca sul cancro, molto attiva e ben finanziata, potrebbe servire ad accelerare lo sviluppo terapeutico per la DEE65.



Landon, Stati Uniti



Biochimica di Cyfip2

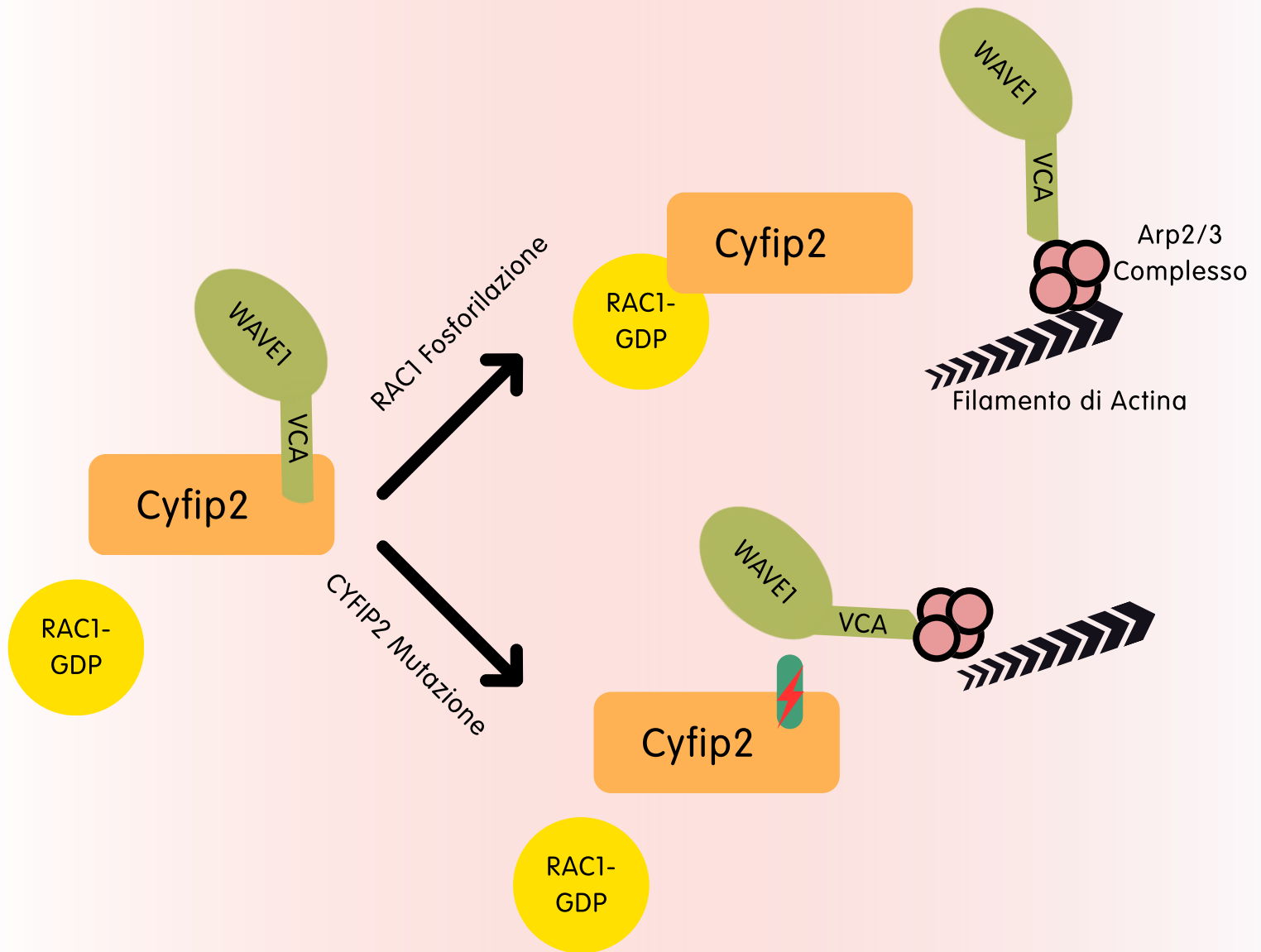
Cyfip2 interagisce con una proteina chiamata FMRP (Fragile X Mental Retardation Protein, o Ribonucleoproteina Messaggera dell'X Fragile). Utilizzando un metodo per "pescare" nuovi partner di legame proteico da una cellula di lievito usando FMRP come "esca" (bait), sono stati scoperti due nuovi geni, Cyfip1 e Cyfip2 (Schenck et al., 2001). Cyfip1 e Cyfip2 sono tra le proteine associate a FMRP più studiate, eppure il loro ruolo nelle funzioni di FMRP non è ancora chiaro. FMRP si lega all'RNA, controllando il processo mediante il quale l'RNA viene letto per produrre proteine (traduzione). Cyfip1 è apparentemente importante per coordinare la traduzione dell'RNA con il rimodellamento del citoscheletro (DeRubeis et al., 2013).

Il WAVE Regulatory Complex

Nel 2010 è stato scoperto un nuovo ruolo per le proteine Cyfip.

Le cellule sono tenute insieme da membrane lipidiche che formano le pareti e da filamenti proteici che mantengono la rigidità interna, proprio come i cavi che sostengono un ponte sospeso. Una delle proteine che compongono questi filamenti è chiamata actina. Il Wave Regulatory Complex, o WRC, è un importante regolatore che determina dove e quando vengono formati i filamenti di actina. Gli scienziati dell'UT Southwestern stavano esaminando i componenti del WRC e hanno scoperto che Cyfip1 svolge un ruolo importante nell'organizzare il WRC e nel mantenere un componente chiamato VCA in uno stato inattivo (Chen et al., 2010). Cyfip2, che è quasi identico a Cyfip1, può assumere anche questo ruolo nel WRC. Quando le proteine Cyfip non funzionano correttamente, il VCA è attivo in ogni momento e i filamenti di actina si formano in luoghi in cui la cellula non ne ha bisogno.

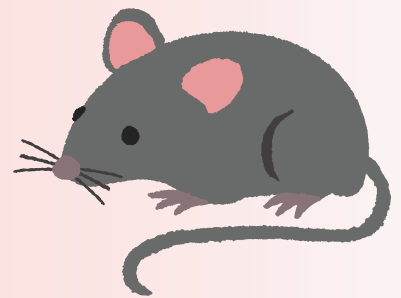
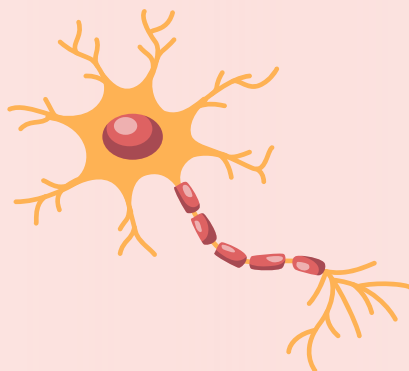
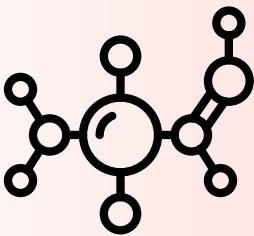
Nei neuroni, la formazione precisa dei filamenti di actina è importante per guidare le estensioni neuronali chiamate dendriti e assoni verso i loro bersagli corretti e per formare le connessioni a tali bersagli, chiamate sinapsi (DeRubeis et al., 2013; Han et al., 2014; Y. Kim et al., 2024). Sebbene non vi sia stata alcuna dimostrazione diretta che la perdita di controllo dei filamenti di actina, della guida assonale e della corretta formazione delle sinapsi porti ai sintomi della DEE65, questa è l'ipotesi prevalente su come le varianti patogene di Cyfip2 causino la malattia.



Disegno schematico del Wave Regulatory Complex e delle proteine che interagiscono con esso. Cyfip2 è una proteina di grandi dimensioni che funge da impalcatura per l'assemblaggio del complesso. Inoltre, mantiene la parte di WAVE1 chiamata VCA in una tasca, impedendole di innescare l'assemblaggio del filamento di actina finché la proteina Rac1 non attiva il complesso. Quando Cyfip2 non riesce a trattenere VCA in quella tasca (il fulmine rosso), i filamenti di actina si formano anche quando Rac1 non sta attivando il processo. Questi filamenti di actina in eccesso si formano in parti della cellula in cui non sono necessari e compromettono la funzione neuronale (Zweier et al., 2019).

Strumenti di ricerca su Cyfip2

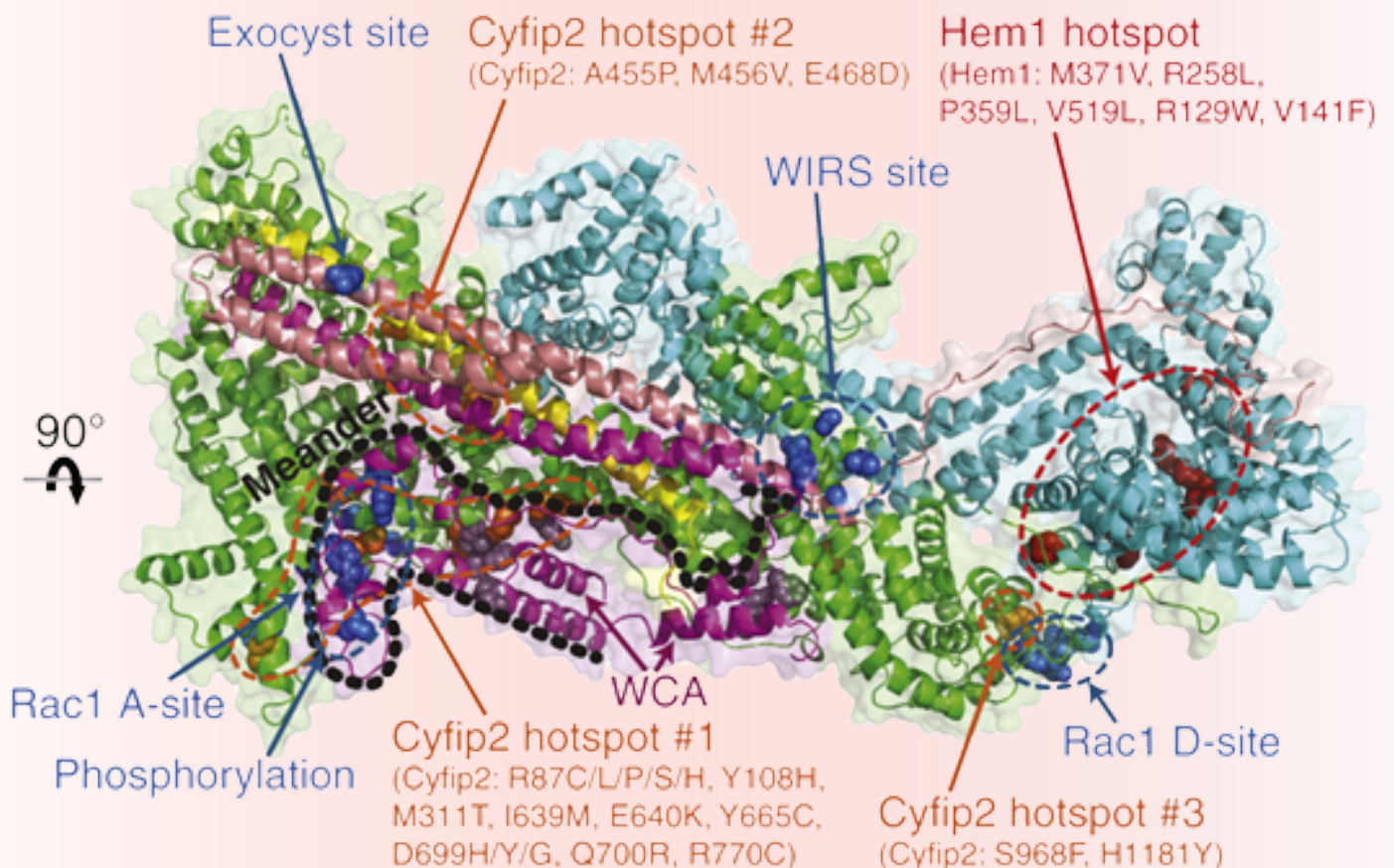
Per studiare qualsiasi malattia, sia per comprenderne meglio la causa, perfezionare la diagnosi o sviluppare nuovi trattamenti, gli scienziati devono ricrearla in un ambiente di laboratorio controllato. Le forme più semplici di modelli di malattia possono richiedere solo poche proteine impacchettate in una struttura cristallina che può essere illuminata da raggi X. Più complessi sono i sistemi costituiti da miscele di proteine, acidi nucleici e composti chimici che riproducono le interazioni tra componenti cellulari. Alcuni disturbi possono essere modellati in colture cellulari, mentre altri richiedono un organismo vivente intero per catturare tutti i meccanismi che portano alla progressione della malattia. I modelli più complessi utilizzati in laboratorio sono mammiferi in cui la variante patologica è introdotta direttamente nel DNA.



Più complessi

La struttura cristallina del WRC

Cyfp2 è membro di almeno due complessi proteici. Sebbene la struttura cristallina del Wave Regulatory Complex contenente Cyfp1 sia stata descritta (Chen et al., 2010), non esiste ancora una struttura sperimentale per il complesso che contiene Cyfp2. Le due proteine condividono però un'elevata somiglianza, permettendo di ricreare la struttura del WRC con Cyfp2 mediante un modello al computer (Biembengut et al., 2022). Questo modello in silico può essere ulteriormente simulato attraverso un processo computazionale chiamato dinamica molecolare, che consente di rivelare il meccanismo con cui le varianti dell'arginina 87 causano la disfunzione del WRC. Può anche essere impiegato per selezionare composti capaci di invertire gli effetti di tali varianti (Venturi Biembengut et al., 2024).



Cell Lines

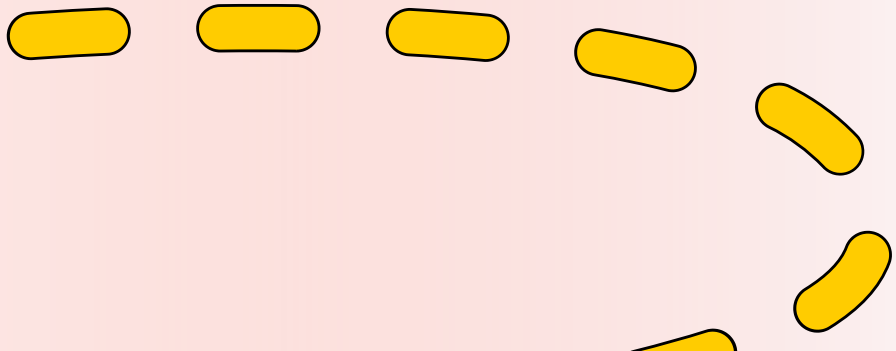
Gli strumenti di ricerca necessari per introdurre qualsiasi mutazione nel DNA di una cellula permettono agli scienziati di creare tutte le varianti patogenetiche note nel tipo cellulare di loro scelta. Tuttavia, è spesso preferibile utilizzare cellule raccolte da pazienti e loro familiari, poiché il resto del genoma del paziente può influenzare l'effetto della variante Cyfip2. Le cellule possono essere ottenute da sangue, tamponi buccali, biopsie o, come riportato in un articolo del 2023 (Da Silva Cardoso et al., 2023), da campioni di urina. I fibroblasti di pazienti con DEE65 in coltura mostrano un deficit nella formazione di una struttura chiamata dorsal ruffle (Begemann et al., 2021). Questa rappresenta sia un indicatore di disfunzione dei filamenti di actina sia un potenziale punto di partenza per sviluppare un saggio di screening in vitro utile a una strategia di riposizionamento farmacologico.



“

Quando lavoro su una linea cellulare in laboratorio, ricordo a me stessa che questa cellula proviene da un paziente che ha una famiglia. A volte è importante fermarsi e pensare a questo

– Dr. Isabelle Zaboroski Silva



Linee Cellulari

I modelli animali (discussi più avanti) hanno mostrato che la perdita di attività di Cyfip2 compromette la capacità dei neuroni nel cervello in via di sviluppo di raggiungere il loro bersaglio (Cioni et al., 2018). Le linee cellulari derivate da pazienti possono essere indotte a differenziarsi in neuroni in coltura. Se le varianti che causano DEE65 disturbano la guida degli assoni nello stesso modo del knockout del gene Cyfip2, ciò dovrebbe essere evidente nel modo in cui i neuroni crescono in coltura. Questo studio è in corso alla Washington University di St. Louis.



Mosche e Pesci

I moscerini della frutta sono organismi modello estremamente utili per gli studi genetici, poiché si riproducono rapidamente e sono relativamente facili da manipolare geneticamente. Il moscerino possiede una sola forma di Cyfip. Rimuovendo parte della proteina, i ricercatori hanno scoperto che il Cyfip del moscerino svolge un ruolo nella guida degli assoni, nella formazione delle sinapsi e nella polimerizzazione dell'actina (Schenck et al., 2003). Non è stato analizzato il comportamento degli insetti. Non sono stati riportati casi di varianti DEE65 nei moscerini.

Gli zebrafish condividono molte delle caratteristiche vantaggiose dei moscerini per gli studi genetici, ma hanno il vantaggio aggiuntivo di essere vertebrati. Una linea mutante chiamata nevermind, in cui gli assoni destinati alla corteccia visiva non riescono a trovare il loro bersaglio, è una variante nulla per Cyfip2 (Pittman et al., 2010). Un altro studio volto a identificare i geni che regolano la risposta agli stimoli nelle larve ha mostrato che una variante nulla di Cyfip2 (chiamata triggerhappy) aveva una soglia di sobbalzo ridotta (Marsden et al., 2018). Questo modello ha permesso agli scienziati di testare l'effetto di rimuovere e reinserire il gene in momenti diversi, mostrando che la soglia di sobbalzo era reversibile. Sebbene questo risultato non sia necessariamente applicabile direttamente alle varianti DEE65 nel cervello umano, indica che il ruolo di Cyfip2 riguarda il mantenimento della funzione neuronale, non solo lo sviluppo delle reti neurali. Lo sviluppo di uno zebrafish che esprima varianti DEE65 in Cyfip2 è attualmente in corso alla North Carolina State University nel laboratorio del Dr. Kurt Marsden.

Modelli Murini

Rispetto ai pesci e agli invertebrati, i mammiferi sono più difficili da mantenere in laboratorio, richiedono più spazio e costano di più. Nonostante questi svantaggi, molti scienziati considerano i modelli murini essenziali per comprendere come una malattia si sviluppa e per valutare l'efficacia dei trattamenti. Come per moscerini e zebrafish, gli strumenti per manipolare i geni dei topi sono ben sviluppati. A differenza di moscerini e zebrafish, i topi possono ricevere trattamenti attraverso vie simili a quelle usate per i pazienti umani: orale per alcuni farmaci, endovenosa o nel cervello o midollo spinale per oligonucleotidi e terapie geniche virali.

I primi modelli murini su *Cyfp2* sono stati scoperti per caso. Gli scienziati stavano studiando la risposta dei topi alla cocaina e hanno scoperto che due ceppi di laboratorio strettamente correlati rispondevano diversamente. Il ceppo C57Bl/6J reagiva più fortemente rispetto al C57Bl/6N (Kumar et al., 2013). Questi due ceppi differivano solo leggermente nel loro codice genetico.

Una differenza nel gene *Cyfp2*, che rende la proteina meno stabile, si è rivelata essere la causa della risposta attenuata alla cocaina nei topi 6N. Questo risultato ha portato a esplorare il ruolo di *Cyfp2* nel comportamento impulsivo e nei circuiti della ricompensa, che regolano non solo la risposta alla cocaina ma anche l'assunzione di alcol e le abbuffate alimentari (Hartmann et al., 2023).

Modelli Murini

Utilizzando una strategia detta knock-out, in cui un gene è modificato in modo da non produrre alcuna proteina, Kihoon Han e colleghi hanno dimostrato che *Cyfp2* è essenziale per la sopravvivenza del topo (Han et al., 2014). Poiché la maggior parte dei geni esiste in due copie (una per ciascun genitore), i ricercatori hanno studiato topi che conservavano una sola copia del gene (eterozigoti knockout). Questi topi mostravano iperattività e apparivano molto simili ai topi privi di FMRP. Mentre la strategia knockout è utile per esplorare il ruolo di un gene nelle vie biologiche, una procedura più complessa è necessaria per studiare una variante patogenetica che comporta un guadagno di funzione. Solo nel 2023 è stato generato un modello murino di questo tipo, rappresentando un importante progresso nello sviluppo di terapie.

I topi che esprimono la variante Arg87Cys in uno dei due alleli di *Cyfp2* mostrano peso corporeo e forza ridotti (Kang et al., 2023). Presentano spasmi spontanei simili all'epilessia, che scompaiono con l'età ma ricompaiono in età adulta (Ma et al., 2025). Mostrano inoltre una ridotta risposta all'interazione sociale in test usati per studiare i disturbi dello spettro autistico nei topi. Hanno anche una maggiore sensibilità al farmaco pro-convulsivante PTZ. Questi risultati suggeriscono che il topo *Cyfp2* Arg87Cys è un modello valido della malattia umana. Le differenze rispetto ai topi eterozigoti knockout suggeriscono inoltre fortemente che il meccanismo patologico implichi un guadagno di funzione. Questi topi saranno utili sia per prevedere il decorso della malattia nei pazienti, sia per testare nuove strategie terapeutiche, inclusi farmaci e terapie genetiche mirate.

Nuovo Modelli Murini

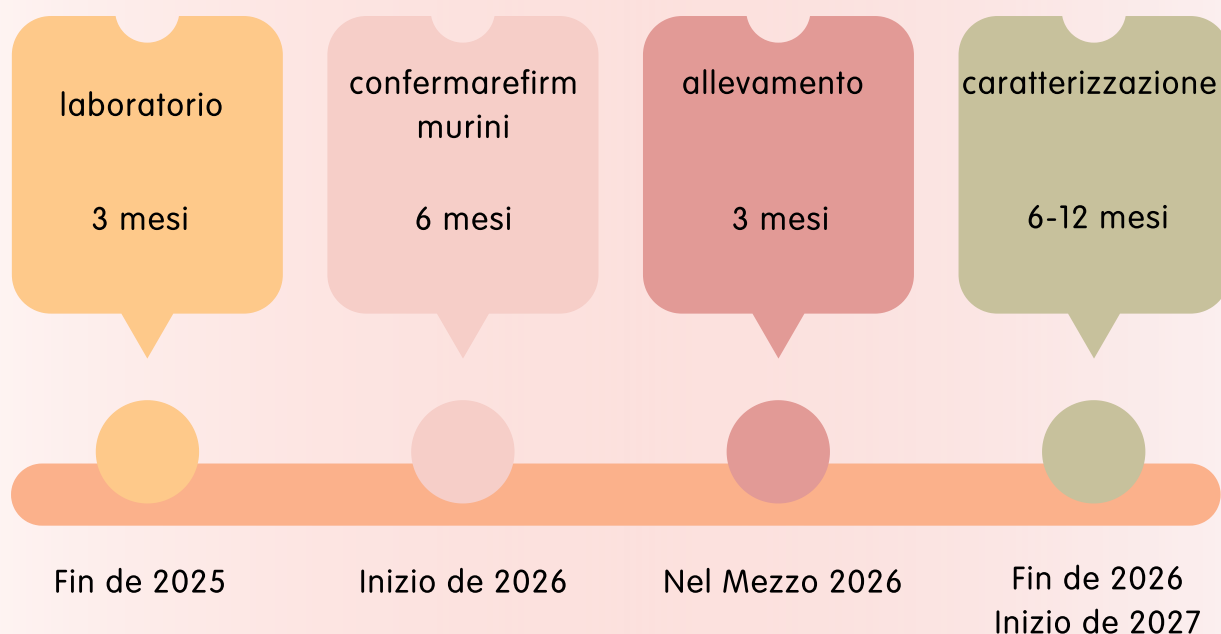
Il modello murino sviluppato dal Dr. Han e dai colleghi dell'Università di Corea rappresenta un passo fondamentale nella comprensione di DEE65 e nello sviluppo dei trattamenti. Tuttavia, una delle principali lacune nella nostra comprensione di DEE65 che gli scienziati esperti hanno identificato riguarda il momento e il luogo in cui la disregolazione del Cyfip2 colpisce i neuroni. Queste informazioni sono fondamentali per sviluppare i trattamenti, perché questi devono produrre il loro effetto in un momento specifico (il momento del trattamento) e in un luogo specifico (a seconda di come il trattamento viene somministrato al paziente). Dobbiamo assicurarci che il momento e il luogo dell'effetto del farmaco siano coerenti con il momento e il luogo in cui si verifica il meccanismo della malattia.

Per questo motivo, la Rete Cyfip2 ha stretto una partnership con il Centro Ceco per la Fenogenomica (CCP) per produrre un modello murino condizionale di DEE65. In questo modello, la variante patogena Arg87Cys viene introdotta in modo tale da essere espressa solo nelle cellule del topo che esprimono anche la proteina Cre. Questo permetterà agli scienziati di allevare topi che esprimono la variante patogena solo in un particolare tipo di neurone, ad esempio, o che esprimono la forma Arg87Cys solo in un punto definito dopo la nascita. Questa maggiore flessibilità dimostra la straordinaria potenza della genomica dei murini.

Dopo una domanda di finanziamento di successo, il CCP ha generosamente offerto di creare il modello di mouse condizionato senza costi per la rete Cyfip2. Una volta nati i topi e confermata l'espressione condizionata del gene patogeno, i topi dovranno essere caratterizzati tramite una serie di esperimenti. Il budget per l'esecuzione di questi esperimenti è ancora in fase di sviluppo.

“Sviluppare terapie per questi bambini richiede un'enorme quantità di lavoro, ma dobbiamo impegnarci ancora di più . – Dr. Vivek Kumar

Generazione di modelli di Murini a Czech Center for Phenogenomics



“Il nostro obiettivo immediato è delineare in dettaglio i cambiamenti neurobiologici che avvengono nel cervello dei topi Cyfip2 Arg87Cys. Sulla base di queste informazioni puntiamo a identificare e validare bersagli terapeutici – Dr Kihoon Han

Girini

Infine, la rana artigliata africana (*Xenopus laevis*) è diventata un importante strumento di ricerca principalmente perché le sue uova sono così grandi da poter essere iniettate con proteine e acidi nucleici con molta meno difficoltà rispetto ad altre cellule di vertebrati. L'iniezione di RNA Cyfip2 wild-type nelle uova di *Xenopus* produce girini leggermente iperattivi, mentre l'iniezione di RNA Cyfip2 Arg87Cys causa nei girini lo sviluppo di crisi spontanee e attività cerebrale anomala (Panthi et al., 2022). Questo modello rappresenta un'ulteriore forte indicazione di un meccanismo a guadagno di funzione, poiché la comparsa del fenotipo convulsivo non richiede la rimozione del Cyfip2 wild-type. Questi girini possono anche essere utilizzati per lo screening di potenziali trattamenti in numeri molto maggiori rispetto ai topi.



Fin e la sua famiglia, Svizzera

Riepilogo dei modelli di malattia

| Modello | Sede |
|--|--|
| Fibroblasti derivati da pazienti (6 varianti diverse) | Università di Zurigo |
| iPSC derivate da pazienti (2 pazienti, entrambi R87C) | Instituto Carlos Chagas / Fiocruz |
| Fibroblasti derivati da pazienti | Coriel Institute (non catalogati) |
| Xenopus laevis esprimenti 2 diverse varianti patogenetiche di Cyfip2 | Università di Otago, Nuova Zelanda |
| Zebrafish knockout per Cyfip2 | NCSU |
| Topi knockout per Cyfip2 | International Mouse Phenotyping Consortium |
| Topi Cyfip2 R87C (modifica genetica) | Korea University |



Honzík, Repubblica Ceca

"Spero che Honzík impari a camminare e a parlare meglio. Vorrei anche aiutare gli altri."

-La mamma di Honzík

Lacune nel panorama della ricerca

Sebbene siano stati fatti notevoli progressi da quando Cyfip2 è stato identificato come gene associato alla DEE65, molto rimane da fare:

Comprensione scientifica di base

- Dove e quando è importante l'espressione di Cyfip2 durante lo sviluppo cerebrale?
- Quali proteine compongono il complesso WRC in associazione con Cyfip2?
- Come è regolata l'attività di Cyfip2?
- Qual è il ruolo (se esiste) dell'interazione Cyfip2/FMRP nella DEE65?
- In che modo le varianti diverse da Arg87x influenzano l'attività?

Strumenti di ricerca

- oModello murino condizionale (che consenta ai ricercatori di limitare la variante patogenetica a specifici tessuti o a particolari momenti dello sviluppo).
- oModelli cellulari complessi, come colture 3D e organoidi cerebrali (per esplorare quali tipi cellulari sono più vulnerabili alle varianti patogenetiche di Cyfip2 e per riprodurre risposte simili a crisi epilettiche in un sistema sperimentale più controllabile).

Cosa possono fare la Cyfip2 Network e i loro alleati per aiutare?

| Scopo | Progetto | Sede di ricerca / Investigatore | Costo |
|------------------------------------|---|---|-------|
| Generazione di modelli di malattia | Raccogliere campioni biologici dai pazienti per creare linee cellulari (fibroblasti o iPSC) | Università di Brescia, Italia / Alessandro Barbon | |
| Generazione di modelli di malattia | Caratterizzare i topi Cyfip2 R87C in fase di generazione presso il Czech Institute | UC Davis, CCP | |



Sviluppo di terapie

Foto: Eli durante un corso intensivo DMI!

Sviluppo di terapie

Uno degli obiettivi più importanti della Cyfip2 Network è accelerare lo sviluppo di terapie in grado di modificare il decorso della malattia per la DEE65. I trattamenti attuali si concentrano sul controllo delle crisi epilettiche, che è importante, ma non affronta gli altri aspetti della malattia.

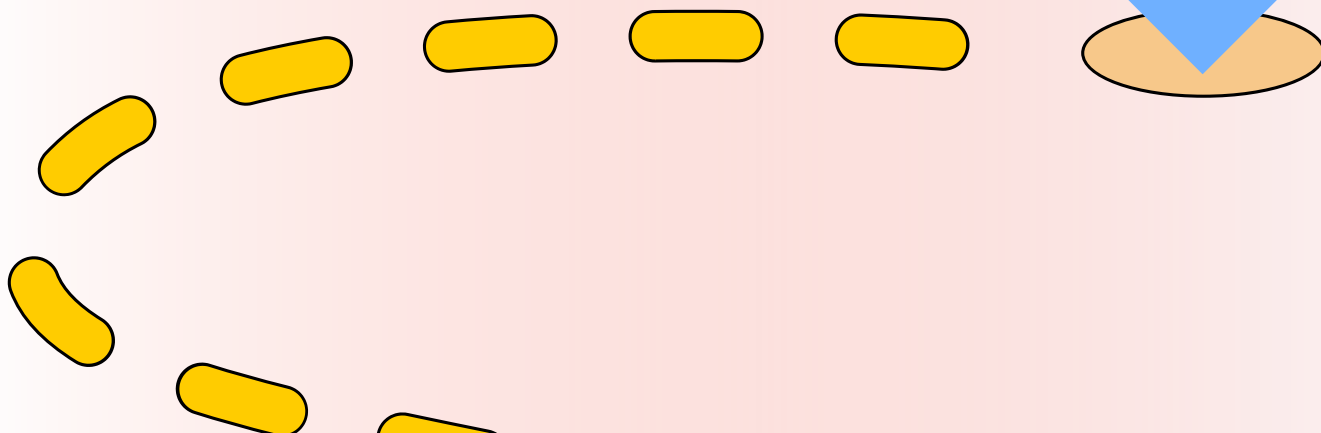
“Le morbidità includono ritardo dello sviluppo e regressione che portano a disabilità intellettiva; caratteristiche psichiatriche come disturbi dello spettro autistico, disturbi dell’umore, ansia e psicosi; manifestazioni gastrointestinali, muscoloscheletriche, respiratorie e cardiache, insieme a un tasso di mortalità notevolmente aumentato.” (Scheffer et al., 2025).

In una nota positiva, siamo entrati in una nuova fase della medicina in cui farmaci mirati geneticamente, in grado di ridurre, sostituire o persino riparare geni difettosi, sono attualmente in fase di sviluppo per malattie rare e persino ultra-rare.

Riposizionamento farmacologico

Creare un nuovo farmaco da zero è un processo costoso e molto lungo, e non esiste un forte incentivo economico a sviluppare cure per malattie ultra-rare. Tuttavia, trovare un nuovo utilizzo per un farmaco già esistente è relativamente rapido ed economico. Sono state approvate per l'uso umano poco più di 300 molecole chimiche che agiscono su bersagli all'interno del cervello e, sebbene nessuna di esse sia stata approvata per trattare la DEE65, è possibile che una di queste abbia un effetto biologico utile ai pazienti.

Lucas, Stati Uniti



Riposizionamento farmacologico

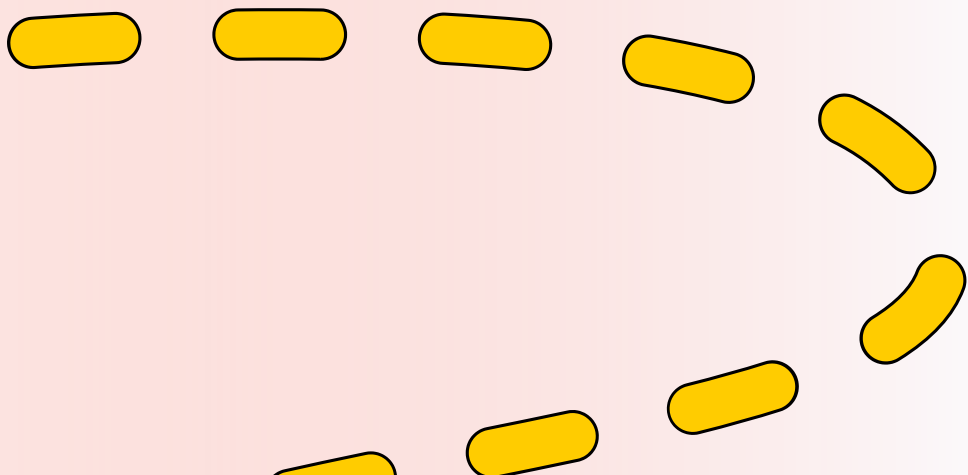
Identificare quali farmaci approvati potrebbero essere utili ai pazienti con DEE65 può essere fatto in diversi modi. I ricercatori dell'istituto brasiliano Fiocruz hanno utilizzato un modello al computer di Cyfip2 per "ancorare" (dock) composti chimici nel sito della variante Arg87Cys (Venturi Biembengut et al., 2024). Hanno identificato 11 composti che, secondo le loro previsioni, si legherebbero fortemente. Per testare questi risultati sulla proteina reale, hanno aggiunto i farmaci a cellule per verificare se modificassero la temperatura alla quale la proteina si denatura. Otto composti hanno effettivamente aumentato la stabilità termica di Cyfip2, indicando un legame diretto. Il passo successivo per determinare se questi composti possano essere utili ai pazienti con DEE65 è testarli in un saggio cellulare che indichi un ripristino della normale funzione di Cyfip2 o la rimozione dell'effetto indesiderato della variante Arg87Cys. Almeno tre laboratori stanno attivamente sviluppando tali saggi cellulari: il laboratorio di Patricia Shigunov (Fiocruz), il laboratorio di Joseph Dougherty (Washington University St. Louis), il laboratorio di Eileen Kennedy (University of North Carolina). È fondamentale utilizzare un saggio che rifletta accuratamente la malattia; pertanto, sarebbe utile impiegare più saggi cellulari diversi. I composti dovrebbero essere testati anche nel contesto di altre varianti patogenetiche, poiché anch'esse modificano la stessa regione della proteina coinvolta nella variante Arg87Cys. Ciò richiede la creazione di una linea cellulare derivata da pazienti portatori delle altre varianti patogenetiche.

Riposizionamento farmacologico

Un secondo metodo per identificare potenziali farmaci da riposizionare consiste nell'eseguire uno screening ad alta processività utilizzando un saggio rilevante. Tale saggio può essere basato su colture cellulari (ad esempio il test del dorsal ruffle nei fibroblasti descritto sopra (Begemann et al., 2021)) oppure effettuato in organismi animali abbastanza piccoli da permettere esperimenti con oltre 300 condizioni diverse, come girini (Panthi et al., 2022) o zebrafish. Sviluppare un saggio adatto a uno screening ad alta processività di farmaci approvati è un'attività economicamente accessibile alle associazioni di pazienti e ha il potenziale di influenzare in modo significativo la ricerca di trattamenti efficaci.



Isabella, Brasile



Sviluppo di terapie

Riposizionamento farmacologico

Università della Carolina del Nord, Chapel
Hill



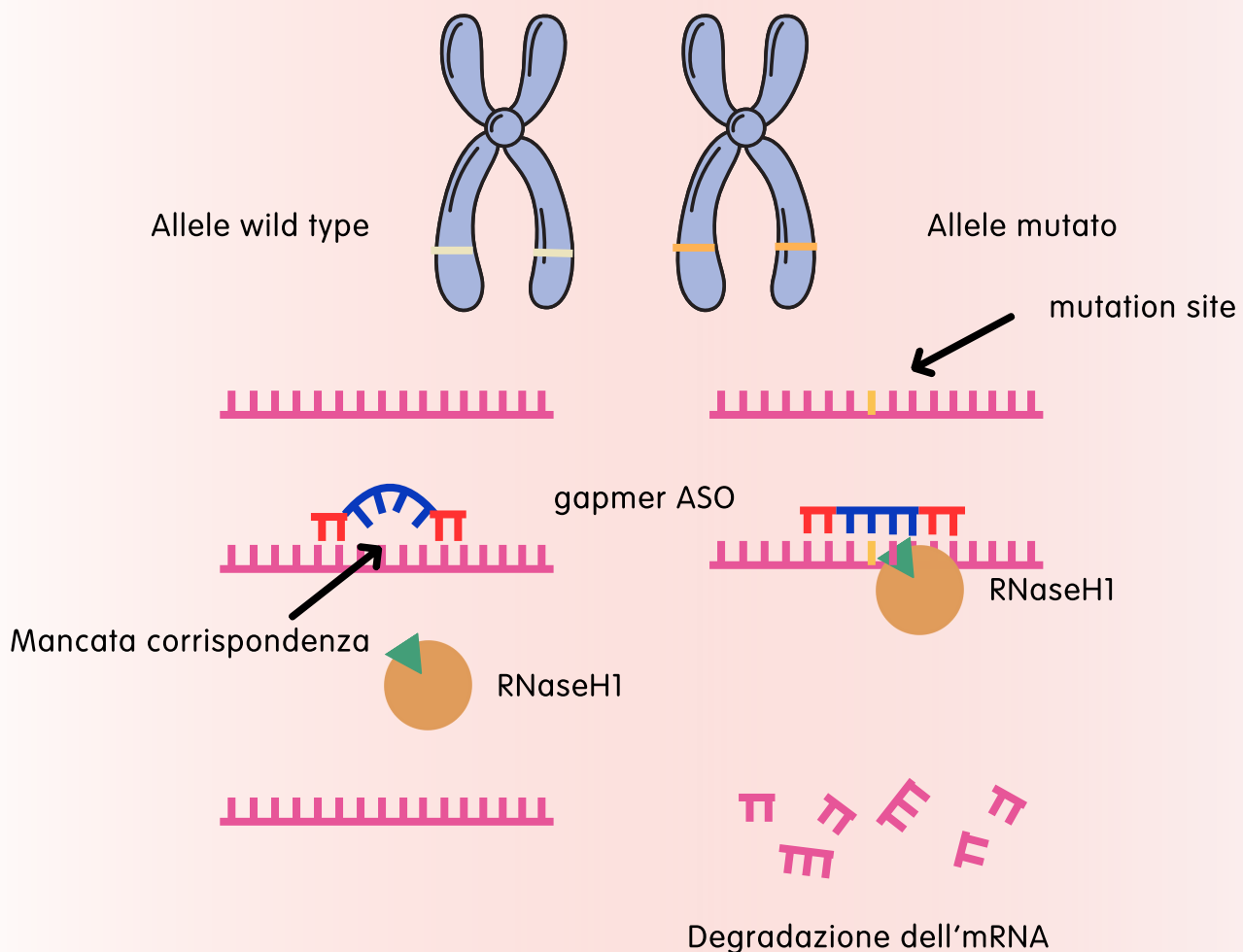
Un altro approccio al riposizionamento farmacologico consiste nello sfruttare il fatto che, oltre alla DEE65, le proteine Cyfip sono coinvolte anche nei processi di crescita e metastasi tumorale. I ricercatori dell'Università della Georgia e dell'Università del North Carolina Chapel Hill hanno sviluppato composti in grado di alterare la funzione del Wave Regulatory Complex (Limaye et al., 2022). Questi composti agiscono su cellule che esprimono le proteine Cyfip wild type, ma sarà fondamentale determinare se siano in grado di eliminare gli effetti nocivi delle varianti patogenetiche di Cyfip2. Sebbene questi trattamenti siano ancora lontani dalla fase di studio sull'uomo, vengono sviluppati per una malattia che attira grandi risorse, il che li farà avanzare più rapidamente rispetto a qualsiasi trattamento specifico per la DEE65.

Oligonucleotidi antisenso allelo-selettivi

Cyfp2 è presente in due alleli in ogni cellula (uno su ciascun cromosoma 5). Nei pazienti con DEE65, un allele è normale mentre l'altro porta una variante patogenetica. La variante spesso differisce dall'allele normale per un solo nucleotide (detto single nucleotide polymorphism, o snp, pronunciato "snip"), ma questo singolo cambiamento è sufficiente a produrre una proteina che esercita un effetto dannoso sulla cellula e, in ultima analisi, sul paziente. Nei topi, la rimozione di entrambi gli alleli di Cyfp2 non è compatibile con la vita: i topi completamente privi di Cyfp2 non sopravvivono alla nascita. I topi con una sola copia del gene vivono oltre la nascita, sebbene mostrino alcune differenze rispetto ai topi con entrambi gli alleli (Han et al., 2014)(G. H. Kim et al., 2020; Zhang et al., 2019, 2020). Queste differenze non sono tuttavia così gravi quanto quelle osservate nei topi che esprimono Arg87Cys in uno dei due alleli (Kang et al., 2023). Considerando questi dati sui topi, insieme al fatto che tutti i pazienti con DEE65 studiati finora esprimono una qualche forma di Cyfp2 (e non una variante nulla), si suggerisce che il meccanismo patologico sia un guadagno di funzione. Pertanto, potrebbe essere utile ai pazienti rimuovere l'allele patogenetico, invertendo il guadagno di funzione, se fosse possibile farlo lasciando inalterato l'allele normale.

Oligonucleotidi antisenso allele-selettivi

Un approccio terapeutico chiamato interferenza dell'RNA, gene silencing o knockdown, può ottenere questa rimozione allele-selettiva di Cyfip2. Un oligonucleotide complementare all'mRNA di Cyfip2, cioè un oligonucleotide antisenso (ASO), può essere progettato per corrispondere esattamente, ad esempio, alla variante Arg87Cys. Poiché l'ASO non corrisponde perfettamente all'allele normale, non interferirebbe con la produzione della proteina normale. Oligonucleotidi di silenziamento allele-specifico sono già stati sviluppati per la malattia di Huntington (Conroy et al., 2022). L'articolo descrive la progettazione di ASO allele-specifici e dimostra che il metodo è applicabile anche ad altri geni.



ASO specifico

La progettazione di un ASO specifico per la variante Arg87Cys sarebbe utile per la maggior parte dei pazienti con DEE65; tuttavia, sarebbe ancora più vantaggioso progettare un ASO in grado di silenziare qualsiasi allele patogenetico. Nel laboratorio di Joseph Dougherty alla Washington University di St. Louis, i ricercatori hanno identificato uno snp "silente" chiamato rs1823035 nel gene Cyfip2, che non modifica la sequenza proteica ed è presente in circa un terzo degli alleli.

Mirando a una o all'altra versione di questo snp silente, potrebbe essere possibile silenziare l'allele patogenetico senza colpire quello normale.



Cosa possono fare la Cyfip2 Network e i loro alleati per aiutare?

| Scopo | Progetto | Sede / Investigatore | Costo |
|---------------------------------------|--|----------------------|-------|
| Riposizionamento farmacologico | Testare i composti dallo screening in silico in un modello cellulare | Fiocruz/Shigurov | |
| Riposizionamento farmacologico | Analizzare i composti in zebrafish | NCSU/Marsden | |
| Nuovo sviluppo di farmaci | Testare peptidi stabilizzati diretti contro Cyfip2 in un modello cellulare | UNC/Kennedy | |
| Silenziamento genico allele-specifico | Testare ASO specifici per varianti patogenetiche in un modello cellulare | WUSTL/Dougherty | |



**Ada e la sua famiglia,
Stati Uniti**

Trattamenti in fase di studio per tutte le DEE

Poiché la DEE65 condivide sintomi e prognosi con altre forme di encefalopatie epilettiche dello sviluppo (DEE), vale la pena esplorare trattamenti che si sono dimostrati efficaci in altre DEE e valutare se potrebbero avere utilità anche nel trattamento della DEE65.

Bexicaserin

Con l'acquisizione di Longboard Pharmaceuticals da parte di Lundbeck, lo sviluppo del primo trattamento mirato a tutte le DEE è passato a una grande azienda con notevoli risorse ed esperienza nel portare sul mercato farmaci neurologici. Bexicaserin agisce su un recettore specifico della serotonina, 5-HT_{2C}. Farmaci come la fenfluramina, che agiscono in maniera non selettiva sui recettori della serotonina, riducono le crisi epilettiche ma causano effetti collaterali indesiderati (sedazione, cardiopatie valvolari, ecc.). I composti che attivano selettivamente il recettore 5-HT_{2C} sono stati considerati promettenti perché i topi privi del recettore mostrano crisi spontanee (Tecott et al., 1995). Bexicaserin riduce le crisi nei pazienti con DEE e finora non ha mostrato gravi problemi di sicurezza (Chan et al., 2025). Il farmaco è attualmente in sperimentazione di Fase III, l'ultima fase prima dell'approvazione commerciale.

Trattamenti in fase di studio per tutte le DEE

BMB-101

Simile a Bexicaserin, anche BMB-101 agisce sul recettore 5-HT_{2C}. Attualmente è in uno studio di Fase II per le DEE. È importante notare che la frequenza delle crisi è l'endpoint primario in entrambi gli studi sui due agonisti 5-HT_{2C} (BMB-101 e Bexicaserin). Sebbene non vi siano dati convincenti che la riduzione delle crisi migliori lo sviluppo cognitivo nelle DEE, l'unico farmaco che ha mostrato qualche capacità di migliorare la cognizione nell'epilessia è la fenfluramina (Soto-Insuga et al., 2025), un agente che rilascia serotonina e agisce su tutti i recettori serotoninergici. È quindi possibile che questi agonisti serotoninergici più tollerati (selettivi per 5-HT_{2C}) possano offrire un beneficio simile, ma potrebbe essere difficile per i ricercatori rilevarlo senza una misura di esito adeguata (vedi sezione successiva).

Relutrigine

Praxis Precision Medicine ha sviluppato un bloccante dei canali del sodio che ha mostrato efficacia in modelli animali di epilessie non causate da varianti nei canali del sodio. L'azienda ha dimostrato efficacia in pazienti SCN2A/SCN8A e sta ampliando gli studi includendo tutti i pazienti con DEE. Sebbene l'azienda affermi che "tutte le DEE di origine genetica risultano in una iperattivazione dei canali del sodio", sarebbe importante testare il composto in un modello di DEE65 per verificare che anche in quel modello le crisi vengano ridotte.

Sviluppo di terapie

Ravicti

Il farmaco Ravicti di Amgen, o glicerolo fenilbutirrato, è utilizzato per controllare i livelli di ammoniaca nei disturbi del ciclo dell'urea. Ha mostrato attività anti-crisi in modelli di epilessie SLC6A1 e STXBP1. I ricercatori della Weill Cornell Medicine stanno conducendo uno studio del farmaco su tutte le DEE, dopo una prima fase limitata ai pazienti SLC6A1 e STXBP1 (Stone et al., 2025).

Epidiolex/Cannabidiolo/Olio di CBD

La FDA ha approvato Epidiolex nel 2018 per il trattamento di due DEE: la sindrome di Dravet e la sindrome di Lennox-Gastaut. "I dati disponibili suggeriscono che il trattamento con una soluzione altamente purificata a base di olio di CBD derivato da piante può essere efficace in un ampio spettro di disturbi epilettici e di eziologie diverse." (Lattanzi et al., 2021) Un caso riportato di successo del trattamento con cannabidiolo in un paziente DEE65 (de Góes et al., 2022) non include informazioni su dose, schema terapeutico o origine del farmaco, rendendo difficile valutarne l'efficacia.

Ketogenic or modified Atkins diet

Alcune forme di DEE, inclusa la sindrome di Dravet, rispondono bene alla dieta chetogenica (Sharma & Tripathi, 2013). Tuttavia, alcuni sottotipi di DEE non rispondono al trattamento e, in alcuni casi, la dieta può peggiorare le condizioni del paziente (Ko et al., 2018). Poiché non esiste alcuna evidenza specifica di efficacia per la DEE65, è consigliabile (come per qualsiasi intervento) procedere con cautela.

Studi clinici per le DEE

Come riportato sopra, i genitori dei pazienti con DEE65 hanno espresso che, sebbene il controllo delle crisi epilettiche sia importante, il ritardo dello sviluppo è altrettanto importante, se non di più, quando si valuta l'efficacia di una terapia. Sviluppare un intervento terapeutico che tratti questi sintomi non legati alle crisi richiederà un modo per misurare il miglioramento nel paziente. Queste misure di esito, utilizzate sia negli studi di storia naturale sia negli studi clinici interventistici, devono essere:

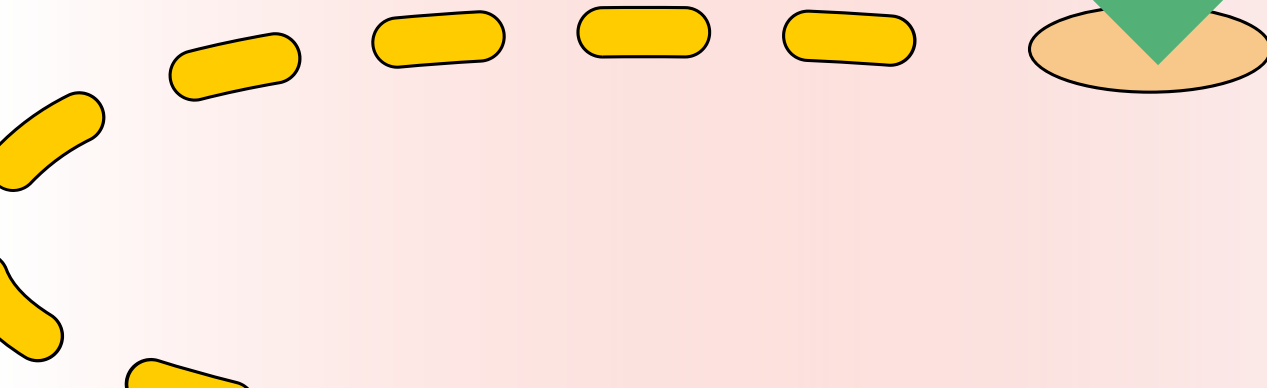
- 1) 1) Rilevanti per la qualità di vita e il benessere del paziente
- 2) 1) Applicate in modo coerente da diversi clinici e in diverse sedi
- 3) 1) Sensibili al cambiamento, sia miglioramento che peggioramento

A eccezione del trattamento di Fase 3 per la sindrome di Dravet di Stoke Therapeutics/Biogen, zorevunersen, gli studi clinici che indagano terapie in grado di modificare il decorso della malattia nelle DEE sono ancora nelle fasi iniziali. C'è ancora tempo per prepararsi adeguatamente agli studi clinici per terapie modificanti la malattia, in modo da garantire che i trattamenti efficaci raggiungano i pazienti che ne hanno bisogno.

Studi clinici per le DEE

Anche se molti farmaci sono stati studiati e approvati per ridurre il carico delle crisi in pazienti con diverse forme di epilessia, misurare con precisione se un farmaco riduce effettivamente il numero o la gravità delle crisi non è semplice né affidabile come gli sperimentatori vorrebbero. Le crisi spesso avvengono a casa, possono verificarsi in qualsiasi momento del giorno o della notte, e anche i caregiver più attenti non sono sempre in grado di identificare che tipo di crisi il paziente stia avendo, quando esattamente sia iniziata, cosa l'abbia scatenata. Nonostante questa limitazione, la maggior parte dei trattamenti studiati per le DEE userà comunque il conteggio del carico di crisi come misura di esito primaria.

Giuseppe e la sua famiglia,
Italia



Inchstone Project

Poiché si prevede che le terapie di precisione non solo riducano la frequenza e l'intensità delle crisi, ma migliorino anche lo sviluppo cerebrale e la disabilità intellettiva, le misure di esito negli studi clinici devono essere sensibili ai cambiamenti attesi. Il Developmental Epileptic Encephalopathy Project (DEE-P) ha avviato un programma per sviluppare tali misure di esito, chiamato Inchstone Project (così chiamato perché si concentra su miglioramenti più piccoli rispetto ai tipici milestones). Il progetto include adattare i metodi di valutazione delle capacità ai bambini con disabilità visive, determinare cosa rappresenti un cambiamento significativo nella funzione motoria per i genitori di bambini con DEE, sviluppare nuove misure di esito adatte a pazienti che potrebbero collocarsi sul "livello minimo" delle scale di sviluppo standard come Bayley o Vineland (Hecker et al., 2024). Misurare qualsiasi miglioramento apportato da un trattamento sarà difficile e richiederà nuovi strumenti per catturare con precisione progressi sottili in pazienti con compromissione profonda.

L'obiettivo dell'Inchstone Project è accelerare lo sviluppo delle misure di esito fino al punto di ottenere l'approvazione FDA per i pazienti con DEE. Tali misure devono essere più sensibili ai miglioramenti incrementali rispetto agli strumenti utilizzati per ritardi dello sviluppo meno gravi. Il progetto raccoglie domini comportamentali, la più piccola variazione che i caregiver considererebbero significativa, e identifica pattern nei dati (Downs et al., 2025). Questo rappresenta un primo passo nello sviluppo e nella selezione di strumenti di valutazione clinica che potranno essere utilizzati negli studi clinici per le DEE man mano che nuovi trattamenti verranno testati.

Cosa possono fare la Cyfip2 Network e i loro alleati per aiutare?

| Scopo | Progetto | Sede / Investigatore | Costo |
|--|---|---------------------------------------|-------|
| Ottimizzare l'efficacia dei trattamenti antiepilettici esistenti | Raccogliere i risultati dei trattamenti dai pazienti e formare un'opinione condivisa | Tutti i clinici DEE65 | |
| Confrontare gli EEG di pazienti con DEE65 con quelli di altri disturbi | EEG Bank | Combined Brain, tutti i clinici DEE65 | |
| Preparazione agli studi clinici | Partecipare all'Inchstone Project su www.inchstoneproject.org | Tutti i caregiver e clinici DEE65 | |

Conclusioni

Rispetto alle forme più comuni di DEE (Sindrome di Dravet/SCN1A, SCN2A, CDKL5), lo sviluppo di trattamenti per la DEE65 è in una fase iniziale. Tuttavia, le lezioni apprese dal trattamento di quelle altre DEE faranno sì che i trattamenti per la DEE65 passino dalla scoperta scientifica agli studi clinici e alla cura del paziente più rapidamente. Anche lo studio della funzione di Cyfip2 in contesti diversi dalla DEE65 farà progredire la ricerca, sebbene l'applicabilità dei risultati della scienza di base potrebbe non essere immediatamente evidente. I caregiver dei pazienti possono accelerare direttamente questo processo donando campioni biologici (per creare modelli di malattia basati su cellule), partecipando a studi di storia naturale (per prevedere meglio il decorso clinico, producendo dati che possono fungere da gruppo placebo virtuale per studi di piccole dimensioni) e sostenendo le fasi più iniziali e rischiose della ricerca. Organizzazioni come il Network Cyfip2 svolgono anche un ruolo importante nella ricerca scientifica riunendo ricercatori provenienti da mondi molto diversi che possono imparare gli uni dagli altri. Nel marzo del 2025, il Network Cyfip2 ha ospitato un incontro virtuale in cui scienziati che studiano il comportamento di ricerca della cocaina nei topi, le risposte al rumore nei zebrafish, l'organizzazione dei filamenti di actina e l'encefalopatia epilettica hanno scambiato idee e avviato collaborazioni. Questo ruolo di centro nevralgico (network hub) è una componente inestimabile del processo di scoperta scientifica.

Glossario

Actina – una proteina che forma filamenti o cavi all'interno delle cellule.

Agonista – una sostanza che attiva un recettore per trasmettere un segnale all'interno di una cellula.

Allele – una copia di un gene (solitamente usato nel contesto in cui un paziente ha due diversi alleli).

Arginina – uno dei 20 amminoacidi e un sito frequente di varianti patogene.

Assone – una lunga proiezione che conduce dal corpo di un neurone a un'altra cellula.

Bloccante dei canali del sodio – una classe di sostanze che riducono il flusso di sodio attraverso una membrana cellulare. Questa classe include tossine naturali, farmaci antidolorifici, farmaci per l'aritmia cardiaca e anticonvulsivanti.

Citoscheletro – la rete di filamenti, inclusi i filamenti di actina, che conferiscono rigidità alla cellula e le permettono di muoversi.

Correlazione genotipo/fenotipo – un confronto tra le varianti patogene (sequenza genica) e le caratteristiche fisiche come i segni e i sintomi della malattia.

Denaturare – un processo in cui la forma tridimensionale di una proteina viene alterata in modo che non svolga più la sua funzione normale. La proteina di solito diventa insolubile. L'albumina nell'albume d'uovo viene denaturata quando l'uovo viene cotto.

Dendrite – una delle numerose brevi proiezioni che si diramano dal corpo di un neurone (di solito l'assone di un neurone si collega al dendrite di un altro neurone).

De novo – una variante patogena che non è ereditata da nessuno dei due genitori.

Dinamica molecolare – il rapido movimento di parti di una molecola in relazione ad altre parti.

Dominante – una condizione genetica in cui un allele di un gene controlla il fenotipo dell'organismo indipendentemente dall'altro allele (come gli occhi marroni).

Farmaco riproposto (o repurposed) – un farmaco che è stato approvato per la distribuzione commerciale per una malattia ed è efficace nel trattamento di un'altra malattia.

Fibroblasto – un tipo di cellula che si trova in molte parti del corpo ed è facile da usare per creare una linea cellulare.

Guadagno di funzione – un cambiamento che conferisce alla proteina una nuova attività (nel contesto della malattia genetica, la nuova attività è solitamente deleteria per la salute).

Ipotonia – perdita di forza e controllo muscolare.

In silico – un esperimento che si svolge al computer utilizzando dati forniti da un ricercatore.

Knockout (o Inattivazione genica) – rimozione di un gene dal DNA per creare un modello basato su cellule o su animali.

Linea cellulare – una cellula modificata proveniente da un paziente o un animale che vive in un incubatore e può essere moltiplicata più volte per fornire materiale di ricerca per diversi esperimenti. Le linee cellulari possono anche essere congelate e trasferite da un laboratorio all'altro.

Malattia ultra-rara – Una malattia che colpisce meno di 1 su 50.000 persone.

Modello murino condizionale – un topo geneticamente modificato che consente ai ricercatori di controllare dove e quando una variante patogena viene espressa.

Modifica genomica – un metodo per cambiare la sequenza del DNA in un organismo vivente, sia per creare un modello di malattia sia per curare una malattia in un paziente.

Misura di esito – una misurazione utilizzata in uno studio clinico per determinare la gravità della malattia, la progressione o la risposta a un trattamento.

Neutrofilo – un globulo bianco coinvolto nella lotta contro alcuni tipi di infezioni.

Non selettivo – una sostanza che influenza molti bersagli biologici diversi.

Nucleotide – un'unità di DNA o RNA che compone il codice genetico (A, T, G o C nel DNA).

Oligonucleotide antisenso (ASO) – una catena di nucleotidi complementare a una sequenza di RNA o DNA che pertanto si attacca all'RNA o al DNA in un sito specifico.

Perdita di funzione – un cambiamento che rimuove la normale funzione di una proteina (nel contesto della malattia genetica, la perdita è deleteria per la salute).

RNA messaggero o mRNA – un oligonucleotide prodotto da una cellula che contiene le istruzioni per la sintesi di una proteina.

Ruffle dorsale (o dorsal ruffle) – una protrusione a forma di cresta sulla superficie cellulare, ricca di actina.

Sequenziamento dell'intero esoma – un metodo per valutare tutti i geni espressi in un paziente per trovare potenziali varianti patogene. Questo metodo sequenzia solo circa il 2% del genoma e non può valutare le varianti che si trovano al di fuori dei geni espressi, che potrebbero avere effetti sulla salute.

Sequenziamento dell'intero genoma – un metodo per valutare tutto il DNA di un paziente per trovare varianti patogene. Questo metodo è più costoso del sequenziamento dell'intero esoma e i risultati sono più difficili da interpretare.

Sperimentazione clinica interventistica – uno studio clinico in cui viene somministrato un trattamento al paziente per determinare se il trattamento è efficace.

Sperimentazione clinica di Fase 1 – Uno studio clinico che determina la quantità di farmaco sicura da somministrare ai pazienti (a volte eseguito su soggetti sani).

Sperimentazione clinica di Fase 2 – Uno studio clinico che determina quale dose di farmaco è efficace nei pazienti.

Sperimentazione clinica di Fase 3 – Uno studio clinico che determina se un farmaco è idoneo per la distribuzione commerciale.

Stabilità termica – la capacità di una proteina di resistere alla denaturazione in risposta al calore. Questa proprietà di solito cambia quando una sostanza si lega alla proteina, quindi la stabilità termica è un modo relativamente semplice per sottoporre a screening composti per una specifica attività biologica.

Studio di storia naturale – uno studio clinico in cui i dati del paziente vengono raccolti nel tempo senza trattamento (o con un trattamento standard di cura coerente) per raccogliere informazioni su come progredisce abitualmente una malattia.

Terapia di sostituzione genica – un trattamento che fornisce una nuova copia sana di un gene a determinati tessuti in un paziente.

Variante nulla – Una variante genetica che non produce alcuna proteina funzionale (simile alla perdita di funzione).

Variante patogena – Una sequenza alternativa di un gene che provoca una malattia genetica.

Wild type – una sequenza genica priva di varianti deleterie, o un animale che non ha varianti patogene in nessun gene. Questa definizione non è mai assoluta, poiché qualsiasi cambiamento nella sequenza genica può avere un effetto sulla salute dell'animale in determinate condizioni. Ad esempio, entrambi i ceppi murini C57Bl/6J e C57Bl/6N sono considerati wild type, ma il C57Bl/6N presenta una variante in Cyfip2 che influisce sul comportamento di ricerca della ricompensa.

Cronologia della Ricerca su Cyfip2

Il modo più semplice per visualizzare queste pubblicazioni è visitare <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/> e inserire il PMID nella barra di ricerca

1999

Saller E, Tom E, Brunori M, Otter M, Estreicher A, Mack DH, Iggo R.

Increased apoptosis induction by 121F mutant p53.

EMBO J. 1999 Aug 16;18(16):4424-37.

PMID: 10449408

Cyfip2 fu identificato per la prima volta in uno screening di geni influenzati da un fattore di trascrizione mutante chiamato p53. Gli autori chiamarono il gene RNA inducibile da p53 specifico per 121F, o PIR121. Essi non conoscevano la funzione del gene

2000

Spranger S, Rommel B, Jauch A, Bodammer R, Mehl B, Bullerdiek J.

Interstitial deletion of 5q33.3q35.1 in a girl with mild mental retardation.

Am J Med Genet. 2000 Jul 17;93(2):107-9.

PMID: 10869111.

T Questo è un rapporto di caso clinico che identifica una possibile causa di ritardo mentale in una bambina di 4 anni, che presenta ritardo psicomotorio e crisi epilettiche. La regione del cromosoma 5 che risulta deleterizzata contiene Cyfip2, ma non c'è alcuna prova che l'alterazione di Cyfip2 sia la causa dei sintomi della bambina

2001

Schenck A, Bardoni B, Moro A, Bagni C, Mandel JL.
A highly conserved protein family interacting with the fragile X mental retardation protein (FMRP) and displaying selective interactions with FMRP-related proteins FXR1P and FXR2P.
Proc Natl Acad Sci U S A. 2001 Jul 17;98(15):8844-9.
PMID: 11438699

Questo è il primo rapporto scientifico che ha utilizzato il nome Cyfip2. Questo studio di ricerca è nato come una ricerca di proteine associate alla Proteina del Ritardo Mentale dell'X Fragile (FMRP). Essi non hanno assegnato una funzione per Cyfip2 in questo studio, ma lo hanno trovato nei neuroni e, specificamente, vicino alle sinapsi, che collegano i nervi tra loro. FMRP controlla l'RNA messaggero che fornisce le istruzioni per produrre proteine nei neuroni.

2003

Schenck A, Bardoni B, Langmann C, Harden N, Mandel JL, Giangrande A.
CYFIP/Sra-1 controls neuronal connectivity in Drosophila and links the Rac1 GTPase pathway to the fragile X protein.
Neuron. 2003 Jun 19;38(6):887-98.
PMID: 12818175.

Questo follow-up (studio di approfondimento) del paper del 2001 proveniente dallo stesso gruppo ora identifica una funzione per le proteine Cyfip. I moscerini della frutta (Drosophila) possiedono una sola forma di Cyfip. La rimozione di questo gene dai moscerini provoca difetti nelle strutture neuronali chiamate assoni e nelle connessioni tra neuroni chiamate sinapsi. Non hanno esaminato il comportamento dei moscerini.

2010

Chen Z, Borek D, Padrick SB, Gomez TS, Metlagel Z, Ismail AM, Umetani J, Billadeau DD, Otwinowski Z, Rosen MK. Structure and control of the actin regulatory WAVE complex. Nature. 2010 Nov 25;468(7323):533-8.

PMID: 21107423

Il citoscheletro di actina è un complesso di cavi proteici che definiscono la forma della cellula, un po' come i cavi di un ponte sospeso. I cavi cambiano costantemente in base alle necessità della cellula e questo processo deve essere attentamente controllato. Un complesso chiamato Wave Regulatory Complex (WRC) è uno dei controllori del citoscheletro di actina. Questo articolo ha mostrato il modo in cui Cyfip1 (in questo articolo chiamato Sra1) si inserisce nel WRC. Anche Cyfip2, che è molto simile a Cyfip1, si inserisce nel WRC nello stesso modo e svolge lo stesso ruolo nel comunicare tra gli input di segnale e gli output del citoscheletro.

Pittman AJ, Gaynes JA, Chien CB.

nev (cyfip2) is required for retinal lamination and axon guidance in the zebrafish retinotectal system.

Dev Biol. 2010 Aug 15;344(2):784-94.

PMID: 20537992

Gli scienziati che studiano lo sviluppo del sistema nervoso amano usare il pesce zebra perché, come gli esseri umani, sono vertebrati, ma a differenza degli esseri umani, sono trasparenti durante lo sviluppo. Questo studio ha utilizzato un pesce zebra mutante chiamato nevermind in cui i neuroni si sono smarriti durante il percorso verso gli organi bersaglio. Hanno scoperto che il pesce mutante era privo di Cyfip2 e hanno ipotizzato che per consentire ai neuroni di trovare la loro strada fossero necessarie o le azioni di controllo del citoscheletro di actina o le azioni di legame con l'RNA di Cyfip2

2013

Kumar V, Kim K, Joseph C, Kourrich S, Yoo SH, Huang HC, Vitaterna MH, de Villena FP, Churchill G, Bonci A, Takahashi JS.

C57BL/6N mutation in cytoplasmic FMRP interacting protein 2 regulates cocaine response.

Science. 2013 Dec 20;342(6165):1508-12.

PMID: 24357318

Studiando due ceppi di topi da laboratorio strettamente correlati, questi scienziati hanno scoperto che un ceppo rispondeva alla somministrazione ripetuta di cocaina in modo diverso rispetto all'altro. Hanno cercato la differenza tra questi due ceppi e hanno scoperto che quello meno sensibile alla cocaina presentava una forma variante di Cyfip2 che ne diminuiva la stabilità della proteina. Hanno ipotizzato che i cambiamenti nelle connessioni tra i nervi nel cervello fossero responsabili di queste differenze.

2014

Abekhoukh S, Bardoni B.

CYFIP family proteins between autism and intellectual disability: links with Fragile X syndrome.

Front Cell Neurosci. 2014 Mar 27;8:81.

PMID: 24733999

Questo articolo di revisione ipotizza che, poiché Cyfip1 e Cyfip2 possono interagire con FMRP, potrebbero anche essere coinvolti nella disabilità intellettiva o nei disturbi dello spettro autistico. Sebbene non vi siano nuovi dati, l'ipotesi si rivela straordinariamente lungimirante.

2015

Han K, Chen H, Gennarino VA, Richman R, Lu HC, Zoghbi HY. Fragile X-like behaviors and abnormal cortical dendritic spines in cytoplasmic FMR1-interacting protein 2-mutant mice.

Hum Mol Genet. 2015 Apr 1;24(7):1813-23.

PMID: 25432536

Interessati a studiare i partner di FMRP, questi autori hanno generato topi knockout di Cyfip2. I topi privi di entrambe le copie di Cyfip2 non sono sopravvissuti a lungo dopo la nascita, ma i topi privi di una sola copia (e che ne mantenevano una) hanno mostrato iperattività, simile ai topi privi di FMRP. Questi dati suggeriscono fortemente che l'attività di Cyfip2 sia importante per la funzione di FMRP. [È importante notare che un knockout (perdita completa della proteina) può essere molto diverso dall'espressione di una proteina con una variante che ne altera l'attività.]

2018

Marsden KC, Jain RA, Wolman MA, Echeverry FA, Nelson JC, Hayer KE, Miltenberg B, Pereda AE, Granato M.

A Cyfip2-Dependent Excitatory Interneuron Pathway Establishes the Innate Startle Threshold.

Cell Rep. 2018 Apr 17;23(3):878-887.

PMID: 29669291

Cercando i geni che influenzano le risposte delle larve di pesce zebra ai rumori forti, questi autori hanno introdotto mutazioni casuali su tutto il genoma del pesce. Le mutazioni che hanno influenzato la "risposta di soprassalto" ma non la capacità del pesce di sentire il rumore o di muoversi in risposta, includevano un cambiamento in Cyfip2 che ci si aspetta rimuova l'intera funzione della proteina. Il ripristino del gene completo più tardi nel programma di sviluppo del pesce ha riportato la risposta di soprassalto a livelli normali. Il ruolo di Cyfip2 in questa via biologica è probabilmente dovuto alla sua funzione di rimodellamento del citoscheletro di actina

2018

Nakashima M, Kato M, Aoto K, Shiina M, Belal H, Mukaida S, Kumada S, Sato A, Zerem A, Lerman-Sagie T, Lev D, Leong HY, Tsurusaki Y, Mizuguchi T, Miyatake S, Miyake N, Ogata K, Saitsu H, Matsumoto N.

De novo hotspot variants in CYFIP2 cause early-onset epileptic encephalopathy.

Ann Neurol. 2018 Apr;83(4):794-806.

PMID: 29534297.



Traguardo importante:

Un'indagine sulle cause genetiche dell'encefalopatia epilettica in 699 pazienti ha rivelato varianti dell'Arginina 87 in Cyfip2 in 4 individui. L'Arginina è particolarmente suscettibile alla mutazione spontanea perché il codice DNA che codifica per l'arginina è vulnerabile all'alterazione chimica. L'Arginina 87 è prevista per stabilizzare l'interazione di Cyfip2 con WAVE, il che si traduce in un'attività di WAVE che è sempre in posizione "accesa" indipendentemente dalle esigenze cellulari di crescita delle fibre di actina. Infatti, quando la variante Cyfip2 è stata aggiunta alle cellule, ne sono risultate fibre di actina fuori controllo (runaway actin fibers). Questo articolo chiave non solo descrive per la prima volta la sindrome successivamente denominata DEE65, ma suggerisce anche il meccanismo con cui la variante Cyfip2 porta a conseguenze nei neuroni.

2018

Cioni JM, Wong HH, Bressan D, Kodama L, Harris WA, Holt CE.

Axon-Axon Interactions Regulate Topographic Optic Tract Sorting via CYFIP2-Dependent WAVE Complex Function. *Neuron*. 2018 Mar 7;97(5):1078-1093.e6.

PMID: 29518358

In questo articolo, un vero e proprio tour de force tecnologico, gli autori utilizzano metodi di knockout e sostituzione genica in pesci e rane per mostrare che Cyfip2 svolge un ruolo importante nel processo di smistamento degli assoni durante lo sviluppo del sistema nervoso. Dimostrano inoltre che, dei due ruoli distinti attribuiti a Cyfip2, l'interazione con il complesso WRC e i conseguenti effetti sul citoscheletro di actina sono fondamentali per la funzione di smistamento degli assoni, mentre la capacità di legare l'RNA non è necessaria.

Peng J, Wang Y, He F, Chen C, Wu LW, Yang LF, Ma YP, Zhang W, Shi ZQ, Chen C, Xia K, Guo H, Yin F, Pang N. Novel West syndrome candidate genes in a Chinese cohort.

CNS Neurosci Ther. 2018 Dec;24(12):1196-1206.

PMID: 29667327

Un'analisi di 72 pazienti cinesi con sindrome di West (epilessia infantile con ritardo dello sviluppo) ha rivelato 17 geni candidati che probabilmente causano la malattia, tra cui una variante di arginina in cisteina in posizione 87 di Cyfip2.

2019

Zhang Y, Kang HR, Han K.

Differential cell-type-expression of CYFIP1 and CYFIP2 in the adult mouse hippocampus.

Anim Cells Syst (Seoul). 2019 Nov 24;23(6):380-383.

PMID: 31853374

Nonostante la loro somiglianza, è evidente che Cyfip1 e Cyfip2 svolgono ruoli diversi nella biologia. In questo studio gli autori mostrano che le due proteine sono localizzate in tipi cellulari differenti all'interno del cervello, Cyfip1 si trova nei neuroni e negli astrociti in regioni cerebrali specifiche, mentre Cyfip2 è espressa in tutto il cervello, ma solo nei neuroni.

Zhong M, Liao S, Li T, Wu P, Wang Y, Wu F, Li X, Hong S, Yan L, Jiang L.

Early diagnosis improving the outcome of an infant with epileptic encephalopathy with cytoplasmic FMRP interacting protein 2 mutation: Case report and literature review.

Medicine (Baltimore). 2019 Nov;98(44):e17749.

PMID: 31689829

Una bambina in Cina che mostrava sintomi della sindrome di West è stata diagnosticata con DEE65 a seguito di un sequenziamento dell'esoma completo. Presentava una mutazione R87L in Cyfip2.

2019

Zhang Y, Kang H, Lee Y, Kim Y, Lee B, Kim JY, Jin C, Kim S, Kim H, Han K.

Smaller Body Size, Early Postnatal Lethality, and Cortical Extracellular Matrix-Related Gene Expression Changes of Cyfip2-Null Embryonic Mice.

Front Mol Neurosci. 2019 Jan 4;11:482.

PMID: 30687000

Sappiamo da precedenti studi che i topi completamente privi di espressione di Cyfip2 non sopravvivono. Questo studio cerca di determinare perché i topi muoiano poco dopo la nascita. Tuttavia, i cervelli dei topi privi di Cyfip2 appaiono normali utilizzando i metodi impiegati dagli autori, lasciando la domanda ancora senza risposta.



2019

Zweier M, Begemann A, ..., Rauch A.

Spatially clustering de novo variants in CYFIP2, encoding the cytoplasmic FMRP interacting protein 2, cause intellectual disability and seizures.

Eur J Hum Genet. 2019 May;27(5):747-759.

PMID: 30664714



Traguardo importante:

La ricerca sulle malattie rare dipende dalla raccolta di informazioni dal maggior numero possibile di pazienti attraverso studi di storia naturale. Questo primo studio di storia naturale sulla DEE65 descrive 12 pazienti con 8 diverse varianti genetiche. Tutte queste varianti, tranne una, sono localizzate in regioni della proteina che interagiscono con WAVE, e gli autori ipotizzano che tutte queste varianti portino a uno stato di "attivazione permanente" della polimerizzazione dell'actina da parte di WAVE. Una di queste varianti dà origine a una proteina accorciata: la parte mancante non dovrebbe interagire con WAVE, ma con un altro membro del complesso WRC, chiamato NCKAP1. La maggior parte dei pazienti descritti presentava crisi epilettiche e tutti mostravano un ritardo dello sviluppo, nella maggior parte dei casi grave. È importante sottolineare che, fino a questa pubblicazione, tutte le varianti di Cyfip2 che causano DEE65 producono comunque una proteina: ciò significa che la malattia è causata da una funzione alterata di Cyfip2, non da una quantità ridotta della proteina. Questo contrasta con i modelli murini descritti sopra, nei quali le cellule dei topi producono metà della quantità normale della proteina. Non è raro che due patologie diverse derivino da una funzione alterata oppure dalla perdita completa di una proteina, e ciò potrebbe valere anche per Cyfip2, sulla base delle evidenze disponibili finora.

2020

Arisaka A, Nakashima M, Kumada S, Inoue K, Nishida H, Mashimo H, Kashii H, Kato M, Maruyama K, Okumura A, Saitsu H, Matsumoto N, Fukuda M.

Association of early-onset epileptic encephalopathy with involuntary movements - Case series and literature review. *Epilepsy Behav Rep.* 2020 Dec 17;15:100417.

PMID: 33490948

Quattro pazienti con sintomi simili, uno dei quali presentava una variante patogenetica in *Cyfp2*, vengono messi a confronto. Un tipo distintivo di disturbo del movimento, caratterizzato da piccoli movimenti rapidi e ripetitivi (movimenti coreiformi), viene descritto come una caratteristica peculiare della DEE65.

Kim GH, Zhang Y, Kang HR, Lee SH, Shin J, Lee CH, Kang H, Ma R, Jin C, Kim Y, Kim SY, Kwon SK, Choi SY, Lee KJ, Han K.

Altered presynaptic function and number of mitochondria in the medial prefrontal cortex of adult *Cyfp2* heterozygous mice.

Mol Brain. 2020 Sep 11;13(1):123.

PMID: 32917241

I ruoli proposti finora per *Cyfp2* includono l'associazione con la proteina FMRP, che controlla l'RNA, e la partecipazione al complesso WRC, responsabile del rimodellamento del citoscheletro di actina. Questo articolo propone un ulteriore ruolo, regolare la posizione dei mitocondri nel neurone. I mitocondri sono essenziali per molte funzioni neuronali e devono trovarsi in punti specifici della cellula per svolgere tali compiti. Nei topi privi di una copia di *Cyfp2*, il numero di mitocondri presenti nelle estremità dei neuroni è ridotto, e *Cyfp2* è stata identificata come componente degli stessi mitocondri.



2020

Lee Y, Zhang Y, Kang H, Bang G, Kim Y, Kang HR, Ma R, Jin C, Kim JY, Han K.

Epilepsy- and intellectual disability-associated CYFIP2 interacts with both actin regulators and RNA-binding proteins in the neonatal mouse forebrain.

Biochem Biophys Res Commun. 2020 Aug 13;529(1):1-6. PMID: 32560809.

Fino a questo studio, le spiegazioni sull'origine della DEE65 si erano concentrate principalmente sul ruolo di Cyfip2 nel complesso WRC. Tuttavia, Cyfip2 è stata inizialmente identificata come partner della proteina FMRP, che controlla l'RNA. In questo articolo, gli autori hanno esaminato quali proteine si legano a Cyfip2 all'interno delle cellule. Sebbene abbiano effettivamente trovato altri membri del WRC, hanno individuato anche altre proteine leganti l'RNA. Successivamente, hanno testato l'effetto dell'espressione di Cyfip2 sulla formazione di strutture RNA/proteina chiamate stress granules. Hanno osservato che la Cyfip2 wild type è presente negli stress granules, mentre le varianti patogenetiche R87C, R87P e R87L non solo non si associano agli stress granules, ma ne impediscono la formazione. Ciò potrebbe spiegare perché le varianti sull'arginina 87 causino una forma di malattia più grave rispetto alle varianti localizzate in altre regioni di Cyfip2.

2020

Ghosh A, Mizuno K, Tiwari SS, Proitsi P, Gomez Perez-Nievas B, Glennon E, Martinez-Nunez RT, Giese KP.

Alzheimer's disease-related dysregulation of mRNA translation causes key pathological features with ageing. *Transl Psychiatry*. 2020 Jun 16;10(1):192.

PMID: 32546772

Questo articolo propone un potenziale effetto dannoso dell'eliminazione di una copia di *Cyfp2*, poiché i topi con una sola copia rimanente sviluppavano una patologia simile alla malattia di Alzheimer. Tuttavia, è importante notare che il ceppo murino utilizzato per generare questi topi era C57BL/6N, che presenta una variante in *Cyfp2* che rende la proteina meno stabile. Questi risultati non dovrebbero essere confrontati direttamente con la precedente caratterizzazione dei topi eterozigoti knockout per *Cyfp2*, che era stata eseguita utilizzando il ceppo C57BL/6J.

Schaks M, Reinke M, Witke W, Rottner K.

Molecular Dissection of Neurodevelopmental Disorder-Causing Mutations in *CYFIP2*.

Cells. 2020 May 29;9(6):1355

PMID: 32486060

Sebbene i ricercatori avessero già ipotizzato che le varianti di *Cyfp2* che causano DEE65 attivassero in modo inappropriato WAVE, questa ipotesi non era mai stata testata direttamente. In questo articolo, gli autori hanno utilizzato un saggio cellulare chiamato formazione di lamellipodi per dimostrare che, mentre la *Cyfp2* wild type non può aggirare il "pulsante di attivazione" della polimerizzazione dell'actina, le varianti che causano DEE65 possono farlo. La variante tronca descritta nello studio di storia naturale non mostrava la stessa attività, suggerendo che essa provochi disabilità intellettiva tramite un meccanismo diverso. Un altro risultato importante presentato in questo articolo è lo sviluppo di un saggio cellulare utile per identificare potenziali terapie. Sebbene la misurazione dei lamellipodi nelle cellule non sia semplice, questo tipo di saggio potrebbe costituire la base per uno screening ad alta processività, con alcune modifiche.



2021

Begemann A, Sticht H, Begtrup A, Vitobello A, Faivre L, Banka S, Alhaddad B, Asadollahi R, Becker J, Bierhals T, Brown KE, Bruel AL, Brunet T, Carneiro M, Cremer K, Day R, Denommé-Pichon AS, Dymont DA, Engels H, Fisher R, Goh ES, Hajianpour MJ, Haertel LRM, Hauer N, Hempel M, Herget T, Johannsen J, Kraus C, Le Guyader G, Lesca G, Mau-Them FT, McDermott JH, McWalter K, Meyer P, Öunap K, Popp B, Reimand T, Riedhammer KM, Russo M, Sadleir LG, Saenz M, Schiff M, Schuler E, Syrbe S, Van der Ven AT, Verloes A, Willems M, Zweier C, Steindl K, Zweier M, Rauch A.

New insights into the clinical and molecular spectrum of the novel CYFIP2-related neurodevelopmental disorder and impairment of the WRC-mediated actin dynamics. *Genet Med.* 2021 Mar;23(3):543-554.

PMID: 33149277

A dimostrazione della forza della collaborazione tra pazienti, caregiver e comunità scientifica, questo completo studio di storia naturale rappresenta un importante avanzamento rispetto al rapporto del 2018, includendo altri 16 pazienti con varianti missenso e 3 con sospetta perdita di funzione. Sono state descritte 11 nuove varianti, oltre a tre ulteriori pazienti con Arg87Cys. Tutti i pazienti mostravano ritardo dello sviluppo e metà di essi presentava crisi epilettiche. I tre pazienti con varianti a perdita di funzione avevano una manifestazione clinica meno grave, e non è escluso che le varianti Cyfip2 non fossero la causa dei loro sintomi. I fibroblasti dei pazienti sono stati coltivati e il citoscheletro di actina è stato analizzato. Le cellule dei pazienti mostravano una riduzione della presenza di una struttura chiamata dorsal ruffle.

2022

Biembengut ÍV, Shigunov P, Frota NF, Lourenzoni MR, de Souza TACB.

Molecular Dynamics of CYFIP2 Protein and Its R87C Variant Related to Early Infantile Epileptic Encephalopathy.

Int J Mol Sci. 2022 Aug 5;23(15):8708.

PMID: 35955843

Uno studio di cristallografia a raggi X ha stabilito la struttura del WRC) che includeva Cyfip1. La somiglianza tra Cyfip1 e Cyfip2 è sufficiente affinché questi autori creassero un modello informatico simulato del WRC contenente Cyfip2 di wild type e varianti che causano la DEE65. Secondo queste simulazioni, la sostituzione dell'Arginina 87 con la cisteina (cysteine) si traduce in una destabilizzazione di un'importante sottostruttura di Cyfip2.

Chaya T, Ishikane H, Varner LR, Sugita Y, Maeda Y, Tsutsumi R, Motooka D, Okuzaki D, Furukawa T.

Deficiency of the neurodevelopmental disorder-associated gene Cyfip2 alters the retinal ganglion cell properties and visual acuity.

Hum Mol Genet. 2022 Feb 21;31(4):535-547.

PMID: 34508581

Precedenti studi di storia naturale hanno dimostrato che più della metà dei pazienti affetti da DEE65 presenta problemi visivi. Utilizzando un ceppo di topo che non è in grado di esprimere Cyfip2 nella retina (topi knockout condizionali), questi autori dimostrano che, sebbene le retine appaiano normali e rispondano allo stesso modo alla luce indipendentemente dal fatto che esprimano Cyfip2 o meno, i topi senza Cyfip2 nelle loro retine presentano alcuni cambiamenti nell'espressione genica retinica e alcune differenze nella loro capacità di tracciare il movimento con gli occhi.

2022

Panthi S, szyszka P, beck CW

expression of mRNA encoding two gain-of-function cyfip2 variants associated with Dee65 results in spontaneous seizures in xenopus laevis tadpoles

biorxiv preprint, 2022

<https://www.biorxiv.org/content/10.1101/2022.12.07.519540v1.full.pdf>

Questo rapporto descrive un modello vertebrato potenzialmente prezioso per la DEE65. Le rane artigliate africane (*Xenopus laevis*) sono un importante strumento di ricerca. Questi ricercatori hanno iniettato embrioni di rana con RNA messaggero che codificava o per il Cyfip2 di wild type o per due diverse varianti patogene di Cyfip2. I girini schiusi dalle uova a cui era stata somministrata la variante patogena hanno mostrato attività convulsiva spontanea.

Limaye AJ, Bendzunas GN, Whittaker MK, LeClair TJ, Helton LG, Kennedy EJ.

In Silico Optimized Stapled Peptides Targeting WASF3 in Breast Cancer.

ACS Med Chem Lett. 2022 Mar 8;13(4):570-576.

PMID: 35450347

Cyfip2 è stato identificato per la prima volta come una proteina associata alla progressione del cancro. Questi ricercatori hanno sviluppato un farmaco che si lega a Cyfip2 e ne interrompe la funzione nel WRC. Questo approccio potrebbe avere un beneficio terapeutico nei pazienti affetti da DEE65

2023

Salokivi T, Parkkola R, Rajendran Y, Bharadwaj T, Acharya A, Leal SM, Järvelä I, Arvio M, Schrauwen I.

A novel variant in CYFIP2 in a girl with severe disabilities and bilateral perisylvian polymicrogyria.

Am J Med Genet A. 2024 Apr;194(4):e63478.

PMID: 37975178

Questo rapporto descrive una ragazza con una nuova variante patogena in Cyfip2, Valina 551 Leucina, che causa un insieme di sintomi distinto ma sovrapposto rispetto alle varianti di DEE65 descritte fino ad oggi.

Silva ILZ, Gomes-Júnior R, da Silva EB, Vaz IM, Jamur VR, de Freitas Souza BS, Shigunov P.

Generation of an induced pluripotent stem cell line from a patient with epileptic encephalopathy caused by the CYFIP2 R87C variant.

Hum Cell. 2023 Nov;36(6):2237-2246

PMID: 37646972.

I modelli basati su cellule sono uno strumento importante nello studio di qualsiasi malattia, ma sono particolarmente cruciali per le malattie rare. In questo rapporto, sono state raccolte cellule da un campione di urina di un paziente e riprogrammate in cellule staminali pluripotenti indotte. Queste cellule possono quindi essere utilizzate per esaminare l'effetto di questa specifica variante patogena (R87C) sulla funzione di tipi cellulari rilevanti, come i neuroni.



2023

Ma R, Zhang Y, Li H, Kang HR, Kim Y, Han K.
Cell-autonomous reduction of CYFIP2 is insufficient to induce Alzheimer's disease-like pathologies in the hippocampal CA1 pyramidal neurons of aged mice. *Anim Cells Syst* (Seoul). 2023 Mar 24;27(1):93-101. PMID: 36999135

I topi privi di una sola copia di Cyfip2 fin dal concepimento sviluppano, con l'invecchiamento, caratteristiche simili alla malattia di Alzheimer. Questo rapporto mostra che se Cyfip2 viene completamente rimosso dopo la nascita dei topi, tali patologie della malattia di Alzheimer non si manifestano. Questo studio suggerisce che Cyfip2 svolga un ruolo importante durante lo sviluppo prenatale, ma possibilmente un ruolo diverso dopo la nascita.

Da Silva Cardoso J, Gomes R, Abreu M, Parente Freixo J, Falcão Reis C, Garrido C.
Clinical Role of Codon 87 of the CYFIP2 Gene in Early Infantile Epileptic Encephalopathy: A Clinical Case Description. *Cureus*. 2023 Feb 22;15(2):e35323 PMID: 36968925

Questo studio di caso clinico rivela una nuova causa molecolare della DEE65, ovvero una delezione di tre amminoacidi, inclusa l'R87. La presentazione della malattia è simile a quella dei pazienti portatori di una variante missense come la Arg87Cys.

2023

Kang M, Zhang Y, Kang HR, Kim S, Ma R, Yi Y, Lee S, Kim Y, Li H, Jin C, Lee D, Kim E, Han K.
CYFIP2 p.Arg87Cys Causes Neurological Defects and Degradation of CYFIP2.
Ann Neurol. 2023 Jan;93(1):155-163
PMID: 36251395.

Strumento di Ricerca Importante:



Lo sviluppo di trattamenti per le malattie dipende dai modelli di ricerca, idealmente modelli animali vivi, e poiché la nostra comprensione della genetica murina è molto più avanzata rispetto ad altri mammiferi, gli scienziati tendono a generare prima i modelli murini.

Questi autori hanno utilizzato uno strumento di modifica genetica per cambiare una copia del gene *Cyfp2* in un topo (hanno usato il ceppo C57BL/6N) nella variante Arg87Cys. I topi sono cresciuti fino all'età adulta ma con peso corporeo e forza ridotti. Hanno mostrato segni di problemi neurologici e hanno esibito un livello di attività superiore al normale. I topi hanno anche mostrato comportamenti che indicano una sindrome simile all'autismo. Subito dopo la nascita, i topi hanno manifestato spasmi epilettici spontanei, ma questi spasmi sono scomparsi man mano che i topi invecchiavano. I ricercatori hanno indotto crisi epilettiche iniettando un farmaco chiamato PTZ, e i topi Arg87Cys hanno mostrato una maggiore tendenza a reagire.

Kang M, Zhang Y, Kang HR, Kim S, Ma R, Yi Y, Lee S, Kim Y, Li H, Jin C, Lee D, Kim E, Han K.

CYFIP2 p.Arg87Cys Causes Neurological Defects and Degradation of CYFIP2.

Ann Neurol. 2023 Jan;93(1):155-163

PMID: 36251395.

(continuato)

Alcuni cambiamenti nella struttura del cervello nei topi Arg87Cys hanno suggerito una diminuzione dell'organizzazione delle parti del cervello e un aumento dell'infiammazione che progrediva con l'età. Il livello di Cyfip2 stesso era diminuito, confermando un precedente rapporto secondo cui le proteine varianti sono meno stabili.

Nel complesso, questo modello animale mostra un'eccellente correlazione con la malattia umana e sarebbe un valido strumento di ricerca per la creazione di nuove terapie. Il ceppo di topo utilizzato presenta una forma di Cyfip2 meno stabile (Ser968Phe), quindi sarebbe importante ripetere questo studio utilizzando il ceppo C57BL/6J con la forma più stabile della proteina.

2023

Poke G, Stanley J, Scheffer IE, Sadleir LG.
Epidemiology of Developmental and Epileptic
Encephalopathy and of Intellectual Disability and
Epilepsy in Children.

Neurology. 2023 Mar 28;100(13):e1363-e1375

PMID: 36581463

Sebbene sia difficile stabilire la prevalenza di una malattia rara, questi autori tentano di calcolare la frequenza della DEE in una popolazione scozzese.

2024

Deslauriers JC, Ghotkar RP, Russ LA, Jarman JA, Martin RM, Tippet RG, Sumathipala SH, Burton DF, Cole DC, Marsden KC.

Cyfip2 controls the acoustic startle threshold through FMRP, actin polymerization, and GABAB receptor function. bioRxiv [Preprint]. 2024 Feb 5:2023.12.22.573054.

PMID: 38187577

Cyfip2 svolge due funzioni principali in biologia: la partecipazione al WRC per controllare la polimerizzazione dell'actina e il legame con FMRP per sopprimere la traduzione dell'RNA. Fino a questo punto, l'attività WRC di Cyfip2 ha spiegato tutti gli effetti noti della mutazione o perdita di Cyfip2. In questo rapporto, che espande uno studio precedente sulla risposta di soprassalto nelle larve di pesce zebra, entrambe le attività biologiche si uniscono per la prima volta. Sia i mutanti di Cyfip2 che non sono in grado di legare il regolatore WRC Rac1, sia i mutanti che non possono legare FMRP, sono entrambi incapaci di ripristinare la normale funzione nei pesci privi di Cyfip2. Una funzione di Cyfip2 in questo contesto è l'attivazione di un recettore neurotrasmettitore chiamato GABA_B, e quando GABA_B viene attivato da un farmaco chiamato Baclofen, la risposta di soprassalto normale viene ripristinata.

2024

Venturi Biembengut Í, de Castro Andreassa E, de Souza TACB.

Identification of CYFIP2 Arg87Cys Ligands via In Silico and In Vitro Approaches.

Biomedicines. 2024 Feb 21;12(3):479.

PMID: 38540093

Sviluppo Terapeutico:



Fino a questo punto, tutta la ricerca sulla DEE65 è stata volta alla comprensione della biologia alla base della malattia. La presenza di una variante patogena nella proteina Cyfip2 crea una versione di Cyfip2 che è meno stabile e meno capace di controllare l'attività della proteina WAVE, la quale attiva la polimerizzazione dell'actina nei neuroni in punti in cui non dovrebbe essere polimerizzata. Con questa conoscenza, gli autori di questo studio hanno cercato composti chimici che potessero legarsi alla forma Arg87Cys di Cyfip2 e stabilizzarla, limitando così la funzione patogena. Poiché la DEE65 è una malattia ultra-rara, è improbabile che un'azienda farmaceutica spenda miliardi di dollari e decenni per sviluppare un nuovo farmaco; pertanto, in questo caso, è meglio riproporre (repurpose) un farmaco che sia già stato approvato per l'uso umano. Per questo motivo, gli autori hanno utilizzato una serie di composti già usati per trattare l'epilessia come set di screening iniziale e hanno poi ampliato il test ad altri farmaci che sono stati usati sugli esseri umani (anche se non necessariamente approvati).

Venturi Biembengut Í, de Castro Andreassa E,
de Souza TACB.
Identification of CYFIP2 Arg87Cys Ligands via In
Silico and In Vitro Approaches.
Biomedicines. 2024 Feb 21;12(3):479.
PMID: 38540093

(continuato)

Utilizzando una tecnica chiamata docking molecolare, gli autori hanno trovato un elenco di 11 composti che si prevede si leghino preferenzialmente a Cyfip2 Arg87Cys rispetto alla proteina di wild type. Quando un composto si lega a una proteina, può modificarne la stabilità, che può essere misurata riscaldando il campione proteico e osservando se si denatura e diventa insolubile. Utilizzando una coltura cellulare per produrre Cyfip2, è stato riscontrato che gli 8 composti più promettenti stabilizzavano Cyfip2 Arg87Cys, dimostrando che essi potrebbero legarsi selettivamente alla forma patogena.

I passaggi successivi per testare questi composti come potenziali trattamenti sono cruciali. È necessario confermare che i composti abbiano un effetto stabilizzante su Cyfip2 Arg87Cys, che questa stabilizzazione abbia un effetto sulla funzione patogena della proteina e che l'alterazione della funzione patogena in questo modo abbia un effetto positivo sui sintomi della malattia in un modello di malattia, come il topo.

Essendo la prima dimostrazione di un potenziale trattamento per la DEE65, questo articolo rappresenta una transizione della ricerca su questa malattia verso una nuova fase.



2024

Xie S, Zuo K, De Rubeis S, Ruggerone P, Carloni P. Molecular basis of the CYFIP2 and NCKAP1 autism-linked variants in the WAVE regulatory complex. Protein Sci. 2025 Jan;34(1):e5238. PMID: 39660913

Utilizzando un metodo computazionale rigoroso, gli autori esaminano l'effetto di ciascuna variante che causa la DEE65 sulla struttura di Cyfip2 e sulla sua interazione con gli altri membri del WRC. Essi confermano che tutte le varianti che causano la malattia compromettono anche la funzione di Cyfip2 nel controllare la funzione di WAVE.

Hecker J, Conecker G, Chapman C, Hommer R, Ludwig NN, Sevinc G, Te S, Wojnaroski M, Downs J, Berg AT.

Patient-advocate-led global coalition adapting fit-for-purpose outcomes measures to assure meaningful inclusion of DEEs in clinical trials.

Ther Adv Rare Dis. 2024 Jun 22;18:26330040241249762 PMID: 38911512

Descrive l'Inchstone Project e i risultati del lavoro sullo sviluppo di nuove misure di esito per le DEE.



2025

Kim HG, Berdasco C, Nairn AC, Kim Y.
The WAVE complex in developmental and adulthood
brain disorders.
Exp Mol Med. 2025 Feb;57(1):13-29.
PMID: 39774290

Questo articolo di review delinea i paralleli tra le varianti che causano malattie in WAVE1, NCKAP1, Cyfip2 e altri membri del WRC e vie correlate. Fornisce anche un background sulle vie "a monte" che regolano il WRC, alcune delle quali potrebbero rappresentare bersagli terapeutici promettenti per la DEE65.

Ma R, Kim US, Chung Y, Kang HR, Zhang Y, Han K.
Recent advances in CYFIP2-associated
neurodevelopmental disorders: From human genetics
to molecular mechanisms and mouse models.
Brain Dev. 2025 Feb;47(1):104302.
PMID: 39603202.

Una eccellente review della letteratura recente che mostra le differenze tra il knockout completo, il knockout parziale e la sostituzione con Arg87Cys di Cyfip2, e ipotizza che diverse varianti patogene possano avere un impatto su funzioni distinte di Cyfip2 e sui sintomi della malattia.

Riferimenti

Amato, M. E., Frías, M., Cerisola, A., Roldán, M., & Ortigoza-Escobar, J. D. (2025). Novel CYFIP2 Frameshift Variant Linked to Dyskinetic Crises: Functional Studies Show Impaired Cell Motility. *Clinical Genetics*, n/a(n/a).
<https://doi.org/https://doi.org/10.1111/cge.14774>

Arisaka, A., Nakashima, M., Kumada, S., Inoue, K., Nishida, H., Mashimo, H., Kashii, H., Kato, M., Maruyama, K., Okumura, A., Saitsu, H., Matsumoto, N., & Fukuda, M. (2021). Association of early-onset epileptic encephalopathy with involuntary movements – Case series and literature review. *Epilepsy and Behavior Reports*, 15.
<https://doi.org/10.1016/j.ebr.2020.100417>

Begemann, A., Sticht, H., Begtrup, A., Vitobello, A., Faivre, L., Banka, S., Alhaddad, B., Asadollahi, R., Becker, J., Bierhals, T., Brown, K. E., Bruel, A.-L., Brunet, T., Carneiro, M., Cremer, K., Day, R., Denommé-Pichon, A.-S., Dymont, D. A., Engels, H., ... Rauch, A. (2021). New insights into the clinical and molecular spectrum of the novel CYFIP2-related neurodevelopmental disorder and impairment of the WRC-mediated actin dynamics. *Genetics in Medicine*, 3(23), 543–554. <https://doi.org/10.1038/s41436>

Biembengut, Í. V., Shigunov, P., Frota, N. F., Lourenzoni, M. R., & de Souza, T. A. C. B. (2022). Molecular Dynamics of CYFIP2 Protein and Its R87C Variant Related to Early Infantile Epileptic Encephalopathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15).
<https://doi.org/10.3390/ijms23158708>

Chan, R., Orevillo, C., O'Connell, G., McLin, D., Polega, S., Srinivas, N. R., & Kaye, R. (2025). Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Food Effect of Bexicaserin in Healthy Participants: A First-in-Human Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Single Ascending Dose Escalation Phase 1 Study. *Clinical Pharmacology in Drug Development*. <https://doi.org/10.1002/cpdd.1600>

Chen, Z., Borek, D., Padrick, S. B., Gomez, T. S., Metlagel, Z., Ismail, A. M., Umetani, J., Billadeau, D. D., Otwinowski, Z., & Rosen, M. K. (2010). Structure and control of the actin regulatory WAVE complex. *Nature*, 468(7323), 533–538.
<https://doi.org/10.1038/nature09623>

Cioni, J. M., Wong, H. H. W., Bressan, D., Kodama, L., Harris, W. A., & Holt, C. E. (2018). Axon-Axon Interactions Regulate Topographic Optic Tract Sorting via CYFIP2-Dependent WAVE Complex Function. *Neuron*, 97(5), 1078-1093.e6.
<https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.01.027>

Conroy, F., Miller, R., Alterman, J. F., Hassler, M. R., Echeverria, D., Godinho, B. M. D. C., Knox, E. G., Sapp, E., Sousa, J., Yamada, K., Mahmood, F., Boudi, A., Kegel-Gleason, K., DiFiglia, M., Aronin, N., Khvorova, A., & Pfister, E. L. (2022). Chemical engineering of therapeutic siRNAs for allele-specific gene silencing in Huntington's disease models. *Nature Communications*, 13(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-022-33061-x>

Da Silva Cardoso, J., Gomes, R., Abreu, M., Parente Freixo, J., Falcão Reis, C., & Garrido, C. (2023). Clinical Role of Codon 87 of the CYFIP2 Gene in Early Infantile Epileptic Encephalopathy: A Clinical Case Description. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.35323>

de Góes, F. V., de Andrade Ramos, J. T. M., da Silva Fontana, R., de Carvalho Serão, C. L., Kok, F., & Gandelman Horovitz, D. D. (2022). Cannabidiol Successful Therapy for Developmental and Epileptic Encephalopathy Related to CYFIP2. *The Open Neurology Journal*, 16(1). <https://doi.org/10.2174/1874205x-v16-e2203290>

DeRubeis, S., Pasciuto, E., Li, K. W., Fernández, E., DiMarino, D., Buzzi, A., Ostroff, L. E., Klann, E., Zwartkruis, F. J. T., Komiyama, N. H., Grant, S. G. N., Poujol, C., Choquet, D., Achsel, T., Posthuma, D., Smit, A. B., & Bagni, C. (2013). CYFIP1 coordinates mRNA translation and cytoskeleton remodeling to ensure proper dendritic Spine formation. *Neuron*, 79(6), 1169–1182. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.06.039>

Downs, J., Haywood, S., Ludwig, N. N., Wojnaroski, M., Hommer, R., Muzyczka, K., Hecker, J. E., Conecker, G., Keeley, J., & Berg, A. T. (2025). Caregiver-reported meaningful change in functional domains for individuals with developmental and epileptic encephalopathy: A convergent mixed-methods design. *Developmental Medicine and Child Neurology*. <https://doi.org/10.1111/dmcn.16363>

Han, K., Chen, H., Gennarino, V. A., Richman, R., Lu, H. C., & Zoghbi, H. Y. (2014). Fragile X-like behaviors and abnormal cortical dendritic spines in Cytoplasmic FMR1-interacting protein 2-mutant mice. *Human Molecular Genetics*, 24(7), 1813–1823. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddu595>

Hartmann, M. C., McCulley, W. D., Holbrook, S. E., Haney, M. M., Smith, C. G., Kumar, V., & Rosenwasser, A. M. (2023). Cyfip2 allelic variation in C57BL/6J and C57BL/6NJ mice alters free-choice ethanol drinking but not binge-like drinking or wheel-running activity. *Alcohol: Clinical and Experimental Research*, 47(8), 1518–1529. <https://doi.org/10.1111/acer.15137>

Hecker, J. E., Conecker, G., Chapman, C., Hommer, R., Ludwig, N. N., Sevinc, G., Te, S., Wojnaroski, M., Downs, J., & Berg, A. T. (2024). Patient-advocate-led global coalition adapting fit-for-purpose outcomes measures to assure meaningful inclusion of DEEs in clinical trials. In *Therapeutic Advances in Rare Disease* (Vol. 18). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/26330040241249762>

Kang, M., Zhang, Y., Kang, H. R., Kim, S., Ma, R., Yi, Y., Lee, S., Kim, Y., Li, H., Jin, C., Lee, D., Kim, E., & Han, K. (2023). CYFIP2 p.Arg87Cys Causes Neurological Defects and Degradation of CYFIP2. *Annals of Neurology*, 93(1), 155–163.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/ana.26535>

Kim, G. H., Zhang, Y., Kang, H. R., Lee, S. H., Shin, J., Lee, C. H., Kang, H., Ma, R., Jin, C., Kim, Y., Kim, S. Y., Kwon, S. K., Choi, S. Y., Lee, K. J., & Han, K. (2020). Altered presynaptic function and number of mitochondria in the medial prefrontal cortex of adult Cyfip2 heterozygous mice. *Molecular Brain*, 13(1).
<https://doi.org/10.1186/s13041-020-00668-4>

Kim, Y., Ma, R., Zhang, Y., Kang, H. R., Kim, U. S., & Han, K. (2024). Cell-autonomous reduction of CYFIP2 changes dendrite length, dendritic protrusion morphology, and inhibitory synapse density in the hippocampal CA1 pyramidal neurons of 17-month-old mice. *Animal Cells and Systems*, 28(1), 294–302.
<https://doi.org/10.1080/19768354.2024.2360740>

Ko, A., Jung, D. E., Kim, S. H., Kang, H. C., Lee, J. S., Lee, S. T., Choi, J. R., & Kim, H. D. (2018). The efficacy of ketogenic diet for specific genetic mutation in developmental and epileptic encephalopathy. *Frontiers in Neurology*, 9(JUL).
<https://doi.org/10.3389/fneur.2018.00530>

Kumar, V., Kim, K., Joseph, C., Kourrich, S., Yoo, S. H., Huang, H. C., Vitaterna, M. H., De Villena, F. P. M., Churchill, G., Bonci, A., & Takahashi, J. S. (2013). C57BL/6N mutation in cytoplasmic FMRP interacting protein 2 regulates cocaine response. *Science*, 342(6165), 1508–1512. <https://doi.org/10.1126/science.1245503>

Lattanzi, S., Trinka, E., Striano, P., Rocchi, C., Salvemini, S., Silvestrini, M., & Brigo, F. (2021). Highly Purified Cannabidiol for Epilepsy Treatment: A Systematic Review of Epileptic Conditions Beyond Dravet Syndrome and Lennox–Gastaut Syndrome. In *CNS Drugs* (Vol. 35, Issue 3, pp. 265–281). Adis. <https://doi.org/10.1007/s40263-021-00807-y>

Limaye, A. J., Bendzunas, G. N., Whittaker, M. K., Leclair, T. J., Helton, L. G., & Kennedy, E. J. (2022). In Silico Optimized Stapled Peptides Targeting WASF3 in Breast Cancer. *ACS Medicinal Chemistry Letters*, 13(4), 570–576.
<https://doi.org/10.1021/acsmchemlett.1c00627>

Marsden, K. C., Jain, R. A., Wolman, M. A., Echeverry, F. A., Nelson, J. C., Hayer, K. E., Miltenberg, B., Pereda, A. E., & Granato, M. (2018). A Cyfip2-Dependent Excitatory Interneuron Pathway Establishes the Innate Startle Threshold. *Cell Reports*, 23(3), 878–887. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2018.03.095>

Nakashima, M., Kato, M., Aoto, K., Shiina, M., Belal, H., Mukaida, S., Kumada, S., Sato, A., Zerem, A., Lerman-Sagie, T., Lev, D., Leong, H. Y., Tsurusaki, Y., Mizuguchi, T., Miyatake, S., Miyake, N., Ogata, K., Saitsu, H., & Matsumoto, N. (2018). De novo hotspot variants in CYFIP2 cause early-onset epileptic encephalopathy. *Annals of Neurology*, 83(4), 794–806. <https://doi.org/10.1002/ana.25208>

Panthi, S., Szyszkka, P., & Beck, C. W. (2022). Expression of mRNA encoding two gain-of-function cyfip2 variants associated with DEE65 results in spontaneous seizures in *Xenopus laevis* tadpoles. <https://doi.org/10.1101/2022.12.07.519540>

Peng, J., Wang, Y., He, F., Chen, C., Wu, L. W., Yang, L. F., Ma, Y. P., Zhang, W., Shi, Z. Q., Chen, C., Xia, K., Guo, H., Yin, F., & Pang, N. (2018). Novel West syndrome candidate genes in a Chinese cohort. *CNS Neuroscience and Therapeutics*, 24(12), 1196–1206. <https://doi.org/10.1111/cns.12860>

Pittman, A. J., Gaynes, J. A., & Chien, C. Bin. (2010). Nev (cyfip2) is required for retinal lamination and axon guidance in the zebrafish retinotectal system. *Developmental Biology*, 344(2), 784–794. <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2010.05.512>

Poke, G., Stanley, J., Scheffer, I. E., & Sadleir, L. G. (2023). Epidemiology of Developmental and Epileptic Encephalopathy and of Intellectual Disability and Epilepsy in Children. *Neurology*, 100(13), E1363–E1375. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000206758>

Saller, E., Tom, E., Brunori, M., Le Otter, M., Estreicher, A., Mack, D. H., & Iggo, R. (1999). Increased apoptosis induction by 121F mutant p53. In *The EMBO Journal* (Vol. 18, Issue 16).

Salokivi, T., Parkkola, R., Rajendran, Y., Bharadwaj, T., Acharya, A., Leal, S. M., Järvelä, I., Arvio, M., & Schrauwen, I. (2024). A novel variant in CYFIP2 in a girl with severe disabilities and bilateral perisylvian polymicrogyria. *American Journal of Medical Genetics, Part A*, 194(4). <https://doi.org/10.1002/ajmg.a.63478>

Samanta, D., Bhatia, S., Hunter, S. E., Rao, C. K., Xiong, K., Karakas, C., Reeders, P. C., Erdemir, G., Sattar, S., Axeen, E., Sandoval Karamian, A. G., Fine, A. L., Keator, C. G., Nolan, D., & Schreiber, J. M. (2025). Current and Emerging Precision Therapies for Developmental and Epileptic Encephalopathies. In *Pediatric Neurology* (Vol. 168, pp. 67–81). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pediatrneurol.2025.04.010>

Scheffer, I. E., French, J., Valente, K. D., Auvin, S., Cross, J. H., & Specchio, N. (2025). Operational definition of developmental and epileptic encephalopathies to underpin the design of therapeutic trials. *Epilepsia*, 66(4), 1014–1023. <https://doi.org/10.1111/epi.18265>

Schenck, A., Bardoni, B., Langmann, C., Harden, N., Mandel, J.-L., & Giangrande, A. (2003). CYFIP/Sra-1 Controls Neuronal Connectivity in *Drosophila* and Links the Rac1 GTPase Pathway to the Fragile X Protein the postsynaptic site of most excitatory synapses in mammalian brains (for review see Luo, 2002). Fragile X syndrome, the most frequent cause of hereditary mental retardation, is caused by the absence of the RNA binding protein FMRP (for review see Bardoni. In *Neuron* (Vol. 38).

Schenck, A., Bardoni, B., Moro, A., Bagni, C., & Mandel, J.-L. (2001). A highly conserved protein family interacting with the fragile X mental retardation protein (FMRP) and displaying selective interactions with FMRP-related proteins FXR1P and FXR2P. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA*, 15(98), 8844–8849. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.151231598

Sharma, S., & Tripathi, M. (2013). Ketogenic Diet in Epileptic Encephalopathies. *Epilepsy Research and Treatment*, 2013, 1–5. <https://doi.org/10.1155/2013/652052>

Soto-Insuga, V., Conejo Moreno, D., González-Alguacil, E., Aledo Serrano, A., Navarro Abia, V., Gretel Pinzón-Acevedo, A., Lamagrande Casanova, N., Duat Rodríguez, A., Cantarín Extremera, V., & García Peñas, J. J. (2025). Fenfluramine: an effective treatment for developmental epileptic encephalopathies beyond Dravet and Lennox–Gastaut Syndromes. *Journal of Neurology*, 272(6), 397. <https://doi.org/10.1007/s00415-025-13135-8>

Stone, A., Burré, J., Wayland, N., & Grinspan, Z. M. (2025). Phenylbutyrate for monogenetic epilepsy: Literature review. *Epilepsy Research*, 217, 107621. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.eplepsyres.2025.107621>

Symonds, J. D., Elliott, K. S., Shetty, J., Armstrong, M., Brunklaus, A., Cutcutache, I., Diver, L. A., Dorris, L., Gardiner, S., Jollands, A., Joss, S., Kirkpatrick, M., McLellan, A., MacLeod, S., O'Regan, M., Page, M., Pilley, E., Pilz, D. T., Stephen, E., ... Zuberi, S. M. (2021). Early childhood epilepsies: Epidemiology, classification, aetiology, and socio-economic determinants. *Brain*, 144(9), 2879–2891. <https://doi.org/10.1093/brain/awab162>

Tecott, L. H., Sun, L. M., Akana, S. F., Strack, A. M., Lowenstein, D. H., Dallman, M. F., & Julius, D. (1995). Eating disorder and epilepsy in mice lacking 5-HT_{2C} serotonin receptors. *Nature*, 374(6522), 542–546. <https://doi.org/10.1038/374542a0>

Venturi Biembengut, Í., de Castro Andreassa, E., & de Souza, T. A. C. B. (2024). Identification of CYFIP2 Arg87Cys Ligands via In Silico and In Vitro Approaches. *Biomedicines*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/biomedicines12030479>

Zhang, Y., Kang, H., Lee, Y., Kim, Y., Lee, B., Kim, J. Y., Jin, C., Kim, S., Kim, H., & Han, K. (2019). Smaller body size, early postnatal lethality, and cortical extracellular matrix-related gene expression changes of *Cyfp2*-null embryonic mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 11. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2018.00482>

Zhang, Y., Kang Hyae, R., Lee, S. H., Kim, Y., Ma, R., Jin, C., Lim, J. E., Kim, S., Kang, Y., Kang, H., Kim, S. Y., Kwon, S. K., Choi, S. Y., & Han, K. (2020). Enhanced Prefrontal Neuronal Activity and Social Dominance Behavior in Postnatal Forebrain Excitatory Neuron-Specific Cyfip2 Knock-Out Mice. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, 13. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.574947>

Zhong, M., Liao, S., Li, T., Wu, P., Wang, Y., Wu, F., Li, X., Hong, S., Yan, L., & Jiang, L. (2019). Early diagnosis improving the outcome of an infant with epileptic encephalopathy with cytoplasmic FMRP interacting protein 2 mutation: Case report and literature review. *Medicine*, 98(44), e17749. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000017749>

Zweier, M., Begemann, A., McWalter, K., Cho, M. T., Abela, L., Banka, S., Behring, B., Berger, A., Brown, C. W., Carneiro, M., Chen, J., Cooper, G. M., Finnila, C. R., Guillen Sacoto, M. J., Henderson, A., Hüffmeier, U., Joset, P., Kerr, B., Lesca, G., ... Rauch, A. (2019). Spatially clustering de novo variants in CYFIP2, encoding the cytoplasmic FMRP interacting protein 2, cause intellectual disability and seizures. *European Journal of Human Genetics*, 27(5), 747–759. <https://doi.org/10.1038/s41431-018-0331-z>