



Consiglio Nazionale delle Ricerche

**COME ORIENTARSI  
NEL COMPLESSO MONDO  
DELLE MALATTIE RARE:**  
Un approccio pratico alla  
loro diagnosi e gestione

### **Coordinatori scientifici:**

Sebastiano Cavallaro

*Direttore dell'Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche.*

Mauro Sapienza

*Direttore UOC Medicina Interna, Ospedale "Umberto I", Azienda Sanitaria Provinciale di Enna.*

### **Responsabili scientifici del progetto editoriale**

Agata Polizzi

*Cattedra di Pediatria, Dipartimento di Scienze della Formazione, Università degli Studi di Catania.*

Martino Ruggieri

*UOPI Malattie rare del sistema nervoso in età pediatrica, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania.*

**COME ORIENTARSI NEL COMPLESSO MONDO DELLE MALATTIE RARE:**  
*un approccio pratico alla loro diagnosi e gestione*

496 pp., 16x24 cm.

© Cnr Edizioni,  
P.le Aldo Moro 7, Roma  
ISBN 9788880803034

### **Supporto tecnico**

Giulia Gentile

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche.*

Maria Guarnaccia

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche.*

Francesco Rabboni

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche.*

### *Ringraziamenti*

La presente monografia è stata elaborata grazie ad un accordo di collaborazione tra l'Azienda Sanitaria Provinciale di Enna e l'Istituto di Scienze Neurologiche del Consiglio Nazionale delle Ricerche finalizzato all'aggiornamento delle conoscenze scientifiche sulle malattie rare.

Il progetto, rivolto principalmente agli operatori sanitari e socio-sanitari dell'azienda ospedaliera e dei servizi territoriali, è stato finanziato dall'Assessorato della Salute della Regione Sicilia (Progetto Obiettivo PSN 2012 - 2.8.2). Si ringraziano l'Assessore **Ruggero Razza**, i Commissari straordinari dell'Azienda Sanitaria Provinciale di Enna che si sono succeduti, Dott.ssa **Giovanna Fidelio** e Dott. **Antonino Salina**, e l'attuale Direttore generale, Dott. **Francesco Iudica**.

Catania, 14 Maggio 2019

*Sebastiano Cavallaro*

*Mauro Sapienza*

# Indice

7	<b>Prefazione</b> <i>Agata Polizzi, Martino Ruggieri</i>
8	<b>Introduzione</b> <i>Lorenzo Pavone</i>
10	<b>PRIMA PARTE:</b> <b>Presa in carico delle malattie rare</b>
11	<b>La comunicazione della diagnosi e la relazione medico paziente</b> <i>Elena Commodari, Concetta Pirrone</i>
29	<b>Orientamento e sostegno psicosociale per la persona con malattia rara tra i servizi territoriali della provincia d Enna</b> <i>Maria Angela Nicolosi, Mauro Sapienza</i>
51	<b>Ruolo della associazioni di malattie rare e possibilità di azione in ambito Regionale, Nazionale ed Europeo</b> <i>Claudio Ales</i>
63	<b>Malattie e bioetica</b> <i>Salvatore Amato, Matteo Negro</i>
74	<b>SECONDA PARTE:</b> <b>Malattie rare in età pediatrica: diagnosi, presa in carico e possibilità terapeutica</b>
75	<b>Approccio diagnostico al neonato con malformazioni congenite</b> <i>Giovanni Corsello</i>
99	<b>Malformazioni del sistema nervoso centrale</b> <i>Stefano Catanzaro, Flavia LaMendola, Martino Ruggieri</i>
113	<b>La diagnosi precoce delle malattie metaboliche ereditarie</b> <i>Agata Fiumara, Federica Raudino, Marianna Messina, Anna Cardillo, Concetta Meli</i>
125	<b>Dalle note dismorfiche alla diagnosi di sindrome malformativa</b> <i>Teresa Mattina</i>
137	<b>Sindromi genetiche rare con disturbi del neurosviluppo</b> <i>Corrado Romano</i>
147	<b>Sindromi neurocutanee</b> <i>Maria Chiara Battaglini, Maria Teresa Garozzo, Martino Ruggieri</i>
167	<b>Le encefalopatie epilettiche nel neonato</b> <i>Marco Andrea Nicola Saporito, Laura Mauceri</i>

- 175 **Epilessie rare ad esordio nell'infanzia e nell'adolescenza: diagnosi, presa in carico, possibilità terapeutiche**  
*Piero Pavone, Silvia Marino, Luca Sabino*
- 183 **Malattie neuromuscolari neonatali**  
*Raffaele Falsaperla, Carla Cimino, Catia Romano*
- 203 **La Fibrosi Cistica e altre malattie genetiche rare del polmone**  
*Giuseppe Fabio Parisi, Maria Papale, Lucia Tardino, Novella Rotolo, Salvatore Leonardi*
- 221 **Le sindromi autoinfiammatorie**  
*Alberto Fischer*
- 239 **Malattie rare in Gastroenterologia pediatrica**  
*Annarita Bongiovanni e Claudio Romano*
- 263 **La sindrome della morte cardiaca improvvisa**  
*Innocenzo Bianca*
- 281 **I farmaci orfani e i farmaci innovativi. Aspetti regolatori e accesso alle cure**  
*Andrea Praticò, Federica Sullo*
- 305 **L'assistenza primaria e le malattie rare**  
*Antonino Gulino*
- 320 **TERZA PARTE**  
**Malattie rare nel giovane adulto**
- 321 **Fibrosi polmonare e malattie respiratorie interstiziali**  
*Sebastiano Emanuele Torrisi, Carlo Vancheri*
- 335 **Le vasculiti: una visione d'insieme**  
*Salvatore Corrao, Christiano Argano, Giovanni Pistone, Irene Ruggeri, Luigi Calvo*
- 347 **Le epilessie rare dell'adulto**  
*Vito Sofia, Loretta Giuliano*
- 373 **Malattie infettive rare**  
*Mauro Sapienza, Maria Angela Nicolosi*
- 383 **Sport e malattie rare**  
*Angelo E. Sberna*
- 393 **Lo sport per soggetti disabili**  
*Gaspere Majelli*
- 400 **QUARTA PARTE**  
**Attualità in tema di diagnostica di laboratorio e strumentale per le malattie rare**

- 401 **Nuovi strumenti d'indagine e nuovi approcci metodologici in diagnosi genetica**  
*Marco Fichera, Luigi Citrigno, Maria Muglia*
- 427 **Medicina genomica: tecnologie di indagine ad alta risoluzione per indirizzare diagnosi e trattamento delle malattie rare**  
*Valentina La Cognata, Giovanna Morello*
- 443 **Biotecnologie per la diagnosi e lo screening delle malattie rare**  
*Guarnaccia Maria*
- 455 **Cellule staminali pluripotenti indotte, rivoluzione tecnologica per lo studio e il trattamento delle malattie rare**  
*Rosario Iemmolo, Gabriele Bonaventura*
- 475 **Bioinformatica avanzata, strumento efficace per una medicina di precisione**  
*Antonio Gianmaria Spampinato*
- 488 **Autori**

## PREFAZIONE

---

**L**e **malattie rare** (MR) sono un gruppo di patologie eterogenee, definite dalla bassa prevalenza nella popolazione generale interessando nell'insieme non più di 5 individui ogni 10.000 nella popolazione generale. Sono accomunate da una notevole complessità clinica e di presa in carico, esordiscono prevalentemente in età pediatrica e hanno una causa genetica nella maggioranza dei casi. Interessano più organi ed apparati, frequentemente il sistema nervoso, sono malattie croniche e invalidanti che incidono notevolmente sulla qualità di vita delle persone che ne sono affette. Ad oggi, solo per una ridotta percentuale di MR, vi sono terapie patogenetiche risolutive, definite per la rarità della malattia a cui sono destinate come: "farmaci orfani".

Le considerazioni che le MR coinvolgono complessivamente un numero non trascurabile di bambini, adulti e di famiglie e che per le loro caratteristiche di complessità clinica, cronicità e onerosità di trattamento, sono una difficile sfida per l'organizzazione degli interventi sanitari, per la prevenzione della disabilità e delle complicanze, hanno dato spunto alla proposta e sostegno alla elaborazione di questo progetto editoriale.

La struttura della monografia e i temi scelti rappresentano l'intenzione di volere trattare una selezione di argomenti di generale interesse per il professionista della salute e di orientamento per la sua pratica clinica. Alcuni tra gli autori coinvolti sono tra gli esperti che, all'interno dei centri clinici della rete regionale siciliana per le malattie rare, sono il riferimento per la diagnosi, il monitoraggio, la presa in carico e il trattamento della specifica patologia rara trattata. Altri, sulla base della loro esperienza clinica e di ricerca, rappresentano un prezioso riferimento nel contesto di un approccio multidisciplinare e multi-professionale alle malattie rare.

Con l'augurio che i temi trattati possano incontrare un'ampia diffusione tra gli operatori della salute al fine di potere contribuire in qualche misura al soddisfacimento dei bisogni clinici, psicologici e sociali delle persone con malattia rara e delle loro famiglie e al miglioramento della loro qualità di vita.

Catania, 13 Maggio 2019

*Agata Polizzi  
Martino Ruggieri*

## INTRODUZIONE

---

**L**e malattie rare rappresentano uno dei punti più oscuri e più vasti della patologia scientifica umana. Per il coinvolgimento di uno o più organi le manifestazioni cliniche finiscono con interessare tutte le specialità mediche dalla ginecologia alla pediatria, ma anche neurologi, otorinolaringoiatri, oculisti, cardiologi, ortopedici, urologi sono coinvolti. Ognuno di questi specialisti ricorderà di avere avuto l'occasione di avere incontrato pazienti con patologie così tanto non comuni tanto da restare impressi nella loro memoria per lunghi anni. Malattie rare, diversi organi coinvolti, diverse cause etiologiche, differenti aspetti clinici per ogni tipo di paziente, con unica base in comune il raro riscontro di patologie simili nella popolazione generale. Le malattie rare si manifestano con anomalie banali e lievi che coinvolgono solo l'aspetto estetico ma possono altresì manifestarsi con anomalie particolarmente disfiguranti, e ancora con affezioni che consentono una normale attività quotidiana fino a disturbi che presentano un decorso progressivo come avviene per le malattie metaboliche o a condizioni che alterano l'equilibrio clinico causando una più o meno precoce letalità. Il progresso nei metodi diagnostici ha permesso di raggiungere in gran parte dei casi e in breve tempo la causa della malattia e di definire nuove rare patologie.

Le malattie rare sono note da secoli, ma soltanto negli ultimi decenni queste condizioni hanno avuto maggiore richiamo nella popolazione scientifica e una più cosciente partecipazione dei familiari delle persone affette. Tra i principali artefici delle conoscenze su questa branca della medicina vengono accreditati David W. Smith, professore di Pediatria presso l'Università di Washington School of Medicine, Seattle, Washington che raccolse alcuni casi clinici riportati in letteratura e le pubblicò nel volume "Recognizable patterns of Human Malformations" e Victor McKusick che scrisse il famoso testo "Mendelian Inheritance in Man". Tra i più noti sindromologi di quegli anni ricordo Delbeit A. Fischer, Torrence, CA; Robert Gorlin Minneapolis, MN; William C. Nyhan, La Jolla, CA; Robert E. Sharkey, Hayward, CA; Robert L. Sumit, Memphis, Texas; Josef Warkany University of Cincinnati, Ohio autore del testo "Congenital Malformations"; Hans Zellweger, Iowa University, Iowa. Con il Professore Hans Zellweger Autore della notissima sindrome che porta il suo nome ho avuto l'opportunità di averlo come straordinario Maestro e di averne apprezzato le sue notevoli capacità scientifiche e le sue particolari doti umane. Un importante ruolo in questo campo spetta anche al Professore Sidney Gellis Professore presso la "Tufts Floating Hospital University" "New England Medical School" Boston, Mass esperto in sindromi con interessamento epatico e editore del prestigioso libro "Year Book of Pediatrics". Il professore Gellis mi accolse a Boston per un mio breve

stage e mi regalò un testo di pediatria con il suo autografo che gelosamente conservo. Nel campo sindromico “neurologico”, il Professore Jean Aicardi (Parigi) e in quello ortopedico Hooshang Taybi sono tra i più rappresentativi. Nel novero dei più grandi esperti di patologie rare un posto di prestigio spetta a John Opitz, forse il più grande, la cui altezza scientifica è pari alla sua statura corporea. (oltre 2 metri di altezza!).

L’interesse per le malattie rare si sviluppò in Sicilia e Palermo, Catania e Messina furono tra le prime Università Italiane a occuparsi di questa patologia. Il fortunato incontro con John Opitz fornì l’opportunità di accogliere l’illustre Maestro a turno in ciascuna delle tre Università Siciliane e presso l’Istituto IRCCS Oasi Maria di Troina nella persona del suo fondatore Padre Ferlauto. Il Prof Liborio Giuffrè, il Prof Giovanni Corsello, prestigioso Past Presidente della Società Italiana di Pediatria, il Prof Ignazio Barberi e i suoi collaboratori di Messina, il Prof Florindo Mollica, il Prof Giovanni Sorge me stesso e tutta la scuola di Neurologia pediatrica dell’Università di Catania, insieme a numerosi altri colleghi provenienti da tutta la Sicilia ascoltavamo in prezioso silenzio le indimenticabili lezioni del grande Maestro cogliendone i suoi insegnamenti sulla semeiotica e sulla completa, dettagliata e minuziosa osservazione clinica del bambino. Frequente ospite era il Prof. Bruno Dalla Piccola che in questo campo di ricerca ha dato un suo notevole contributo.

Le nuove metodologie strumentali, le indagini metaboliche sempre più sofisticate, la RMN, e le analisi genetiche hanno aperto il campo a possibilità diagnostiche precedentemente impensabili. Contrariamente a quanto avveniva in passato, oggi le possibilità cliniche, diagnostiche e terapeutiche con interventi di alta chirurgia, hanno consentito ai pazienti affetti da queste rare patologie di ottenere effetti più che lusinghieri sia nella correzione delle anomalie che nella prognosi. Le prospettive future sono legate alla individuazione di più alte tecnologie chirurgiche, di terapie genetiche mirate efficaci e all’impiego di nuovi farmaci. La diagnosi precoce della affezione resta uno dei capisaldi del trattamento assieme alla farmaco-genetica dalla quale ci aspettiamo ulteriori rilevanti progressi. In questo campo, le ricerche sono in stato di avanzato progresso e in un breve futuro ci aspettiamo importanti nuove acquisizioni. Resta ancora molto da fare, ma le malattie rare sono entrate nell’ambito Internazionale come patologie d’avanguardia per le prossime sfide mediche. I traguardi raggiunti negli ultimi anni sulle patologie rare sono stati notevoli e l’interesse sociale sempre più vasto e partecipe. Nel prossimo futuro i progressi scientifici ci consentiranno di rendere più efficaci e più selettivi gli interventi terapeutici sui pazienti affetti da malattie rare.

*Prof. Lorenzo Pavone*

**PRIMA PARTE:**  
**PRESA IN CARICO DELLE MALATTIE RARE**

# LA COMUNICAZIONE DELLA DIAGNOSI E LA RELAZIONE MEDICO PAZIENTE

*Elena Commodari, Concetta Pirrone*

## Introduzione

La comunicazione della diagnosi è un momento estremamente importante in ambito medico in quanto segna una tappa cruciale della relazione “medico-paziente”, la cui qualità gioca un peso fondamentale nel processo di cura. Il modo in cui il percorso diagnostico viene gestito dagli operatori sanitari e le modalità attraverso cui la diagnosi viene restituita possono influenzare in maniera rilevante i vissuti del paziente con significative ripercussioni sulla “storia della malattia” e l’esperienza di vita della persona malata.

Il “sentirsi malato” non dipende, infatti, semplicemente dall’essere affetto da una patologia e non coincide con la concettualizzazione che il medico fa di essa. La rappresentazione individuale di “malattia” è influenzata da numerosi fattori tra i quali lo stato patologico in sé stesso non è di certo l’unica determinante. Alcune persone pur essendo affette da gravi malattie accettano la propria condizione, non si sentono “malati” e si impegnano attivamente nel mantenere un’elevata qualità di vita, riuscendo a conservare positività e buon umore pur nei disagi che lo stato patologico produce, mentre altri con patologie lievi e transitorie sono fortemente condizionati dal loro stato, con conseguenze negative nella gestione della vita quotidiana sia in ambito lavorativo che sociale ed affettivo.

La descrizione che il medico fa di una patologia quando comunica una diagnosi, e le prospettive che egli presenta al paziente rispetto alle possibilità di miglioramento, guarigione o semplice contenimento del danno, giocano un ruolo fondamentale nel determinare il modo in cui il paziente e i caregivers si confronteranno con la malattia e affronteranno le sfide esistenziali che una patologia, specie se grave, invalidante o cronica, comporta. Per questo motivo, anche se il rapporto medico-paziente inizia dal primo incontro tra i due, la qualità della relazione e la risposta del paziente alla malattia possono essere notevolmente influenzate da come il medico gestisce le fasi della comunicazione della diagnosi, comunicazione che può talora tradursi nel dover spiegare al paziente che una patologia è severa o incurabile o addirittura nel dover rivelare che la medicina non è neanche in grado di dare un nome alla patologia stessa, come talora accade nelle malattie rare.

---

## La comunicazione della diagnosi nella malattia rara

### Rarità della malattia e “deserto psicologico”

**N**elle malattie rare, il percorso diagnostico e la restituzione della diagnosi assumono caratteristiche assolutamente peculiari, che rendono questo processo molto diverso rispetto a quanto accade nella presa in carico di patologie più comuni, seppur anch'esse gravi ed invalidanti. Questo perché, come ampiamente descritto nelle altre parti di questo volume, le malattie rare presentano alcune particolarità che le differenziano da tutte le altre patologie.

In primo luogo esse sono molto numerose, per cui ad un esiguo numero di persone affette da ciascuna malattia corrisponde un grande varietà di patologie, ciascuna con altrettanta varia eziologia. Ogni malattia rara è caratterizzata da una grande eterogeneità di sintomi e segni, anche all'interno di una stessa entità nosografica ed è spesso è difficile individuare tratti comuni e distintivi tra i diversi pazienti che ne sono affetti. Si tratta inoltre di malattie spesso gravi, letali, o comunque disabilitanti, che interferiscono significativamente con la qualità della vita non solo di chi ne è affetto ma anche dei caregivers. In ultimo, ma non per importanza, spesso tali malattie insorgono in età infantile e per tale motivo esse sono particolarmente “gravose” in termini psico-sociali, perché la sofferenza dei malati e delle loro famiglie è accresciuta dalla disperazione psicologica legata alla mancanza di opzioni terapeutiche, dal difficile accesso a queste opzioni, e dalla mancanza di sostegno pratico alle necessità della vita quotidiana (1).

Il carico psicologico delle malattie rare è inoltre reso ancor più pesante dal fatto che esse spesso coinvolgono anche la sfera psichica, sia direttamente, poiché possono interferire con le funzioni mentali, sia indirettamente, perché inevitabilmente influenzano le autonomie quotidiane e sociali non solo del paziente stesso ma anche di chi è chiamato a prendersi cura di lui, come per esempio i genitori se ad essere malato è un bambino.

Il percorso diagnostico in caso di sospetto di malattia rara è in genere molto lungo. A causa della loro rarità, tali malattie vengono diagnosticate dopo indagini mediche complesse, caratterizzate dalla progressiva esclusione di altre più comuni patologie. Tale percorso, che spesso non è solo metaforico in quanto richiede anche spostamenti fisici al paziente e ai familiari, dato il numero esiguo di centri specializzati, spesso catapultava il malato e i caregivers in una condizione comunemente definita di “deserto psicologico”. Non solo si è chiamati a confrontarsi con una malattia che solo pochi hanno, per cui chi ne è affetto sperimenta la triste sensazione che nessuno possa realmente condividere i propri sentimenti e vissuti, ma si è anche costretti a conoscere

e sperimentare una condizione di cui pochi, anche tra i medici, conoscono le caratteristiche e le cure. A ciò si aggiunge, nel caso di genitori di persone affette da malattie caratterizzate da ereditarietà, che al peso e alla sofferenza per la malattia di un figlio si associno i vissuti relativi al fallimento della funzione genitoriale, poiché il genitore che per definizione è colui che deve proteggere il figlio in questo caso diventa colui che ha contribuito alla sua malattia.

Il primo compito che il medico e gli operatori sanitari si trovano quindi ad affrontare nel presentare una diagnosi di malattia rara è quella di far sì che i vissuti psicologici negativi non pervadano il paziente o i caregivers, ostacolando l'attivazione di processi di *coping* indispensabili per fronteggiare una condizione che purtroppo non è transitoria ma talora è immutabile o addirittura ingravescente. È indispensabile che la diagnosi venga comunicata in modi opportuni che facciano capire al paziente e ai suoi caregivers che la malattia è "parte" della loro vita ma non è "tutta" la loro vita e che quindi pur con difficoltà dovranno imparare a gestirla.

Perché questo possa accadere ogni comunicazione deve essere preceduta da un'accurata valutazione psicologica del paziente e/o dei caregivers al fine di adottare l'approccio comunicativo più idoneo, che tenga conto delle caratteristiche individuali e della capacità di "tollerare" e "metabolizzare" notizie e informazioni dolorose. Benché la situazione ottimale si abbia attraverso un lavoro di equipe che preveda la figura di uno psicologo che possa approfondire le dinamiche psicologiche del paziente e della sua famiglia, anche il medico può far sì che la comunicazione venga offerta nel modo giusto attraverso un'accurata pregressa conoscenza della persona con cui interlocherà, in modo da essere certi di utilizzare un registro linguistico adeguato, che tenga conto delle conoscenze che il paziente e/o i caregivers hanno sulla malattia, dei vissuti esperiti, nonché delle capacità di tollerare le frustrazioni e la sofferenza.

### **Il peso delle parole: informare e sostenere**

Anche se non tutti i pazienti sono uguali e la capacità di "accogliere" le informazioni che il medico dà dipende da molte variabili, quali per esempio il livello culturale e i tratti di personalità individuale, molti studi hanno evidenziato come il grado di credibilità e competenza del medico, nonché l'appropriatezza della comunicazione in fase diagnostica influenzino significativamente non solo lo stato psicologico del paziente ma anche la sintomatologia fisica e la stessa prognosi (2, 3).

È stato messo in luce a questo proposito come una comunicazione centrata sul paziente, volta non solo ad informare correttamente ma anche a coinvolgere paziente e caregivers nei trattamenti e nelle opzioni di cura, possa

alleviare i sentimenti di incertezza che inevitabilmente accompagnano una diagnosi di malattia, e favorire l'accettazione della patologia stessa (4).

A tale proposito è bene però ricordare che indipendentemente dal tipo di approccio relazionale che ciascun medico tende ad assumere nella sua pratica clinica quotidiana (2, 5, 6), il rapporto medico-paziente assume una connotazione assolutamente unica e peculiare nel momento in cui il percorso diagnostico inizia a far ipotizzare la presenza di una malattia rara.

La relazione medico-paziente, e la fiducia del paziente nell'operato del medico, si fonda, infatti, sull'assunzione che quest'ultimo abbia un grado di conoscenza ed esperienza della patologia maggiore di quanta ne abbia il paziente stesso. Il rapporto medico-paziente è un rapporto per definizione asimmetrico e istituzionalizzato. Esso si sviluppa in uno specifico contesto, quello sanitario, in cui ciascuna delle parti in relazione possiede ruoli "predefiniti", dove il medico è colui che "sa", "interviene" e "cura". Tali ruoli vengono scardinati quando ci si confronta con una malattia rara poiché spesso il medico non è necessariamente più "esperto" del paziente su una patologia, a meno che non ne sia uno specialista, e il paziente o i caregivers possono conoscere la malattia più del medico attraverso l'esperienza quotidiana che di essa fanno. L'incontro con le malattie rare determina quindi il passaggio da un rapporto asimmetrico, in cui il medico è detentore del "potere" nella relazione, poiché per il suo sapere è colui che dispensa cura e aiuto, ad un rapporto di simmetria in cui il paziente e/o i caregivers sono competenti sulla patologia quasi o addirittura più di quanto lo sia il medico. Un interessante e recente studio (7), che ha analizzato l'esperienza di pazienti affetti da malattie rare nell'interazione con i loro medici, ha evidenziato come la ridotta diffusione di tali patologie e la conseguente insufficiente expertise degli operatori sanitari influenza il modo rilevante il modo in cui le parti interagiscono. Lo studio ha messo in luce come i pazienti o i familiari divengano quasi il motore del trattamento e come i medici abbiano spesso difficoltà ad accettare questo "cambiamento" di ruolo. Una relazione nuova, rispetto alla tradizionale modalità di rapporto medico-paziente già a partire dalla comunicazione della diagnosi, può diventare quindi il primo punto di forza nel trattamento della malattia rara.

### **L'incontro con l'"incertezza" durante la comunicazione diagnostica**

Le malattie rare pongono particolari richieste di cambiamento non solo ai pazienti che ne sono affetti ma anche ai medici che li prendono in carico e agli scienziati che le studiano (8). L'incertezza è una delle costanti psicologiche che caratterizza i vissuti di medico e paziente durante il percorso dia-

gnostico di malattia rara ed essa può essere amplificata o contenuta durante il momento della restituzione diagnostica.

L'*incertezza del medico* nasce dalla non remota possibilità che lo specialista non sia esperto della specifica malattia rara in questione e non possieda, quindi, sufficienti conoscenze ed esperienze in merito. Le informazioni disponibili su una determinata patologia spesso sono poche e contraddittorie anche tra gli addetti ai lavori, e gli stessi trattamenti che il medico può proporre, se sono disponibili, sono in molti casi sperimentali e quindi caratterizzati anch'essi da un certo grado di incertezza per quel che riguarda la loro efficacia e sicurezza.

L'*incertezza del paziente e dei caregivers* nasce, invece, dal sapere che solo pochi al mondo soffrono della stessa patologia, che sono pochi i trattamenti disponibili, che la malattia può talora essere ingravescente e, soprattutto, dal rendersi conto che talora neanche chi opera in campo sanitario può realmente "aiutarli". Può accadere che nelle inevitabili peregrinazioni tra vari specialisti, pazienti e caregivers si confrontino con medici che presentano idee diverse circa le opzioni di trattamento, di cui talora neanche la scienza è in grado di stabilire il grado di superiorità, e ciò rende ancor più difficile il mantenimento di un buon equilibrio psicologico.

La diagnosi di una malattia è di certo una notizia cattiva, anche se spesso attesa perché preceduta da sintomi e disturbi che hanno portato alla richiesta di un consulto medico. La misura in cui tal notizia sarà tollerabile per il paziente e i suoi familiari dipende da quanto tale notizia modificherà in modo negativo il punto di vista del paziente e della famiglia e le loro previsioni ed aspettative per il futuro (9). L'impatto della notizia sarà più o meno devastante a seconda di quanto la persona o i caregivers conoscono o sospettano circa le caratteristiche della patologia e del divario tra aspettative, speranze e realtà della situazione clinica. Sotto il profilo emozionale, una diagnosi rappresenta l'irruzione di qualcosa che è imprevisto, minaccioso e di cui non si conoscono esattamente le implicazioni e che, come tale, genera incertezza, ansia, paura e angoscia, incrementa la vulnerabilità personale, mina la capacità di controllo ed il senso di continuità della propria esistenza (10).

Alla luce di quanto detto sopra, appare evidente che il primo compito del medico che comunica una diagnosi di malattia rara debba essere il tentare di contenere e incanalare positivamente l'*incertezza*, onde evitare che le paure e le angosce associate alle sofferenze si amplifichino producendo disturbi dell'umore patologici.

Il medico o l'operatore sanitario che deve comunicare la diagnosi deve cercare di prevedere l'impatto che questa avrà su chi la deve ricevere; tale impatto, come già esposto sopra, può essere di fatto valutato solo quando si

conosce cosa il paziente già sa e cosa egli si aspetta dall'incontro con il medico. Questo richiede l'amplificazione di un atteggiamento di ascolto da parte del medico, con disponibilità ad accogliere, più di quanto faccia di solito, le informazioni preziose che il paziente o i caregivers riportano sulla patologia e le sue manifestazioni. È indispensabile abbandonare un atteggiamento paternalistico o informativo a vantaggio di una comunicazione centrata sul paziente, con disponibilità ad accettare un cambiamento rispetto al tradizionale ruolo di medico che si assume quando si opera con altri tipi di patologie. A tale proposito le ricerche hanno evidenziato che la comunicazione centrata sul paziente, che include la trasmissione adeguata di informazioni e la raccolta di informazioni dettagliate da parte del medico sullo stato non solo fisico ma anche affettivo-emozionale del paziente, unito ad un coinvolgimento attivo del paziente o dei caregivers nei trattamenti, può contribuire ad alleviare lo stato di incertezza, favorendo l'attivazione delle risorse psicologiche (11).

---

### Quali informazioni dare al paziente e come darle

**I**l medico al momento della comunicazione della diagnosi non deve limitarsi a indicare il nome della malattia o a descriverne sommariamente le caratteristiche, ma deve spiegarne in dettaglio le manifestazioni e esplicitare con chiarezza cosa bisogna fare per fronteggiare eventuali emergenze. Ciò è indispensabile per stabilire una buona compliance ai trattamenti e soprattutto eviterà continui ricorsi da parte del paziente al medico stesso per ogni nuovo sintomo o manifestazione. Il medico deve anche istruire il paziente e/o i caregivers su come ottimizzare i successivi incontri con gli operatori sanitari. Può essere utile spiegare quali siano le informazioni di cui il medico abbisogna e l'utilità di comunicarle, servendosi per esempio della compilazione di un diario quotidiano per evitare di dimenticare particolari importanti.

Può essere estremamente utile accompagnare la comunicazione orale della diagnosi con un documento scritto, una sorta di lettera prestampata che il medico può consegnare alla famiglia, in cui sono descritte le caratteristiche basilari della malattia, la sua diffusione, le principali manifestazioni sintomatologiche, i trattamenti possibili e anche eventuali recapiti per emergenze. Tale metodo viene largamente usata all'estero e si è rivelato molto utile e ben gradito ai pazienti

## Allertare i familiari in caso di patologia con caratteristiche di ereditarietà

Il clinico che fa una diagnosi di malattia rara può e deve raccomandare anche agli altri familiari di effettuare accertamenti diagnostici se la malattia ha caratteristiche di ereditarietà. Ciò è molto importante perché le manifestazioni sintomatologiche sono molto variabili anche all'interno di una stessa malattia e talora possono essere anche sfumate. Talora accade che i genitori di un bambino malato scoprono la presenza della malattia in altri componenti della famiglia, o addirittura in sé stessi, dopo accertamenti successivi alla prima diagnosi.

---

### Le tappe della comunicazione diagnostica

**I**l medico a cui è affidato il compito di comunicare la diagnosi deve programmare un tempo sufficiente per l'incontro con il paziente e i familiari, evitando di dare la notizia in setting non idonei (es. in sala d'attesa, in presenza di altre persone, ecc.). Prima dell'incontro può essere utile memorizzare le informazioni cliniche rilevanti ed avere disponibilità della cartella clinica del paziente in modo da essere pronto a rispondere ad eventuali domande e dare la sensazione di ricordare bene il caso (7). È fondamentale cercare di cogliere, prima di esprimersi, le idee che il paziente e/o i suoi familiari si sono fatti circa la malattia e i disturbi che li affliggono, in modo da fornire le informazioni necessarie a comprendere la situazione clinica senza indurre, o almeno riuscendo a contenere, reazioni emotive negative. Perché ciò si possa realizzare è importante che il medico prospetti sempre e comunque la presenza di possibilità di azione, anche se i risultati attesi sono limitati.

Nel momento in cui si è di fronte al paziente è indispensabile sedersi, mantenere un contatto visivo e in alcuni casi anche contatto fisico, se il paziente mostra di apprezzare il gesto di toccargli la mano o il braccio, per evitare di trasmettere la sensazione che la comunicazione si svolgerà in modo frettoloso. Per il paziente e i caregivers è importante, infatti, percepire che il medico ha del tempo a disposizione per loro.

Quando si inizia il colloquio bisogna evitare che il comportamento non verbale sia dissonante rispetto a quello verbale (per esempio: dire "non è niente di grave" con un viso funereo) e tenere conto che l'interlocutore si pone nei confronti della malattia da un punto di vista diverso dal nostro. Al fine di accertare il livello di conoscenza e di comprensione della malattia da parte dell'interlocutore è fondamentale, prima di esprimersi, raccogliere informazioni su come la persona (paziente e caregivers) giudica o percepisce la sua

situazione clinica. Può essere utile cercare di definire se il paziente o chi si prende cura di lui sanno della malattia e come descriverebbero la situazione attuale, evitando di porgere domande con risposte scontate. Ciò permette al medico di correggere conoscenze sbagliate possedute dal paziente e di verificare in che misura il malato abbia una percezione realistica della situazione. Bisogna che il medico ponga attenzione a tutti i potenziali segnali di malessere e aiuti il paziente e i caregivers ad esplicitarli, poiché ciò gli permetterà di restituire al paziente e ai familiari informazioni utili ad un approccio positivo alla malattia.

È necessario tener conto anche della presenza di eventuali atteggiamenti di negazione o di assoluta passività nei confronti della malattia. Il paziente o i caregivers possono infatti minimizzare e negare la malattia o adottare un atteggiamento totalmente delegante nei confronti dei sanitari perché non capiscono realmente le caratteristiche della situazione o perché non sono in grado di tollerare il disagio psicologico connesso ad essa. In questo caso il medico attraverso le sue parole può aiutare il paziente e/o i caregivers a sviluppare il giusto grado di consapevolezza.

Nel momento in cui il medico entra nel merito della diagnosi, è indispensabile personalizzare le informazioni, usando un linguaggio aderente al registro linguistico del paziente stesso e ripetendo più volte lo stesso concetto in modo da essere sicure che venga recepito. A tale proposito bisogna infatti tenere conto che l'ansia e gli stati emotivi negativi possono temporaneamente ridurre l'efficacia dell'elaborazione cognitiva, per cui è possibile che la capacità di ascolto di paziente e caregivers possano essere ridotti a causa del turbamento prodotto dalla peculiarità della situazione oltre che dal contenuto della comunicazione stessa. È bene quindi soffermarsi sui dettagli ritenuti utili per essere certi che essi saranno realmente colti e compresi dall'ascoltatore. Attenzione particolare deve essere posta quando le notizie da comunicare sono particolarmente brutte, per esempio se si sa che non si dispone di un trattamento efficace o che la patologia è ingravescente. In questo caso è bene preparare il paziente e il caregiver anticipando che la situazione è complessa, ma lasciando sempre uno spiraglio di speranza concreta, per evitare che essi siano presi da sconforto e disperazione. Questo processo contribuisce ad attenuare lo shock che segue alla comunicazione e monitorare le modalità di reazione del paziente e del familiare che eventualmente l'accompagna. Ovviamente il lasciare spazio alla speranza e alla possibilità di azione non deve consistere in una minimizzazione della gravità della situazione, con il rischio che ne consegue di ostacolare un approccio corretto alla patologia, ma nel porgere le notizie con la dovuta delicatezza, evitando tutti quei commenti negativi che possono incrementare ancor di più la di-

sperazione. Come scritto sopra, bisogna sottolineare che la malattia è parte della vita ma non è tutta la vita per cui, anche se la patologia impone nuovi standard di comportamento quotidiano, l'esistenza potrà essere comunque soddisfacente e piena.

Dopo aver comunicato le notizie relative a diagnosi, trattamento e prognosi, il medico deve osservare le reazioni emozionali dell'interlocutore, in modo da gestire le inevitabili reazioni negative e preparare la costruzione dell'alleanza terapeutica. Se il paziente si sente compreso ed ascoltato la compliance a cure e trattamenti sarà migliore e sarà più facile gestire le sfide che la patologia comporta. Il medico e gli operatori sanitari devono sapere che le reazioni emotive dell'interlocutore potranno essere molto varie e intense e starà al medico stesso cercare di dar loro un nome (es. "mi sembra molto preoccupato", "noto che è sconvolto, ma ho dovuto spiegarle tutto per poter aiutarla al meglio" ecc.) mostrando partecipazione empatica. I pazienti guardano infatti al medico non solo come dispensatore di cure ma anche come supporto psicologico e, un medico sensibile alle emozioni ed ai vissuti del paziente è il primo vero sostegno per chi affronta una malattia. La maggior parte dei pazienti o dei caregivers apprezza la possibilità di esprimere le proprie emozioni al medico ma spesso teme di farlo e in genere non si espone mai spontaneamente, per cui è utile sollecitare l'espressione dei vissuti per favorire l'instaurarsi di una fiducia reciproca. Le famiglie dei pazienti con malattie rare sono infatti fortemente stressate psicologicamente e il sentirsi ascoltati e compresi li aiuterà nel percorso terapeutico (12)

### **Comunicare la diagnosi ad un bambino o ad un ragazzo**

Un problema particolare nella comunicazione della diagnosi di malattia rara nasce quando bisogna spiegare ad un bambino o un ragazzo che egli è affetto da una patologia rara. Spesso i genitori si chiedono se sia meglio che il figlio sappia cosa l'aspetta o se sia più utile non parlargli della malattia per proteggerlo. Chiaramente, il momento e il modo giusto di comunicare ad un bambino o ad un adolescente che è affetto da una patologia rara dipendono dalle dinamiche familiari, dal livello di maturità psicologica del bambino/ragazzo e dal suo livello intellettuale, nonché dal tipo di manifestazioni cliniche che la patologia comporta. Interviste informali ai genitori di ragazzi affetti da patologie rare hanno messo in evidenza come le famiglie che hanno sperimentato questa difficile condizione considerano come scelta migliore lo spiegare al bambino, quando è ancora piccolo, quali sono le caratteristiche della patologia da cui è affetto, in modo che egli "familiarizzi" con essa ed impari a gestirla al meglio. Alcuni genitori si sono pentiti di non aver parlato

precocemente ed esplicitamente al proprio figlio della malattia, e hanno riferito che probabilmente, se l'avessero fatto, questo avrebbe potuto evitare le sofferenze legate all'incertezza del suo stato e al continuo inevitabile, e per lui inspiegabile, incontro con i medici. Allo stesso modo i genitori ritengono che sia necessario che venga evitato, se ovviamente possibile, che la diagnosi di tali malattie venga comunicata durante l'adolescenza, poiché questa è una fase della vita di per sé complessa, durante il quale si struttura il senso di identità e si pongono le basi dell'autostima che la persona avrà da adulto. La maggior parte dei genitori pensa che spiegare ai bambini la malattia nella maniera più semplice sia l'approccio migliore. I bambini sicuramente sono più tranquilli nel sapere che i loro disturbi hanno una causa, che la loro condizione ha un nome, e che ci sono medici esperti cui possono rivolgersi quando ne hanno bisogno. È utile anche spiegare perché sono necessari continui accertamenti medici, per esempio ai bambini affetti da sclerosi tuberosa può essere spiegato, se il bambino è in grado di comprenderlo, che è importante avere una "fotografia" del loro cervello.

Anche ricerche su malattie gravi come per esempio i tumori pediatrici hanno messo in luce che i bambini e i ragazzi che erano stati informati di avere il cancro e cui erano state spiegate le caratteristiche della loro malattia, presentavano un migliore adattamento psicologico (13).

Per quanto non sia facile, dato il numero limitato di individui affetti da una certa patologia, può essere utile che il medico faciliti, già al momento della comunicazione della diagnosi, la messa in contatto con associazioni o altre persone con quel disturbo, perché il sapere che una patologia può avere varie manifestazioni e che altre persone si trovano nella stesse condizioni può essere di estremo beneficio poiché, conoscendo in maniera diretta o indiretta che altri individui si trovano nella stessa condizione, riduce i vissuti di isolamento.

### **La comunicazione ai fratelli**

Il medico non si deve limitare a comunicare una diagnosi ai genitori o al paziente ma deve anche rivolgersi alle altre persone che vivono con lui, per esempio i fratelli (14). Questo diventa addirittura indispensabile nel caso di malattie che comportano manifestazioni visibili eclatanti quali per esempio le crisi epilettiche. Spiegare ai fratelli cosa potrà accadere permetterà loro di non spaventarsi e di potere aiutare il piccolo paziente quando ne avrà bisogno. Bisogna che il medico o uno psicologo anticipi ai fratelli i cambiamenti che si verificheranno nella famiglia a seguito delle eventuali ospedalizzazioni e dei frequenti consulti medici.

Un bambino piccolo può avere paura che sia stato lui ad aver fatto ammalare il fratello o che egli stesso possa ammalarsi. Può anche sentirsi trascurato se

il bambino malato richiede molto tempo e attenzioni dai genitori. Se i fratelli vengono coinvolti nel percorso di cura e viene spiegato loro cosa sta accadendo, capiranno che il loro fratello ha esigenze particolari e accetteranno sin da giovanissimi le sfide poste a loro e alla loro famiglia. Inoltre, questo approccio renderà il fratello capace di gestire eventuali emergenze sanitarie se esse dovessero verificarsi.

Bisogna anche spiegare ai genitori che è normale che il fratello di un bambino malato sviluppi sentimenti conflittuali. È molto importante che i componenti dell'equipe sanitaria che ha in carico il paziente facciano capire ai genitori la necessità di continuare ad occuparsi degli altri componenti della famiglia e che questo non procurerà un danno al piccolo malato ma, anzi, lo aiuterà perché un clima familiare sereno è indispensabile anche per la gestione della malattia..

---

### **La relazione medico-paziente nelle malattie rare**

**N**ell'antichità la parola "cura" in latino si scriveva "curae" ed era impiegata in un quadro di amore, di affetto e di amicizia. Evidenziava l'atteggiamento di premura, tutela e preoccupazione nei confronti di una persona ammalata. Paradossalmente oggi ci ritroviamo in un'epoca in cui, da una parte, il progresso scientifico e tecnologico ha accelerato la possibilità di riconoscere buona parte delle malattie, dall'altro, ha indebolito la relazione medico paziente (15).

Come accennato precedentemente, la qualità della relazione che si viene ad instaurare tra medico e paziente è funzione del modo in cui il medico gestisce le fasi della comunicazione della diagnosi della malattia rara nella quale costui deve far sì che il vissuto emotivo del paziente non sovrasti in modo totalizzante quello cognitivo. Il medico quando si trova di fronte ad un malato si confronta con due dimensioni di quest'ultimo, da una parte la malattia con i relativi sintomi, dall'altro il malato in quanto persona, individuo, portatore non solo della malattia ma di vissuti emotivi e affettivi che non possono essere trascurati.

Lo scopo della relazione che si instaura tra i due è di permettere al malato di esprimersi, di rivelarsi in tutta la sua complessità, giacché questa stessa espressione molto spesso riveste valore terapeutico (16). La modalità con cui si svolge la comunicazione durante le visite mediche, considerate come momento cardine nella costruzione della relazione tra medico e paziente, dà forma alla relazione che si viene a instaurare tra i due e se tale relazione sarà di tipo collaborativo si potrà trattare con un maggiore successo anche la malattia (17).

## Una guida per la relazione d'aiuto nella gestione delle malattie rare

Il medico che si occupa di malattie rare è consapevole che il suo lavoro, probabilmente, non sarà quello di guarire il paziente ma curarlo, aiutarlo a stare meglio, affrontare nel migliore dei modi il percorso che costui dovrà affrontare verosimilmente per l'intero arco della sua vita. Perciò, stabilire una buona alleanza terapeutica basata sulla fiducia reciproca, che permette di concordare insieme percorsi diagnostici, diventa il presupposto essenziale per intraprendere un percorso che li vedrà coinvolti costantemente (18). Una guida per la realizzazione di una relazione che si basi sulla capacità di ascoltare il paziente ci viene offerta da Carl Rogers, psicologo umanista e psicoterapeuta fondatore, insieme a Rollo May, dell'Approccio Centrato sulla Persona. Uno dei concetti cardini della teoria di Rogers è quello di "tendenza attualizzante", ossia la capacità intrinseca in ogni essere umano di orientarsi in modo diretto verso il completamento e l'attualizzazione delle proprie potenzialità; egli sostiene che nell'organismo umano "c'è una sorgente centrale di energia che è funzione dell'intero organismo". Tali concetti possono essere applicati anche al campo medico dove trovano conferma nella psiconeuroimmunologia; almeno entro certi limiti, il corpo umano è in grado di proteggersi, di auto curarsi, di auto guarirsi anche dal punto di vista fisico. In linea con quanto detto sopra, circa il fatto che, nello specifico caso delle malattie rare, la tradizionale relazione "asimmetrica" medico-paziente cede il posto ad una relazione "simmetrica", l'approccio Centrato sulla Persona si caratterizza per essere simmetrico poiché attribuisce molta più importanza alla relazione medico/terapeuta paziente rispetto a tutti gli altri aspetti della cura; per Rogers l'essere in grado di instaurare una buona alleanza è già il fondamento della terapia, in quanto il medico, trovando modo di relazionarsi con la parte "sana" del paziente, crea le condizioni per stimolare quest'ultimo a collaborare per individuare le terapie più idonee alla gestione della malattia. Rogers sottolinea l'importanza delle qualità umane in termini di saper essere, oltre che quelle tecniche, ossia saper fare. Dunque individua una triade di atteggiamenti personali perché la relazione d'aiuto abbia successo e si crei il clima di fiducia indispensabile al paziente per procedere verso l'accettazione della sua malattia, dei suoi vissuti emotivi e della sua esperienza a qualsiasi livello. Queste condizioni sono, l'Empatia, l'Accettazione Positiva Incondizionata e la Congruenza.

### L'empatia

L'empatia è un processo che consiste nella capacità di individuare le emozioni e i sentimenti che il paziente sta sperimentando, di cui non è sempre

cosciente poiché spesso si celano appena sotto la soglia della coscienza. La comprensione empatica significa sintonizzarsi con l'altro, il nucleo interiore del medico si relaziona con il nucleo interiore del paziente.

La pratica empatica richiede la possibilità di evitare da parte del medico il ricorso a giudizi, categorizzazioni, interpretazioni. Ascoltare empaticamente vuol dire sentire con attenzione ciò che il paziente comunica, coglierne l'emozione sottostante e restituirla per verificarne l'esattezza (rimando empatico) in modo tale che il paziente, avendo chiarezza dei vissuti emotivi che sta vivendo, si senta valorizzato all'interno di un clima di sicurezza psicologica. Questi sono concetti alla base della medicina centrata sulla persona (19).

Nella pratica clinica accade spesso che, di fronte alla diagnosi di malattia rara, il paziente scoppi a piangere e si disperi; orbene, tergiversare, rassicurare, minimizzare da parte del medico rappresentano barriere comunicative che spesso sortiscono l'effetto opposto, acuendo il sentimento di afflizione. Se di contro il paziente sente di essere compreso dal medico nei suoi vissuti più profondi, anche solo con una parola di conforto, uno sguardo di comprensione, è più probabile che si affiderà al medico e alle terapie proposte con un animus di maggiore apertura.

Perché il medico operi un processo di empatia deve sentirsi abbastanza sicuro di sé stesso, deve rimanere in contatto con le proprie emozioni in modo tale da controllare il proprio grado di coinvolgimento emotivo. L'empatia si caratterizza in quanto "processo", proprio perché vi è un momento in cui inizia e un momento in cui finisce, empatia significa affiancare qualcuno in un percorso senza perdere di vista la propria direzione, se ciò non accade si rischia di rimanere invischiati con i sentimenti altrui o, all'opposto, di essere troppo distaccati, assumendo atteggiamenti quali indifferenza, cinismo, etc. e correndo il rischio di entrare in burnout; la consapevolezza, viceversa, permette al medico a ritrovare sempre il giusto equilibrio (20).

### **L'accettazione positiva incondizionata**

L'accettazione positiva incondizionata dell'altro consiste nel riconoscere nel paziente una sua autenticità, un suo valore; vuol dire attribuire al paziente dignità di uomo prima ancora di "malato". Considerare un essere umano 'degnò' non significa doverne approvare il comportamento; il medico può non condividere ciò che fa il paziente ma non ciò che è. L'incondizionalità si riferisce al fatto che l'atteggiamento del medico non muta né in funzione dello stato emotivo o del comportamento del paziente, né dell'atteggiamento di quest'ultimo nei suoi confronti.

L'accettazione comporta la sospensione di atteggiamenti giudicanti, creando

un clima facilitante che consente al paziente di esprimere più liberamente i propri timori e dubbi o, come capita a volte, affrontare tematiche sgradevoli, imbarazzanti, legati alla malattia, ovvero alle sue conseguenze. La considerazione positiva del paziente, ossia il modo in cui il medico lo ascolta, lo accoglie, crede nelle sue potenzialità, è anche chiamato “calore non possessivo”, l’opposto di un’attitudine paternalistica.

Coltivare questa pratica permette al medico di potersi centrare realmente sulla persona e di entrare nel suo mondo senza pregiudizi; in questo modo il paziente, sentendosi accettato, sarà più disposto all’eventuale richiesta di cambiamenti di stili di vita, alimentari e comportamentali che spesso la malattia può richiedere, rendendo il paziente empowered e non dipendente.

### La congruenza

Il concetto di congruenza fa riferimento alla consapevolezza delle proprie emozioni da parte del medico, alla coerenza tra emozioni sperimentate interiormente e emozioni manifestate esteriormente attraverso il linguaggio corporeo e le espressioni facciali; questa corrispondenza rendono il medico genuino agli occhi propri e a quelli del paziente. La congruenza può essere sintetizzata nella seguente dichiarazione: “Non dico tutto ciò che penso, ma ciò che dico lo penso davvero” (21).

La congruenza è una condizione basilare per il medico il quale dovrebbe avere consapevolezza di sé, dei propri limiti e dei propri punti di forza nella gestione non solo della malattia di cui è portatore il paziente ma altresì degli aspetti emotivi che accompagnano sempre la malattia rara. Se il medico si trova in una situazione di forte stress, tale da incidere sulla qualità della sua comunicazione, potrebbe anche lasciarlo trasparire, senza dover condividere le proprie vicende personali; ciò potrebbe rendere il medico una persona “autentica” agli occhi del paziente, il quale potrebbe meglio decodificare i suoi comportamenti (22). La congruenza, dunque, incoraggia la crescita terapeutica, l’alleanza e la collaborazione tra i due ed è correlata all’accettazione positiva incondizionata e all’empatia.

Nel dettaglio, questi tre atteggiamenti che il medico dovrebbe interiorizzare e fare propri, per essere efficaci, devono essere trasmessi al paziente lavorando sempre su due piani, il Verbale e il non Verbale (**Fig. 1**) (22).

Quando i piani sopra descritti si incontrano in modo armonico e non creano dissonanza, la comunicazione potrà fluire liberamente permettendo a medico e paziente di potere tessere le fila per l’attuazione di una relazione utile per il benessere di entrambi.

Non Verbale	Verbale
stretta di mano iniziale	silenzio (non interrompere il discorso)
corpo inclinato in avanti	parafrasi, brevi riassunti, categorizzazioni
postura aperta, rilassata	domande (aperte o chiuse o di stimolo)
posizione diritta, frontale	tecniche di eco
contatto oculare	focalizzazione
cenni del capo che si sta seguendo il discorso	interrompere solo se non è chiaro qualcosa
assenza di uso del telefonino	riflessione dei sentimenti (ascolto empatico)

Fig. 1

## Conclusioni

**S**e queste tre condizioni vengono adottate e fatte proprie, integrandole con il proprio modo di “essere medico”, allora si potrebbe di gran lunga migliorare la relazione medico e paziente. Ciò acconsentirebbe di affrontare il lungo e tortuoso percorso che, nel caso specifico delle malattie rare, vede coinvolti con la stessa intensità e problematicità, sia il medico che non può mai essere certo che il piano terapeutico predisposto funzioni, sia il paziente che deve sperimentarlo in prima persona, nell’incertezza della bontà degli esiti. All’interno del trattamento di pazienti affetti da malattie rare, migliorare la propria capacità comunicativa rappresenta un percorso valido che il medico può affrontare, per svolgere con soddisfazione un lavoro che di per sé rappresenta una sfida continua contro l’ignoto e che, con molta probabilità, è stato scelto per passione.

**Conflitto di interessi.** *Gli autori dichiarano di non aver nessun conflitto di interesse. Studi condotti su esseri umani o animali. L’articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori”.*

## **Bibliografia**

- Eurodis, Malattie Rare. Capire queste priorità della salute pubblica. European Organisation for Rare Diseases (2005) [www.eurodis.org](http://www.eurodis.org)
- D. Butler, S. Oswald, D. Turner, The effects of demographics on determinants of perceived health care service quality. *J. Manag. Med.* 10(5):8–201 (1996).
- N. K. Arora, K. E. Weaver, M. L. Clayman, I. Oakley-Girvan, A. L. Potosky, Physicians' decision-making style and psychosocial outcomes among cancer survivors. *Patient Educ Counsel*, 77:404–12 (2009).
- S. Andaleeb, Determinants of customer satisfaction with hospitals: a managerial model. *Inter. J. Health Care Qual. Assur.* 11(6):181–7 (1998).
- E. J. Emanuel, L. L. Emanuel. Four models of the physician–patient relationship. *JAMA*, 267(16):2221–6 (1992).
- R. Deber, Physicians in health care management. The patient–physician partnership: changing roles and the desire for information. *CMAJ* 151(2):171–6 (1994).
- K. Budycha, T. M. Helmsa, C. Schultz, How do patients with rare diseases experience the medical encounter? Exploring role behavior and its impact on patient–physician interaction, *Health Policy*, 105 154– 164 (2012)
- S. Andaleeb, Determinants of customer satisfaction with hospitals: a managerial model. *Inter. J. Health Care Qual. Assur.* 11(6):181–7 (1998).
- J K. Stoller, The Challenge of Rare Diseases, *Chest*, article in press (2018).
- L. Del Piccolo, La comunicazione della diagnosi di tumore al paziente e ai familiari: linee guida98 (5), 271-278, 2007.
- R. B. Jones, J. Pearson, J. A. Cawsey, D. Bental, A. Barrett, J. White, et al. Effect of different forms of information produced for cancer patients on their use of the information, social support, and anxiety: randomised trial. *BMJ*; 332: 942-8 (2006).
- M. Anderson, E. J. Elliott, & Y. A. Zurynski Australian families living with rare disease: experiences of diagnosis, health services use and needs for psychosocial support Anderson et al. *Orphanet J. Rare Dis.*, 8:22(2013).
- L. A. Slavin, J. E.O' Malley, G. P. Koocher, D. Foster Communication of the cancer diagnosis to pediatric patients: impact on long term adjustment *Am. J. Psy-*, 139, 2, (1982).
- R. Caldin, A Cinotti, Living with disability: Taking care of sibling, *Ricerche di Pedagogia e Didattica* 11, 3 (2016).
- Stella A., *Medicare e meditare. Fondamenti teorici per una scienza unificata della salute*, Guerini Studio, Milano (2001).

AA. VV. *La cura: ambiti e forme in psicoterapia e nella relazione d'aiuto*, Franco Angeli, (2017).

C.Ghinelli, *Comunicazione e processi di cura. Il ruolo della comunicazione nella relazione medico-paziente*, January (2009).

F. Perino, *L'approccio centrato sulla persona in ambito sanitario*, ACP – Rivista di Studi Rogersiani- (2002).

Zucconi, A., Howell, P., *La promozione della salute. Un approccio globale per il benessere della persona e della società*, Edizioni la Meridiana, Molfetta (BA) (2003).

F. Perino, *Un "modo di essere" dell'operatore sanitario nella relazione con i pazienti, Da Persona a Persona*. Rivista di Studi Rogersiani. Giugno (2011).

N. Sensale, *L'Approccio Centrato sulla Persona, come base del Counseling*, Istituto di Formazione RES (2016).

Gordon, T., Sterling Edwards, W., *Making the Patient your Partner. Communication Skills for Doctors and Other Caregivers*, Auburn House, Wesport (CT), (1995).



# ORIENTAMENTO E SOSTEGNO PSICOSOCIALE PER LA PERSONA CON MALATTIA RARA TRA I SERVIZI TERRITORIALI DELLA PROVINCIA DI ENNA

*Maria Angela Nicolosi, Mauro Sapienza*

## Introduzione

**P**arlare di Malattie rare (MR), nell'opinione del senso comune è come parlare di un tema appartenente, esclusivamente, ad una ristretta cerchia di persone, composta da pochi addetti ai lavori e rivolta a poche persone. Programmi televisivi dedicati portano all'attenzione di un pubblico, curioso, patologie dai nomi a volte poco pronunciabili. Malattie rare a volte rarissime o quasi uniche. Un tema che negli ultimi anni sta uscendo dalla nicchia "per poche persone" per potere essere maggiormente presente nei temi clinici e tavoli tecnici dentro e fuori le Istituzioni. La caratteristica comune di queste patologie è di essere potenzialmente invalidanti e prive di terapie specifiche o trattamenti risolutivi. Vengono definite rare perché a livello epidemiologico presentano una bassa prevalenza (ossia un basso numero di casi rispetto alla popolazione). Questo criterio di definizione quindi non inquadra ed orienta ad un ordine determinato di manifestazioni cliniche, quanto piuttosto una condizione di bassa prevalenza a cui presumibilmente si associano una serie di questioni e problemi condivisi (1).

### La complessità della diagnosi

Come riporta la relazione "Piano Nazionale Malattie Rare 2013-16 / Ministero della Salute" le malattie rare (MR), hanno una prevalenza nella popolazione inferiore a 5 casi ogni 10.000 abitanti. Una malattia rara, definita anche malattia orfana, è una condizione che colpisce una piccola percentuale della popolazione ma questa definizione varia a seconda del paese considerato.

La rarità di tali patologie fa sì che i pazienti che ne sono affetti sperimentino maggiori problematiche rispetto ai pazienti affetti da patologie comuni, difficoltà legate a diversi fattori, tra i quali: difficoltà diagnostiche, carenze di informazioni, anche fra gli operatori sanitari, carenza di opzioni terapeutiche, soprattutto farmacologiche e l'impatto emotivo con vissuto di isolamento che affligge i pazienti e i loro familiari.

Molte MR oltre ad essere complesse nella diagnosi e nel trattamento possono presentare quadri clinici anche gravissimi, a carattere degenerativo ed estremamente invalidanti con exitus nei primi anni di vita, altre, diversamente, se diagnosticate in tempo e trattate appropriatamente non incidono significativamente sulla durata della vita, altre condizioni, infine, permettono di

svolgere una vita qualitativamente normale, anche in assenza di trattamento specifici. Si tratta di patologie come si può notare, eterogenee, possono interessare le abilità fisiche e/o mentali, le capacità sensoriali e comportamentali. Le disabilità che ne scaturiscono possono limitare le opportunità educative, professionali e sociali ed essere causa di discriminazione sociale. La categoria Malattie rare, dunque, pur avendo criteri di individuazione epidemiologici, non inquadra una classe nosologica di patologie, piuttosto prova ad ordinare insieme un universo eterogeneo di malattie e sindromi mediche, accomunate dalla presenza di problemi frequenti, che investono gli ambiti di intervento e di sostegno sociale per questi pazienti.

Malattie rare è quindi una categoria sociale dall'utilità conoscitiva ed operativa, capace di focalizzare ambiti di disagio, proprio lì dove i modelli usuali di intervento socio-sanitario-assistenziale dimostrano, in modo specifico e ricorrente, i loro limiti. Inoltre, l'eziologia di almeno la metà delle MR purtroppo resta ancora sconosciuta. Questi problemi, uniti anche alla difficoltà, da parte dei clinici, di comunicare la diagnosi di malattie gravi o infauste, si riflettono sul ritardo nella presa in carico e sulla sua efficacia e spesso le persone affette ricorrono a trattamenti non appropriati.

La condizione di "rarietà" quindi serve a rendere immediatamente disponibili alla riflessione una serie di problemi, se non proprio sistematici, decisamente ricorrenti e che proviamo a riassumere così:

- Difficoltà a diagnosticare esattamente e in tempi utili la patologia
- Mancanza di programmi adeguati di ricerca e mancanza di cure adeguate
- Difficoltà a riuscire a trovare il Centro Clinico specializzato in grado di trattare con competenza scientifica e di servizio la patologia
- Inesistenza o scarsità dei Centri di riferimento realmente competenti al trattamento della patologia, inoltre spesso localizzati in regioni diverse dalla propria
- Forti difficoltà nell'individuazione dei percorsi più idonei.

A causa del limitato numero dei pazienti e delle limitate esperienze disponibili, per garantire la diagnosi e la cura di queste malattie, la Comunità Europea considera indispensabile l'istituzione di una rete di riferimento europea per le MR, nell'ambito della quale privilegiare, quando appropriato, il trasferimento e lo scambio delle esperienze, lo scambio di informazioni e di dati, di campioni biologici, di immagini radiologiche e altri elementi diagnostici, anziché movimentare i pazienti. Tra gli strumenti che la CE intende maggiormente condividere sono elencati i registri e i database, le linee-guida e le informazioni, le immagini trasmesse per via telematica, le attività di formazione (2) (3).

In Italia in particolare nel 2001 è stato emanato il Decreto Ministeriale 279 (“Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione dal costo delle relative prestazioni sanitarie ai sensi dell’articolo 5, comma 1, lettera b) del D.lgs. 29 aprile 1998, n. 124”) che regola la partecipazione al costo delle prestazioni sanitarie e il regime delle esenzioni per le malattie rare(4).

Tale intervento ha costituito l’occasione per definire, individuare e classificare le “malattie rare” in Italia, favorendo in tal modo, la nascita delle prime forme di associazionismo, dando spazio a quello che comunemente indichiamo come “aspetto o dimensione sociale” della malattia.

La diffusione di un disagio, infatti, muta in relazione alle trasformazioni socio-culturali che ne favoriscono o ne inibiscono la presenza.

Stati d’animo, dei pazienti e parenti, che sovente si declinano in modo altro, ora dentro ora fuori i confini istituzionali della malattia. Alcuni genitori di bambini, ancora piccoli, ricercano il sostegno delle associazioni o iscrivono i propri figli al registro delle malattie rare, per alcuni diversamente, il riconoscersi entro una categoria unica e codificata, stigmatizzante, assume il significato dell’essere destinati alla avversa sorte di coloro che, colpiti dalla malattia, ne sono già stati annientati. Annullando le speranze ed aspettative future di una diversa trasformazione del disagio si rigettano queste “pratiche” proprio per non trasformare i propri figli in “malati rari” preferendo “sopportare” le spese sanitarie oppure ricorrendo ad altri codici di esenzione, come quelli per invalidità (le cui coperture economiche sono solo in parte sovrapponibili a quelle fornite dalle esenzioni per malattia rara). Diversi soggetti, così, costantemente e volontariamente sfuggono alla “sorveglianza” dei registri regionali e nazionali, nonostante le lamentele dei professionisti sanitari e dei responsabili delle associazioni dei pazienti.

I dati epidemiologici forniti dalla clinica offrono un quadro dinamico e intrinseco alle malattie rare il che induce periodicamente a nuove inclusioni/esclusioni. Come recentemente, in Italia, con i nuovi LEA la celiachia, passa da malattia “Rara” a malattia cronica(5).

Le malattie rare, quindi, sono potenzialmente in grado di “generare” ripensamenti, revisioni e rivalutazioni dei sistemi di classificazione esistenti.

Stare male, senza ricevere una diagnosi, significa in qualche modo star male senza sapere il perché. Non riuscire a trarre una diagnosi, pur consultando medici e facendo esami, alimenta esponenzialmente nel tempo la difficoltà di portare avanti strategie adattive, facendo spesso naufragare verso il vissuto affettivo di impotenza e disperazione (il cosiddetto helplessness), a cui conseguono atteggiamenti di rinuncia, autocondanna o abbandono.

Non di rado poi il paziente che non si sa diagnosticare a livello biomedico viene diagnosticato a livello psicologico: ansia, stress, “disturbi fittizi”, etc.

Il ricorso alla “psicologizzazione” avviene generalmente quando il medico non riesce ad individuarne la causa del problema lamentato dal paziente; anche se, di solito, dopo aver tirato in gioco il problema d’ordine psicologico “non segue alcuna proposta di intervento, per cui il paziente sente questo tipo di risposta come una condanna senza appello.

Quali difficoltà a diagnosticare esattamente e in tempi utili la patologia:

- Mancanza di programmi adeguati di ricerca e mancanza di cure adeguate
- Difficoltà a riuscire a trovare il Centro clinico specializzato in grado di trattare concomitanza scientifica e di servizio la patologia
- Inesistenza o scarsità dei Centri di riferimento realmente competenti al trattamento della patologia, inoltre spesso localizzati in regioni diverse dalla propria
- Forti difficoltà nell’individuazione dei percorsi più idonei
- L’assunzione di quote più elevate di livelli di responsabilità circa le scelte e la gestione della malattia da parte del paziente: tendenza a delegare il problema al solo competente contro maggiore rilevanza di processo a tutta la rete.

Nell’attuale sistema sanitario, nell’ambito dell’assistenza di primo livello, la figura del medico di base (MMG) è centrale nell’orientamento degli utenti ai servizi e tra i servizi: tanto più è carente questa funzione di orientamento (che alimenta elementi di realtà e letture competenti delle informazioni, nei criteri di scelta del paziente), tanto più l’utenza è mossa alla fruizione dei servizi sanitari attraverso le proprie spinte fantasmatiche interne, impattando negativamente nel rapporto tra servizi disponibili e obiettivi di cura.

Il servizio di secondo livello, ambito dei medici specialistici e degli esami e terapie strumentali, è altamente specializzato e decentrato su diverse competenze e settori, tale per cui non può e non viene posto il compito di prendere in carico il paziente nella sua complessità, bensì risponde al quesito dell’invio o attua la terapia ordinata. Il compito di prendersi in carico la persona nella sua complessità spetta quindi, al MMG, compito che comporterebbe anche l’orientamento verso il sistema dei servizi di secondo livello, che egli, e non il paziente, dovrebbe conoscere al meglio, nei suoi caratteri di competenza e appropriatezza scientifica, così come nella sua localizzazione sul territorio. Il MMG rappresenta quindi, il filtro fondamentale nell’accesso ai servizi sanitari, nonché la figura professionale in grado di ricomporre e leggere l’unità del paziente quando questi viene trattato in modo specialistico nei servizi di secondo livello.

Il MMG è una figura centrale, e per certi aspetti forse la competenza più complessa e meno definita del nostro sistema sanitario. Nei MMG risiedono funzioni determinanti per la buona riuscita dei processi di diagnosi, cura e prevenzione. Proprio nelle sue funzioni di filtro e orientamento verso i servizi, e di conoscenza del paziente complessiva, storica, e spesso confidenziale ed intima, il MMG rappresenta un vertice di comprensione del paziente fondamentale, per qualsiasi processo di prevenzione, diagnosi e cura. Il posizionamento centrale nella fruizione dei servizi sanitari, assegnato al MMG, è quindi inequivocabile. Ed anzi, proprio per la complessità delle sue funzioni all'interno del sistema sanitario, nel ruolo del MMG vengono iscritte importanti competenze, diverse da quelle del medico specialista, ma non per questo di minore importanza. Il sistema sanitario è, come si è visto, un sistema decisamente complesso, molto articolato e con percorsi simili a meandri, ma l'assenza della funzione orientativa del medico di base lo rende decisamente complicato, se non addirittura minaccioso(6).

Un buon rapporto con il proprio MMG, articolato attraverso visite periodiche, colloqui e discussioni ampi sulla propria salute ed abitudini di vita, sui piccoli e grandi malesseri, lì dove il MMG è percepito come competente, affidabile e disponibile è senz'altro indispensabile per una idonea fruizione dell'ampio universo disponibile dei servizi sanitari.

Il medico di base assume, e nella maggior parte delle situazioni è chiamato ad assumere, il ruolo di referente territoriale per gli utenti del sistema sanitario: una funzione quindi a cui deve legarsi una competenza non certo superficiale, né "minore" rispetto a quella del medico specialista. Il MMG e il medico specialista si occupano di ambiti operativi diversi, tuttavia il loro lavoro deve svolgersi necessariamente in modo sinergico e complementare.

L'ambito elettivo del medico specialista è l'ospedale, esso rappresenta allo stesso tempo il baluardo più avanzato per la difesa e la promozione della salute, coerentemente con le politiche del welfare, nonché l'eccellenza scientifica e tecnologica d'erogazione dei servizi sanitari statali.

### **Percorsi assistenziali**

Il percorso assistenziale delle persone affette da MR inizia da un sospetto diagnostico formulato o da un medico di medicina generale o il pediatra di libera scelta che inviano il paziente allo specialista del SSN incaricato di avviare il percorso nell'ambito dello stesso SSN. A volte, è lo stesso paziente, o sono i suoi familiari che riportano i segni e i sintomi alle strutture sanitarie, innescando iter diagnostici particolari. La prima formulazione del sospetto diagnostico è un elemento critico del percorso, in quanto influenza la possibilità

di un trattamento tempestivo e, di conseguenza, il decorso della malattia. Quando sussiste un sospetto diagnostico, il medico deve immediatamente inviare il paziente a un Presidio della rete formalmente individuato dalla Regione per la specifica malattia o per il gruppo delle MR al quale si ritiene appartenga la patologia sospettata. Compete infatti al Presidio accreditato garantire l'iter diagnostico della MR senza costi per il paziente, per le procedure eseguite in regime ambulatoriale. Qualora l'iter diagnostico richieda prestazioni che possono essere effettuate solo in unità operative non comprese tra quelle del presidio della Rete, lo stesso Presidio deve farsi carico di assicurarne l'esecuzione presso altre strutture del SSN. In particolare, nei casi in cui l'accertamento può essere effettuato direttamente su un campione biologico, il presidio deve farsi carico di eseguire il prelievo del campione, provvedere alla spedizione e garantire l'esecuzione dell'indagine. Quando la conferma diagnostica richieda l'esecuzione di test genetici sui familiari del probando, anche queste indagini devono essere eseguite in regime di gratuità. In ogni caso, l'iter diagnostico deve essere organizzato in modo da garantire la migliore qualità e completezza con il minore disagio per il paziente e la sua famiglia. Per questo, devono essere promossi e incentivati gli accordi tra Regioni e tra presidi della Rete per permettere forme di consulenza a distanza anche attraverso strumenti informatici di condivisione della documentazione medica.

Tutti gli accertamenti diagnostici devono essere eseguiti secondo i criteri, supportati dalle evidenze scientifiche, di appropriatezza ed efficacia, essenzialità e sicurezza. Qualora alla fine dell'iter diagnostico si confermi la presenza di una MR compresa nell'elenco del DM 279/2001 è compito dello specialista del Presidio redigere il certificato di MR e rilasciarlo al paziente nel più breve tempo possibile. Le ASL o ASP di residenza del paziente in possesso della certificazione rilasciata da un presidio della Rete specificamente individuato per la patologia in questione, rilasciano l'attestato di esenzione corrispondente alla malattia certificata.

Una volta formulata la diagnosi di malattia, è ancora compito del presidio della Rete definire il profilo del danno attuale ed evolutivo presentato dal paziente ed il suo potenziale funzionale.

Questa seconda parte dell'inquadramento diagnostico è essenziale per consentire successivamente la redazione del piano di trattamento, che deve tenere conto degli specifici bisogni assistenziali identificati in base alle caratteristiche individuali della persona e perciò non definiti unicamente in base al paradigma standard della malattia. In base alla diagnosi di malattia e al profilo dei bisogni assistenziali, il Presidio formulerà infine il Piano assistenziale individuale che può comprendere in regime di gratuità tutte le prestazioni

incluse nei LEA nazionali o nei livelli ulteriori eventualmente garantiti in ambito regionale (farmaci, dietetici, presidi, ausili, protesi, trattamenti riabilitativi, interventi chirurgici programmati, ecc.) ritenuti dagli specialisti del presidio necessari per la presa in carico del paziente, secondo principi, basati sull'evidenza scientifica, di appropriatezza, indispensabilità, non sostituibilità ed economicità. Il piano dovrà essere formulato secondo le modalità previste dalla Regione nella quale insiste il presidio.

Le prestazioni indicate nel piano e comprese nei LEA, nazionali o regionali, dovranno essere garantite dalla ASL o ASP di residenza del paziente ed erogate o direttamente dai suoi servizi o dalla rete regionale o interregionale di assistenza a totale carico del SSR. A tal fine, le Regioni devono indicare le modalità organizzative messe in atto per garantire questo diritto del paziente. Il piano assistenziale deve essere periodicamente aggiornato dal Presidio della Rete, anche in base all'evoluzione clinica della malattia e alla risposta ai trattamenti in corso. Le azioni previste dal piano assistenziale devono essere attuate preferibilmente dagli ospedali e dai servizi territoriali prossimi al luogo di vita della persona con MR. Per tale motivo è essenziale il collegamento tra il presidio di riferimento e i servizi sanitari ospedalieri e territoriali della ASL o ASP di residenza, che deve comprendere il passaggio e la condivisione della documentazione clinica essenziale per mettere in atto correttamente gli interventi predisposti e per monitorarne il risultato, anche attraverso la supervisione e la consulenza a distanza e, per casi eccezionali, anche attraverso una consulenza di persona.

Nel caso delle MR a esordio durante l'età pediatrica che consentono di sopravvivere nell'età adulta, deve essere gestita con la massima attenzione la fase di transizione, in modo da assicurare la continuità assistenziale da una fase all'altra della vita del paziente. Questo passaggio dovrà essere specificamente previsto nei sopracitati percorsi assistenziali e potrà giovare di diverse innovazioni organizzative e gestionali, tendenti a facilitare il lavoro congiunto degli specialisti afferenti alle diverse unità operative e a presidi diversi. Per le fasi terminali del decorso clinico si dovrà prevedere uno specifico collegamento con le reti delle cure palliative. Qualora il malato bisognoso di un'assistenza continuativa di grande impatto sia trattato per lunghi periodi in famiglia, si dovranno prevedere brevi ricoveri di sollievo presso strutture di degenza non ospedaliere, appositamente competenti per questo tipo di assistenza. Analogamente, nei casi che richiedono assistenza continuativa che non può essere garantita al domicilio del paziente per problemi inerenti le caratteristiche familiari oppure per decisione del paziente o del suo tutore, l'assistenza deve essere garantita in luoghi residenziali competenti per la specifica assistenza richiesta.

## Percorsi di intervento

Nelle malattie rare, per l'esposizione più marcata alle incertezze procedurali dei percorsi di intervento e per la costellazione di difficoltà sociali che è conaturata nel concetto stesso di malattia rara, la persona con la patologia, la sua famiglia, il medico di base, l'ospedale di riferimento, gli eventuali servizi territoriali d'assistenza, dovrebbero proporre un assetto di collaborazione reciproca e di sinergia: questi soggetti sono infatti funzionalmente molto connessi tra loro.

Un intervento psicosociale dovrebbe avere fra gli obiettivi:

- Migliorare la qualità di vita delle persone colpite da malattia rara
- Contribuire all'informazione, alla rete e alla tutela dei diritti vitali dei malati rari, nella salute, nelle politiche sociali e socio-sanitarie, per la tutela delle persone con disabilità, vittime di discriminazioni.
- facilitare l'accesso dei pazienti affetti da MR a tutti i benefici di legge previsti in questo ambito. Facilitare l'accesso dei pazienti affetti da MR alle cure;
- Collaborare attivamente con l'Ufficio Relazioni con il Pubblico (URP) nell'istituire un tavolo permanente di confronto con le principali Associazioni di pazienti con MR.
- Gestire le attività operative per favorire l'integrazione sociale, in sinergia con le istituzioni scolastiche tramite progetti finalizzati ad educare i ragazzi delle scuole alle problematiche delle malattie rare con l'obiettivo di favorire l'integrazione scolastica e sociale dei bambini e dei giovani con malattia rara.
- Creare informazione, e corsi di formazione per le persone per le famiglie e per gli operatori, collaborando con una rete nazionale e internazionale.

Un percorso ad ostacoli, irto di incognite, di passi indietro, di esami, di luoghi, di speranze, dove arrivare al traguardo rappresenta il sospirato ritorno a casa con una diagnosi certa, come mostra l'immagine della **Fig. 1**.

## Le Associazioni

Il ruolo delle Associazioni dei pazienti è stato fondamentale, anche nel nostro Paese, nell'incoraggiare politiche mirate, ricerche ed interventi di assistenza sanitaria. Molti progressi nel campo delle MR, ai diversi livelli istituzionali, sono ascrivibili proprio alle attività di queste organizzazioni, che hanno permesso alla società civile di acquisire consapevolezza della peculiarità di queste malattie e dei problemi che esse comportano. Il lavoro delle Associa-



paziente (empowerment), punto di forza delle malattie croniche globalmente considerate, è indispensabile per le MR, che oltre alla cronicità condividono una pluralità di bisogni collegati alla difficoltà del loro trattamento e al fatto che la rarità impone sforzi coordinati per migliorarne la conoscenza e l'assistenza.

All'esigenza di condividere difficoltà e problemi e alla volontà di vedere riconosciuti i propri diritti e di ricevere tutela, si aggiunge il valore peculiare del lavoro svolto dalle Associazioni delle MR che, partendo dalla condivisione di esperienze, possono costruire un bagaglio di conoscenza diverso da quello del medico, ma non di meno utile nell'affrontare correttamente la malattia. E' necessario che gli operatori sanitari e i professionisti medici si facciano promotori di un rapporto costruttivo e collaborativo con i pazienti, incoraggiando la loro informazione e sostenendo atteggiamenti solidali e comunitari. Oggi, sia a livello nazionale che internazionale, esistono organizzazioni di pazienti ben strutturate che, avendo come interesse primario singole malattie o gruppi di malattie correlate, operano, di fatto, nell'interesse di tutte le persone affette da MR.

Le Associazioni di malati rari, pur scegliendo in autonomia le loro attività, obiettivi e scopi, assumono alcune funzioni in modo ricorrente, il che potrebbe facilmente suggerire una gamma di problematiche condivise, si si propongono di:

- fornire informazioni sulla malattia rara, sui criteri diagnostici, sulle terapie, sullo stato delle ricerche, ecc;
- fare uscire dall'isolamento le persone con malattie rare e i loro familiari, aiutandoli a sviluppare modalità di convivenza, tra le esigenze dovute alla malattia e quelle sociali;
- orientare i pazienti verso i centri clinici di riferimento, potenziando l'accessibilità ai servizi. Non è ricorrente, ma crediamo comunque opportuno riportare che molte Associazioni hanno addirittura messo in piedi veri e propri centri clinici, o convenzioni con centri clinici, per il trattamento di patologie rare;
- promuovere attività scientifiche e culturali su aspetti inerenti la patologia rara, e di sensibilizzare la popolazione su questi problemi. Alcune fanno esplicitamente attività di raccolta fondi, ad esempio da destinare alla ricerca.

Come si può notare, le Associazioni di malati rari operano secondo una logica sostitutiva ed una propositiva, volendo da una parte colmare un vuoto e dall'altra stimolare sviluppo: dalla lettura di queste attività, i malati e le loro

famiglie sembrano in generale risentire di una insufficiente informazione circa la patologia; hanno bisogno di un aiuto per orientarsi nei percorsi dei servizi socio-sanitari, né gli è facile individuare i centri clinici di riferimento, che a volte sembrano oltretutto anche carenti; la ricerca medica, farmaceutica e sociale, nelle malattie rare, appare insufficiente a trattare e a rappresentare il fenomeno, lasciando scoperti bisogni e necessità dei malati rari e dei loro famigliari; da questa serie di circostanze pare conseguire un certo rischio nei pazienti, e nelle loro famiglie, ad isolarsi, sperimentando vissuti di impotenza, inadeguatezza ed esclusione(6).

Il malato raro pone ai servizi e al sistema di assistenza sociosanitaria una domanda difficile, che per essere gestita richiede una adeguata competenza organizzativa. In particolar modo nella cultura ospedaliera viene posta una sproporzionata enfasi sulla malattia associata ad un altrettanto sproporzionato disconoscimento dell'importanza degli aspetti relazionali e del ruolo attivo che giocano le componenti personali nel processo di alleanza terapeutica e fiducia. Il rapporto proposto dall'ospedale è molto spesso focalizzato sul medico specialista ed esclusivamente rivolto alla patologia, relegando il paziente a spettatore passivo. Ma se questo "modello centrato sul medico" è oramai ritenuto da superare dagli stessi medici, diventa tanto più critico nel caso di una malattia rara. Come è noto nelle malattie rare, un problema caratterizzante è proprio la mancanza di studi, competenze, protocolli di intervento in grado di automatizzare l'intervento medico. Da ciò si impone che l'intervento sia inserito in uno spazio organizzativo in grado di cogliere con plasticità questa necessità di conoscenza ed azione esplorativa, in cui la presenza attiva del paziente assume una funzione orientativa fondamentale: fondamentale ma non facile.

Lo psicologo può intervenire, in qualità di consulente, su questi aspetti organizzativi, analizzando l'assetto della cultura organizzativa e promuovendo e supportando le motivazioni, gli obiettivi e le condizioni più funzionali allo sviluppo, quindi analizzando e restituendo un'alternativa via di investimento alle resistenze. Lo psicologo può intervenire anche come parte dell'equipe ospedaliera per sostenere i diversi soggetti (pazienti, famigliari, ma anche medici, infermieri, tecnici sanitari, ecc) nel loro incontro con momenti critici e con i fantasmi e le angosce che li accompagnano: per esempio, la comunicazione della diagnosi, le fasi di peggioramento clinico, la scoperta dell'inefficacia del trattamento... cambiamenti "in negativo" ma anche "in positivo" come ad esempio la fase della cosiddetta guarigione.

---

## La rete territoriale

### In Provincia di Enna

L'ASP di Enna si articola in due aree: area Ospedaliera e area Territoriale.

L'area Ospedaliera comprende: l'Azienda Ospedaliera Umberto I di Enna, il Presidio Ospedaliero M. Chiello di Piazza Armerina, il Presidio Ospedaliero "Ferro Branciforte Capra di Leonforte e il Rappresentano strutture dotate di autonomia tecnico-gestionale ed economico-finanziaria nonché di adeguate risorse.

I Distretti Territoriali Sanitari, invece, costituiscono l'articolazione territoriale dell'azienda sanitaria provinciale all'interno della quale vengono erogate le prestazioni in materia di prevenzione, diagnosi, cura, riabilitazione ed educazione sanitaria.

I Distretti Sanitari dell'ASP di Enna sono in numero di quattro: Enna, Agira, Nicosia e Piazza Armerina, assicurano i servizi di assistenza primaria relativi alle attività sanitarie e alle integrazioni sociosanitarie nonché il coordinamento delle proprie attività con quelle dei dipartimenti e dei presidi ospedalieri. Le principali attività che i distretti assicurano sono:

- assistenza primaria: medicina generale, pediatri di libera scelta, servizi di guardia medica notturna e festiva.
- assistenza specialistica ambulatoriale;
- servizi consultoriali per la tutela della salute dell'infanzia, della donna e della famiglia;
- servizi rivolti a portatori di handicap e anziani;
- servizi di assistenza domiciliare integrata;
- servizi di Cure Palliative.

***Maggiori informazioni sono consultabili sul sito:***

**[http://www.asp.enna.it/portale/index.php?option=com\\_content&view=article&id=760:carta-sevizi-std-qualita&catid=145:servizi-erogati&Itemid=284](http://www.asp.enna.it/portale/index.php?option=com_content&view=article&id=760:carta-sevizi-std-qualita&catid=145:servizi-erogati&Itemid=284)**

Gli esami che vengono effettuati presso il territorio ennese sono consultabili al seguente link:

**[http://www.asp.enna.it/portale/index.php?option=com\\_content&view=article&id=3544&Itemid=111](http://www.asp.enna.it/portale/index.php?option=com_content&view=article&id=3544&Itemid=111)**

## Associazioni in Provincia di Enna

*Associazioni e Ordini Professionali componenti il CCA (Comitato Consultivo Aziendale) istituito presso l'ASP di Enna (art. 9 Legge R. n. 5/2009)*

- **AVIS** (*Associazione Volontari Italiani del Sangue*) Com. Enna  
**Presidente:** Giulia Buono  
Via Montesalvo n.13, 94100 Enna  
**Tel.** 331 3744341 - **email:** ennavis@libero.it
- **AISA** Sez. Sicilia  
**Presidente:** Colombo Sebastiano Giuseppe  
Via Puglia n.5, 94100 Enna  
**Tel.** 340 4143197 - **email:** teresamonello@live.it
- **AGD** (*Associazione Giovani Diabetici*)  
**Presidente:** Incardona Giovanni  
Via della Cooperazione n.16, 94100 Enna  
**Tel.** 349 3613227 - **email:** vincenzoandolina@hotmail.it
- **ASET** (*Associazione Siciliana Epatopatie e Trapianti*)  
**Presidente:** Giuseppe Petralia  
Via Marsala n.53, 94013 Leonforte  
**Tel.** 347 1896491 - **email:** ciuroantonio@tiscali.it
- **AVO** (*Associazione Volontari Ospedalieri*)  
**Presidente:** Apollonia Alice Amico  
Via S. Pellico n.1, 94100 Enna  
**Tel.** 377 1144850 - **email:** mariacarbonaro1956@gmail.com/aliceamico1@virgilio.it
- **TDM** (*Tribunale dei Diritti del Malato*)  
**Presidente:** Libera Carta  
Via Salerno n.4, 94100 Enna  
**Tel.** 0935 20099/328 3651990 - **email:** iolandaalaimo@gmail.com
- **Disabili Erei Onlus**  
**Presidente:** Fernando Cipriano  
Via Alfieri n. 97, 94015 Piazza Armerina  
**Tel.** 335 6065721 - **email:** madialuisella@virgilio.it
- **AIDO** (*Associazione Italiana Donatori di Organi*)  
**Presidente:** Marasà Orsola  
C.da Baronessa 94100 Enna  
**Tel.** 368 7359544/0935 531758 - **email:** roscanta@tin.it
- **LILT** (*Lega Italiana per la Lotta contro i Tumori*)  
**Presidente:** Pavone Milko

Via delle Muse n.43, 94100 Enna  
**Tel.** 333 6106527 - **email:** legatumorienna@gmail.com

■ **Confraternita di Misericordia**

**Presidente:** Farchica Giuseppe  
 Via Fra. G. Bevilacqua n.33, 94012 Barrafranca  
**Tel.** 338 2662702 - **email:** rossella.aleo@alice.it

■ **Autisti Soccorritori Italiani**

**Presidente:** Stefano Casabianca  
 Via Aloï n.11, 95100 Catania  
**Tel.** 3475895781 - **email:** segreteria.aasi@virgilio.it

■ **AVIS** Sez. comunale Nicosia

**Presidente:** Gurgone Paolo  
 Contrada Magnana, 94014 Nicosia  
**Tel.** 0935 639733/338 3990716 - **email:** paologurgone@tiscali.it

■ **Alzheimer degli Erei Onlus**

**Presidente:** Calcagno Giuseppa, **Delegato Enna:** Tommaso Careri  
 Piazza Enzo Trigona Preside n.19, 94015 Piazza Armerina  
**Tel.** 339 4693167 - **email:** careri.psy@hotmail.it

■ **Ordine degli Psicologi**

**Presidente:** Fulvio Giardina, Delegato Enna Carmela Savoca  
 Via dei Greci n.43, 94100 Enna  
**Tel.** 340 4246144 - **email:** carmelasavoca.enna@gmail.com

■ **IPASVI** (*Ordine degli Infermieri*) Enna

**Presidente:** Di Venti Giovanni  
 Via Montesalvo n.89, 94100 Enna  
**Tel.** 333 2607396 - **email:** diventig1@alice.it

■ **AVULSS** (Associazione Volontariato nelle Unità Locali Socio-Sanitarie)

Piazza Armerina  
**Presidente:** Irene Scordi  
 Via Domenico Tempio n.6, 94015 Piazza Armerina  
**Tel.** 0935 85556/334 7117687 - **email:** elanto@katamail.it/melina.st@gmail.com

■ **Ordine Nazionale Biologi**

**Presidente:** Vincenzo D'Anna, **Delegato Enna:** Innocenzo di Carlo  
 Via G. D'Annunzio n.34, 94015 Piazza Armerina  
**Tel.** 334 6096154/0935 981395 - **email:** dicarloinnocenzo@gmail.com

■ **Ordine prof. Assistenti Sociali Regione Sicilia**

**Presidente:** Giuseppe Graceffa, **Delegato Enna:** Francesco Bruno  
 Via delle Acacie n.6, 94100 Enna  
**Tel.** 327 668978 - **email:** brunofrancesco@outlook.it

■ **C.I.S.I.** (Centro Iniziative Sociali Internazionali) Onlus

**Presidente:** Mario Messina

Strada Vicinale Strazzavertole 51/E, 94100 Enna

Tel. 347 6656890 - **email:** Messina56@gmail.com

■ **CRI** (Croce Rossa Italiana) Comitato Enna **Onlus**

**Presidente:** A. Giovanni Insinga

Mario Petralia, Viale delle Olimpiadi n.49, 94100 Enna

Tel. 324 5925324 - **email:** mario.petralia@sicilia.it

■ **Associazione Nazionale Mutilati e Invalidi Civili**

**Presidente:** Gianluca Michele Vece

Viale DIAZ n.10, 94100 Enna

Tel. 339 8493871 - **email:** g.vece2@virgilio.it

■ **Federazione Associazioni Nazionali Disabili**

**Presidente:** Giuseppe Regalbuto

Via Capua n.4, 94012 Barrafranca

Tel. 339 4112321 - **email:** giuseppe.regalbuto@alice.it

■ **Ordine dei Medici**

**Presidente:** Renato Mancuso, **Delegato Enna:** Dr. Barbagallo

Tel. 338 1081011 - **email:** medicina.nicosia@alice.it

■ **Resp. Comunicazione CCA** (Comitato Consultivo Aziendale)

**Presidente:** Andrea Fornaia

Tel. 328 6120408 - **email:** afornaia@libero.it

---

## Volontariato, Terzo Settore e Cooperative Distretto Enna

**I**n Italia ci sono circa cinque milioni di persone che si dedicano al volontariato. Rappresentano una risorsa fondamentale per il nostro paese in moltissimi ambiti. In settori come quello dell'assistenza socio-sanitaria sono una forza di cui il sistema non può fare a meno e il loro contributo sarà sempre più necessario in una società che invecchia e con un welfare che non può essere sostenuto soltanto dallo stato. In realtà sono ancora di più le persone di buona volontà che probabilmente sfuggono alle statistiche ufficiali sul terzo settore, ma portano comunque il proprio contributo donando magari anche solo una giornata all'anno per sostenere le cause più svariate - per la scuola che frequentano i loro figli. Sul territorio della Provincia di Enna, quotidianamente, operano, spesso senza clamori diverse associazioni, la cui finalità è sempre quella di essere di aiuto a chi si trova in difficoltà.

■ **AVIS Provinciale**

**Presidente:** Fabio Pedone

Tel. 3351997965 - **email:** enna.provinciale@avis.it

**■ AVIS Enna****Presidente:** Giulia Buono**Tel.** 3313744341 - **email:** ennavis@libero.it**■ AVIS Calascibetta****Presidente:** Laura Marsala

Via S. Antonio, 39 Calascibetta EN

**Tel.** 3397133213 - **avis**calascibetta@virgilio.it**■ AVIS Valguarnera****Presidente:** Giacomo Vitello

Via Sebastiano Arena, 150 Valguarnera Caropepe EN

**Tel.** 460518129 - **email:** giacomovitello@alice.it**■ AVIS Villarosa****Presidente:** Salvatore Bruno

Via Crema, snc (Plesso scuola media) Villarosa EN

**Tel.** 0935182124 - **email:** avisvillarosa@hotmail.it**■ FRATES Catenanuova****Presidente:** Carmelo Rosselli

Corso Sicilia, 57 Catenanuova EN

**Tel.** 3496294646 - **email:** fratescatenanuova@tiscali.it**■ FRATES Centuripe****Presidente:** Carmelo Palazzo**email:** carmelo.palazzo6@virgilio.it**■ Croce Rossa Provinciale****Presidente:** Antonino Insinga**Tel.** 3394878637 - 3292082535 - **email:** enna@cri.it**■ Associazione Promozione Soc. Montika**

C.da Baronessa snc. Enna

**Tel.** 3926545632 - **email:** apsmontika@pec.it**■ Cooperativa Persefone**

Viale IV novembre 40 Enna

**Tel.** 3487632015 **email:** persefonecooperativa@legalmail.it

■ **Cooperativa Sociale Ippocrate**

Via Diana, 2 Enna

Tel. 3339393056 - email: secoim@pecconfesercentien.it

■ **Cooperativa ASMIDA**

Via G. Fava, 35 Enna

Tel. 093529422 - email: asmida@pec.it

■ **Coop. Farsi Prossimo**

Via Roma, 128 Enna

Tel. 0935510406 - 3342495325 - email: cooperativafarsiprossimo@pec.it

■ **Coop. Gente Di Domani**

Via Civiltà del Lavoro, 1 Enna

Tel. 3450195525 - email: secoim@pecconfesercentien.it

■ **Coop. La Contea Società Coop sociale**

Via l. Da Vinci, 7 Enna

Tel. 3203065128/3805322514 - email: cooperativacontea@legalmail.it

■ **Coop. La Piramide**

Via Nissoria, 5 Enna

Tel. 09355511843/3389834866 - email: Coop.lapiramide.en@legalmail.it

■ **Coop. Lenta mente liberi srl**

Via Roma, 128 Enna

email: lentamenteliberisrl@pec.it

■ **Cooperativa sociale Golem**

C.da Buglio Zia Lisa snc Valguarnera EN

Tel. 3388055558/0935957543 - email: golemsociale@arubapec.it

■ **Cooperativa Promozione sociale Percorsi**

Via Nazionale, 167 Calascibetta EN

email: percorsi.promosociale@virgilio.it

■ **AVO**

**Presidente:** Rina Prestifilippo

c/o P.O. Umberto I Enna

Tel. 093529870/3470385236 - email: avoenna@libero.it

**■ Corpo Volontari Protezione Civile****Presidente:** Giuseppe Vallone

Via Sardegna, 36 Enna

Tel. 093520421 - email: entecorpoprotezionecivileenna@gmail.com

**■ Ass. ANTEAS****Presidente:** Angelo Catanese

Via San Sebastiano, 25 Enna

Tel. 093524871 - email: Anteas.enna@alice.it

**■ Coord. Luciano Lama****Presidente:** Castellano Giuseppe

Via Civiltà del Lavoro, 17 A Enna

Tel. 0935533211 - email: assllama@tin.it

**■ Ass. Crescere Insieme****Presidente:** Angelo Mocerì

Via Passo del Signore, 126 Enna

Tel. 093524575 - email: danaemarte@tin.it

**■ Confraternita di Misericordia di Enna****Presidente:** Sutera Filippo

Via Valverde c/o santuario Madonna di Valverde Enna

Tel. 3341209437 - email: misericordiaenna@alice.it

**■ Ass. CISI****Presidente:** Messina Mario

Via Roma, 416 Enna

Tel. 093541595 - email: info@csionlus.it

**■ Ass. ANOLF****Presidente:** Cottonaro Rosario

Via San Sebastiano, 25 Enna

Tel. 0935501837 - email: anolfenna@gmail.com

**■ Ass. The Grace****Presidente:** La Tragna Laura

Via Civiltà del Lavoro, 5 Enna

Tel. 093541372 - email: thegrace.buea@gmail.com

■ **Ass. AISA**

**Presidente:** Taormina Maria  
Via Scifitello snc Enna  
Tel. 339330242 - email: taorminamaria@virgilio.it

■ **AVIS Sezione Provinciale Enna**

**Presidente:** Pedone Fabio  
Via Salvatore, 19 Enna  
Tel. 3929282634

■ **Ass. Happy Smile**

**Presidente:** Elena Marasà  
Email: associazionehappysmile@gmail.com

■ **Ass. Vita 21**

**Presidente:** Marco Milazzo  
Via Portella Rizzo, 27 Enna  
Tel. 3294335548  
Via Roma, 429 ENNA  
Tel. 3472370038 email: vita21enna@pec.it

■ **Ass. Madre Teresa di Calcutta**

**Presidente:** Giuseppe Adamo  
Piazza Pier Santi Mattarella, 50 Enna  
Tel: 09351830717

■ **Ass. SI.RO Enna Onlus**

**Presidente:** Orzan Dorica  
Via Nazionale, 284 Calascibetta EN  
Tel. 093534292 - email: dorica.oRzan@yahoo.it

■ **Confraternita di Misericordia Maria Immacolata**

**Presidente:** Scravaglieri Carmelo  
Via Vittorio Emanuele, 31 Catenanuova EN  
Tel. 3470589787

■ **Ass. Volontari per Centuripe**

**Presidente:** Palazzo Carmelo  
Via G. Garibaldi, 22 Centuripe EN  
Tel: 093573571 - email: carmelo.palazzo@virgilio.it

**■ Ass. Insieme**

**Presidente:** Catania Vita Maria  
Viale Corradino snc Centuripe EN  
Tel. 0935919414 - email: info@insiemecenturipe.it

**■ Ass. ASSVO Luna**

**Presidente:** Simonte Graziella  
Via Arimondi, 4 Valguarnera Caropepe EN  
Tel. 0935958100 - email: s.simonte@alice.it

**■ Ass. Giubbe D'Italia**

**Presidente:** Stivala Samantha  
Via Cossa, snc Villarosa EN

---

**Conclusioni**

I progressi scientifici e terapeutici alimentano grandi speranze e fanno presagire profondi cambiamenti anche se attualmente la ricerca ed i programmi ad essa correlata appare lenta anche per la scarsità di sostegno economico che si riverbera nel lento sviluppo di farmaci per le cure.

Accanto a questa "lentezza", diversamente, i pazienti e i genitori hanno sviluppato un gran numero di "gruppi di auto-aiuto" e forme di Associazionismo. Le associazioni di pazienti affetti da malattie rare mirano a raccogliere, produrre e distribuire le carenti informazioni esistenti sulla loro malattia. Le loro attività hanno assicurato e assicurano progressi nella salute e nell'assistenza sociale fornita a genitori e malati, nello sviluppo di trattamenti e nella crescita dell'interesse pubblico nei confronti delle malattie rare. Non è raro che le associazioni di pazienti promuovano raccolta fondi necessari sponsorizzare progetti di ricerca altrimenti non finanziabili.

Avere una diagnosi sicura spesso a volte aspettare alcuni anni, in un rimpallo continuo da una struttura all'altra, un tiro di dado ripetuto una, due e tre volte sperando, come in un fantasioso gioco dell'oca, si possa pervenire ad una diagnosi certa, il ritorno a casa e l'inizio di un nuovo percorso.

Non solo la diagnosi di malattia rara, ma un qualsiasi tipo di diagnosi che evidenzi a carico di un figlio una patologia cronica, ingravescente, ostacolante i processi di crescita è per i genitori e per tutta la famiglia un'esperienza carica di dolore.

La diagnosi certa, dopo un inevitabile periodo di scoraggiamento, mette la coppia, la famiglia, in grado di resettarsi, di trovare un nuovo equilibrio.

L'indeterminatezza, invece, conferisce un'ulteriore precarietà alla famiglia. Questa situazione ha delle implicazioni di notevole importanza pratica: attesta l'urgenza di una rete di centri specialistici che faccia fronte alla richiesta di diagnosi certe e che aiuti la famiglia nel difficile percorso di cura, di una presa in carico globale del paziente con malattie rare, che tenga conto anche della sfera sociale, alle nuove frontiere dell'innovazione terapeutica. Siamo sempre più consapevoli – spiega Bellagambi ad AboutPharma (8) – di come il benessere di una persona affetta da malattia rare non richieda soltanto una cura per gli aspetti clinici. Oggi si parla di assistenza integrata, che riguarda anche gli aspetti sociali. Per 'sociale' intendiamo cure riabilitative, supporto psicologico, una presa in carico territoriale, da parte dei servizi sociali in collegamento con i centri di expertise. Servizi sociali su cui c'è tantissimo di lavorare, perché c'è sempre bisogno di una formazione specifica sulle "malattie rare".

***Conflitti di interesse.** Gli autori Maria Angela Nicolosi e Mauro Sapienza dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.*

## ***Bibliografia/Sitografia***

<https://sites.google.com/site/dottsimonemontagnoli/malattie-rare-1>

Piano Nazionale Malattie Rare 2013-16 / Ministero della Salute

[http://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6\\_2\\_2\\_1.jsp?id=2153](http://www.salute.gov.it/portale/documentazione/p6_2_2_1.jsp?id=2153)

<http://www.handylex.org/stato/d180501.shtml>

<https://lacucinaglutentfree.com/2017/01/18/nuovi-lea-2017-la-celiachia-pas-sa-da-malattia-rara-a-malattia-cronica/>

<https://sites.google.com/site/dottsimonemontagnoli/malattie-rare-1>

[http://www.asp.enna.it/portale/index.php?option=com\\_content&view=article&id=760:carta-servizi-std-qualita&catid=145:servizi-erogati&Itemid=284](http://www.asp.enna.it/portale/index.php?option=com_content&view=article&id=760:carta-servizi-std-qualita&catid=145:servizi-erogati&Itemid=284)

<https://www.aboutpharma.com/blog/2018/04/19/malattie-rare-approccio>

## RUOLO DELLE ASSOCIAZIONI DEDICATE ALLA MALATTIE RARE E POSSIBILITÀ DI AZIONE IN AMBITO REGIONALE, NAZIONALE ED EUROPEO

*Claudio Ales*

**L**e malattie rare sono così tante, e con tante complessità, che altrettanto forte dovrebbe essere il coinvolgimento di tutti gli attori coinvolti per arginare i diversi problemi che affliggono i malati rari. Fra gli Stakeholders interessati a dare un forte impulso, un supporto di grande rilevanza è fornito dalle Associazioni dei malati rari che, attraverso le loro attività, garantiscono servizi utili per i pazienti ed orientano le strategie Associate sempre più verso la ricerca.

Considerate le differenti tipologie di malattie rare, circa 7000, per un totale di circa 30.000.000 pazienti in Europa, esistono tantissime Associazioni che sono raggiungibili in tutti i Database Istituzionali più importanti quali quelli dei portali Regionali Malattie Rare, dell'Istituto Superiore di Sanità, di Orphanet, del Portale Europeo Malattie Rare, di UNIAMO - Federazione Italiana Malattie Rare, di Eurordis - Federazione Europea Malattie Rare.

Con gli ultimi sistemi informatici e la possibilità di “diminuire le distanze” attraverso il WEB, si stanno incrementando le iniziative associative e lo scambio di informazioni. L'uso dei Social Network da parte delle Associazioni ha consentito altresì di diffondere conoscenze dettagliate grazie all'attenzione rivolta dai gestori delle pagine. Si deve però porre la massima attenzione alle notizie condivise ed in special modo a quelle scientifiche che rivestono molta importanza per gli argomenti trattati e che a volte possono creare false aspettative per persone che già soffrono e si trovano alla ricerca, spesso disperata, di notizie.

La Formazione dei Rappresentanti dei Pazienti, nei differenti contesti in cui si lavora per le Malattie Rare, risulta essere utile per affrontare al meglio i diversi aspetti che possono riguardare argomenti quali: Farmaceutica, Uso dei Farmaci, Aspetti Etico-Legali, Privacy Dati, Health Technology Assessment (HTA), Consenso Informato, Ricerca, Trials Clinici, Registri, Biobanche etc. Le attività formative consentono di avere più conoscenze tecniche e quindi essere di aiuto e supporto sia per i propri associati, ma anche per le collaborazioni che possono instaurarsi con i medici, centri di riferimento o i tavoli istituzionali.

Per le Malattie Rare in diversi casi (in special modo per le malattie genetiche rare) non esistono farmaci e non esiste alcuna cura. Le uniche possibilità sono la ricerca, la prevenzione e le diagnosi in tempi utili. Il 70% della popolazione dei malati rari è costituito da bambini e, purtroppo, spesso si arriva con molto ritardo alla diagnosi corretta. Secondo recenti studi effettuati da

Eurordis i ritardi nelle diagnosi sui bambini finanche agli 8/10 anni hanno percentuali elevate. Le famiglie si trovano quindi a vagare per i vari ospedali, cercando di capire cosa può avere il proprio familiare.

Tale dato fa notare quanto, in questo particolare contesto, diventa ampio il tema delle Malattie Rare non diagnosticate perché fino al momento della diagnosi il bambino è un malato raro non diagnosticato.

Esistono diverse possibilità formative ed a titolo esemplificativo si rappresentano di seguito quelle più significative.

---

### Attività di formazione Nazionali ed Internazionali

**UNIAMO - Federazione Italiana Malattie Rare (UNIAMO F.I.M.R. Onlus)** è la Federazione delle associazioni di pazienti affetti da malattie rare e l'Alleanza Nazionale Italiana di EURORDIS, *European Organisation for Rare Disease*. È nata nel 1999, ha al suo attivo circa 120 associazioni federate ed ha sviluppato diversi progetti per i malati rari, con particolare attenzione alla formazione dei rappresentanti dei pazienti che desiderano conoscere i diversi aspetti legati alle malattie rare, da mettere a frutto nelle proprie Associazioni, o per chi si trova all'interno dei Coordinamenti Regionali.

A seconda dei vari progetti, si può approfondire la conoscenza in tema di: HTA, Regolamentazioni per i farmaci, procedure per il Consenso Informato, Biobanche o aspetti Bioetici, Ricerca e Registri. Ultima in ordine di svolgimento è stata la *Season School Rare Disease* che, in 4 moduli differenti di due incontri ciascuno, ha affrontato diverse tematiche riguardanti il mondo delle malattie rare.

Non si possono conoscere 7000 Malattie Rare, ma si possono riconoscere alcuni segni clinici che messi insieme possono creare un sospetto. Da quel momento si può indirizzare il paziente verso un genetista e/o medico specialista. I Pediatri e Medici di Medicina Generale (di famiglia) che spesso si trovano in prima linea, avvertendo il primo sospetto, devono informarsi per evitare ritardi nelle diagnosi. In questo caso uno dei progetti di UNIAMO è stato "Conoscere per Assistere", incentrato e rivolto a Medici di Medicina Generale e Pediatri. Obiettivo principale è stato quello di sensibilizzare sul tema ed informare mediante l'organizzazione di appuntamenti in alcune Regioni Italiane. Con il progetto "Vociferare", invece, si è fornita alle Associazioni la possibilità di fare Rete ed a tal proposito è stata costituita la Rete Siciliana Malattie Rare. UNIAMO rappresenta i bisogni delle Persone con Malattia Rara nei più importanti tavoli istituzionali, come ad esempio AIFA, Comitati Etici e quello per l'approvazione del nuovo Piano Nazionale delle Malattie Rare.

**Eurordis – Federazione Europea Malattie Rare (European Organization for Rare Disease)** ha al suo interno circa 800 Associazioni federate presenti negli stati membri Europei o in altri paesi del mondo. L'attività che la Federazione svolge in ambito europeo è continua ed è altresì rappresentativa all'interno della Commissione Europea.

I principali eventi formativi di Eurordis si racchiudono nella Eurordis Summer School, che si effettua ogni anno a Giugno nei pressi di Barcellona e dal 2018 la Eurordis Winter School che si svolge a Parigi nel mese di Marzo. Entrambe le scuole sono certificate da Università Europee, dall'Agenzia Europea del Farmaco (EMA), dall'Ente ospitante (Per la Winter School Hopital Necker – Imagine Institute) e naturalmente da Eurordis.

L'attenzione rivolta dall'organizzazione di Eurordis alla **Summer School** è sicuramente altissima perché ogni anno forma circa 40 Rappresentanti di Associazioni di Malattie Rare nel contesto europeo.

La frequenza della Summer School è preceduta da un corso intensivo online distinto in 7 Moduli e da 7 successivi quiz. Sono visualizzabili video delle lezioni e slide rappresentative per studiare preliminarmente e rispondere ai quiz.

Le materie/argomenti da studiare nelle fasi preliminari alla scuola e successivamente *face to face* sono i seguenti: Ricerca Medica e sviluppo, Etica nello sviluppo dei medicinali, Statistiche nella Ricerca e Sviluppo dei farmaci, valutazione rischi-benefici nella farmacovigilanza, EMA, Quadro normativo medico e procedure, accesso al mercato ed HTA.

Frequentare questa scuola dà l'occasione di una formazione adeguata per affrontare le tematiche più rilevanti legate alle malattie rare che si seguono, come pure per confrontarsi con altre Associazioni Europee di malattie rare che possono presentare comorbidità simili o da cui apprendere *Best Practice*.



Fig. 1. tratta da <https://openacademy.eurordis.org/winterschool/>

**La Winter School**, realizzata presso l'Istituto Imagine di Parigi (Fig.2), fornisce elementi più tecnici legati agli aspetti genetici. Si fa presente, infatti, che la gran parte delle Malattie Rare è causata da problemi genetici.

Sono cinque giorni di lezioni intensive che riprendono gli argomenti della Summer School concentrando l'attenzione in maniera più dettagliata e specifica sugli aspetti legati a: Farmaci, Genetica, Rischi, Nuove frontiere per affrontare le ricerche, Tecniche innovative.

Vengono organizzati tavoli di lavoro che affrontano alcuni aspetti legati alle Malattie Rare. I risultati vengono poi esposti e presentati dai portavoce del gruppo. Da non sottovalutare la visita guidata all'interno dell'Istituto con attenzione alle strumentazioni di nuova generazione (Next Generation Sequencing), oltre che tutta l'organizzazione dei laboratori dove si effettuano le ricerche cliniche sugli animali.

**Eupati – Accademia Europea dei Pazienti** realizza dei *workshop* o corsi focalizzando l'attenzione sugli aspetti legati allo sviluppo dei farmaci ed alle ricerche sviluppando la conoscenza del paziente su tale argomento. Ha sedi in alcuni paesi europei usando piattaforme nazionali dove è possibile utilizzare la *tool box* (cassetta degli attrezzi) appositamente creata con e per i pazienti.

In un portale ben articolato si trovano informazioni utili sui seguenti argomenti: Affari Normativi (EMA), Medicina Personalizzata, Studi pre clinici, tipi di Farmaco, Farmacoepidemiologia, HTA, Sviluppo Farmaco ecc.

**Istituto Superiore di Sanità – Centro Nazionale Malattie Rare** organizza a Roma la **International Summer School Registry and Orphan-Drugs**. Si tratta di una scuola incentrata sullo studio e la fattibilità di un registro per una determinata patologia, e vede partecipanti e relatori di diversi paesi europei. I partecipanti, distinti per gruppi di lavoro, affrontano tutti i temi riguardanti gli aspetti tecnici e scientifici della creazione di un registro prendendo in esame tutte le possibili linee guida e le novità per la realizzazione e partecipando a Tavoli di lavoro per le esperienze pratiche e le prove di costruzione di registri. Di notevole importanza il materiale fornito che raggruppa diverse dispense o libri sui Registri fatti dai migliori esponenti mondiali del settore.

## Conferenze – Convention Scientifiche Nazionali ed Internazionali

### Fondazione Telethon - Convention Scientifica Associazioni Amiche di Telethon ed Incontro di Primavera

La Fondazione Telethon alterna ogni due anni l'Incontro di Primavera e la Convention Scientifica di Riva del Garda.

**L'incontro di Primavera** è rivolto alle Associazioni che fanno parte del circuito delle "Associazioni Amiche di Telethon". Mettendo a confronto le varie esperienze associative e le novità riguardanti aspetti di utilità collegati alle Malattie rare, è un'occasione utile per confrontarsi ed apprendere le migliori *Best Practices* da utilizzare all'interno della propria realtà associativa. Utilissimo per le piccole Associazioni di Malattie Rare che si confrontano ed hanno possibilità di fare rete.

La **Convention Scientifica** realizzata dalla Fondazione Telethon si svolge ogni due anni a Riva del Garda e mette a confronto circa 600 ricercatori scientifici, realtà associative italiane ed europee e tutti gli stakeholders coinvolti nel mondo delle Malattie Genetiche Rare. La Convention assume un valore formativo ed informativo nel momento in cui vengono illustrate e presentate le diverse novità legate alla ricerca. Di grande interesse la Sessione dei Poster presentati dai Ricercatori da cui si possono attingere informazioni legate alle diverse patologie. Utilissimi gli incontri di carattere nazionale che prevedono anche presentazioni sulle migliori pratiche associative in ambito Nazionale ed Internazionale.

**Eurordis European Conference Rare Disease (Fig. 2)** si svolge ogni due anni in una Capitale Europea ed è organizzata su tre giorni, di cui uno dedicato al Satellite Meeting degli ePAGs Representatives ed all'Assemblea di



Fig. 2. ECRD Eurordis tratta da <https://www.eurordis.org/it/news/partecipa-al-piu-grande-evento-multilaterale-del-2018-dedicato-alle-malattie-rare>

Eurordis. Gli altri giorni sono dedicati ad interventi su tutti gli aspetti delle malattie rare. Vengono svolte sessioni parallele distinte e workshop per argomenti, per cui si ha la possibilità di decidere di seguire quello di maggiore interesse per la propria Associazione. Anche in questo caso riveste un grosso interesse la Sessione Scientifica dei poster distinti per argomenti.

Negli ultimi incontri particolare è stata l'attenzione rivolta agli ERNs (European Reference Networks – Reti di Riferimento Europee) ed al ruolo svolto dai diversi rappresentanti europei che si trovano sempre più presenti nelle diverse attività delle reti: Linee guida, Registri, Ricerca, Comunicazione, Formazione.

---

## Il ruolo delle Associazioni a Livello Regionale

**C**oordinamenti Regionali Malattie Rare - sono organismi Regionali costituiti in tutte le regioni ed hanno il compito di essere di supporto per il lavoro che fanno le diverse Regioni Italiane per le malattie rare. Ormai in quasi tutti i Coordinamenti istituiti presso i diversi Assessorati Regionali per la Salute, oltre le figure dei Funzionari Regionali, Medici di medicina generale e Pediatri di libera scelta, è prevista la presenza dei Rappresentanti delle Associazioni dei Pazienti. In questo caso le associazioni possono dare un supporto sostanziale per la redazione dei Decreti o dei percorsi che i pazienti con malattia rara devono seguire. Il coordinamento ha il ruolo di verificare e controllare i Centri di Riferimento per le Malattie Rare che devono rispettare i requisiti di legge in quanto sono anche centri diagnostici, di assistenza e prescrittori.

Quindi:

- nel Coordinamento MR della Regione Toscana è presente un rappresentante del Forum Toscano delle Associazioni di MR;
- nel Coordinamento MR della Regione Campania è presente un rappresentante del Forum Campano delle Malattie Rare;
- nel Coordinamento MR della Regione Sicilia è presente un rappresentante di Uniamo FIMR;
- nel Coordinamento MR della Regione Puglia è presente un rappresentante di Uniamo FIMR;
- nell'ARS Liguria è presente il Gruppo di consultazione per le MR, composto da rappresentanti di Associazioni;
- nel coordinamento MR della Regione Lombardia è presente un rappresentante di Uniamo FIMR.

## Il ruolo delle Associazioni a Livello Nazionale

**I**l Piano Nazionale Malattie Rare (PNMR) 2013 – 2016, dopo un lungo periodo di gestazione avviato con la distribuzione di una prima bozza nel dicembre 2012, è stato adottato con l'approvazione in sede di Conferenza Stato – Regioni del 16 ottobre 2014 e rappresenta a tutt'oggi il quadro unitario di riferimento per la programmazione nel settore delle malattie rare. Alcune Regioni/Province Autonome (n=16, + 4 rispetto al dato della precedente edizione di MonitoRare) hanno successivamente provveduto a recepirlo formalmente attraverso una deliberazione della Giunta Regionale o con Decreto del Presidente della Regione in qualità di commissario ad acta per l'attuazione del piano di rientro dei disavanzi del settore sanitario (es. Calabria e Molise).

Come noto, l'obiettivo principale del PNMR *“è lo sviluppo di una strategia integrata, globale e di medio periodo per l'Italia sulle MR, centrata sui bisogni assistenziali della persona e della sua famiglia e definita con il coinvolgimento di tutti i portatori di interesse, tenuto conto delle esperienze già maturate e nel quadro delle indicazioni europee”*.

Le Associazioni hanno un ruolo consultivo nella stesura del PNMR.

**Nuovi LEA (Livelli Essenziali di Assistenza)** - A compensazione degli elementi di criticità di carattere generale, sono da ricordare alcuni risultati particolarmente positivi per le persone con malattia rara. Il Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 12 gennaio 2017 *“Definizione e aggiornamento dei livelli essenziali di assistenza, di cui all'articolo 1, comma 7, del decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 502”* pubblicato nella Gazzetta Ufficiale del 18 marzo 2017, dispone, fra le altre cose, l'innovazione dei nomenclatori dell'assistenza protesica, l'inserimento nei LEA dello screening neonatale esteso per le malattie metaboliche ereditarie e l'aggiornamento dell'elenco delle malattie rare. In particolare, il DPCM relativo ai nuovi LEA dispone l'introduzione di 110 nuove entità nell'elenco, tra singole malattie rare e gruppi, i cui maggiori oneri sono stimati in 12,3 milioni di euro e la contemporanea eliminazione di alcune patologie dall'elenco in quanto non ne rispettano i criteri di definizione, in primis quello epidemiologico della rarità. Dall'elenco continuano ad essere esclusi buona parte dei tumori rari. I principi guida che hanno orientato il lavoro di revisione delle patologie inserite nella proposta di decreto, svolto in collaborazione tra il Ministero della Salute, che si è avvalso del supporto dell'ISS, e il Tavolo tecnico inter-regionale malattie rare, sono stati:

- la rarità;
- l'appropriatezza;
- la correttezza e chiarezza nella definizione delle malattie;
- la dinamicità dell'elenco;
- l'equità.

## Il ruolo delle Associazioni a Livello Europeo

### ERN European Reference Network

**L**e reti di riferimento europee (ERNs-European Reference Networks) sono reti virtuali che coinvolgono prestatori di assistenza sanitaria in tutta Europa.

Ciascun Network è composto da un Centro di Coordinamento, situato in uno dei paesi membri, e da Health Care Providers (centri di eccellenza con unità di assistenza sanitaria altamente specializzate), che hanno sede presso gli Ospedali Europei selezionati in vari paesi europei. I 24 ERN, che sono distinti per raggruppamenti di malattie rare, comprendono attualmente più di 900 Health Care Providers provenienti da 313 ospedali in 25 Stati membri (più la Norvegia), e devono affrontare malattie rare o complesse e condizioni che richiedono cure altamente specializzate. All'interno dell'organizzazione ERN ci stanno anche i rappresentanti dei pazienti ePAGs Reps che danno un contributo nei differenti aspetti organizzativi. Quali sono gli obiettivi e scopi degli ERNs?

- Fornire un'assistenza di elevata qualità ed efficace sotto il profilo dei costi;
- Collaborazione, fra tutti gli stakeholders coinvolti;

Elaborazione di orientamenti, formazione, condivisione di conoscenze;

- Agevolazione di grandi studi clinici per migliorare la comprensione delle malattie;
- Sviluppo di nuovi farmaci e dispositivi medici mediante la raccolta di un gran numero di dati sui pazienti;
- Sviluppo di nuovi modelli di assistenza, strumenti e soluzioni di sanità elettronica;
- Studio dei casi più gravi attraverso la CPMS (Central Patient Management System) una piattaforma virtuale in cui si inseriscono i casi da studiare e chi può dare un contributo dalle differenti reti può farlo.

Chi sono gli ePAGsRepresentatives?

Sono i Rappresentanti delle ePAG (European Patient Advocacy Group) o Rappresentanti Europei dei pazienti ed il loro compito in ambito ERN è quello di:

- Dare il proprio contributo al Consiglio Direttivo (Board) degli ERNs;
- Informare sulla trasparenza nella qualità delle cure;
- Consigliare sulla pianificazione generale;
- Monitorare le prestazioni degli ERNs - relazioni annuali di valutazione delle reti;
- Sviluppare un modello di valutazione per tutte le reti;
- Contribuire alla creazione dei registri ed alla ricerca;
- Identificare i centri esperti che possono aderire all' ERN;
- Promuovere e incoraggiare un approccio centrato sul paziente;
- Manifestare il punto di vista del paziente;
- Comunicare il punto di vista del paziente basato sulle evidenze;
- Contribuire allo sviluppo e alla diffusione delle informazioni sul paziente.

Nel complesso, gli ePAGsRepresentative rappresentano il punto di vista e gli interessi delle associazioni europee delle persone affette da malattie rare associate agli ERNs.

Le 24 reti di riferimento (ERNs) sono le seguenti:

1	<b>ERN BOND</b>	<b>Rete di riferimento europea sui disturbi ossei</b>
2	<b>ERN EURACAN</b>	Rete di riferimento europea sui tumori degli adulti (tumori solidi)
3	<b>ERN ReCONNET</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie muscoloscheletriche e del tessuto connettivo
4	<b>ERN CRANIO</b>	Rete di riferimento europea sulle anomalie craniofacciali e i disturbi
5	<b>Endo-ERN</b>	Rete di riferimento europea sulle condizioni endocrinologiche
6	<b>ERN EYE</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie oculistiche
7	<b>ERNICA</b>	Rete di riferimento europea sulle anomalie congenite ed ereditarie

8	<b>ERN PaedCan</b>	Rete di riferimento europea sui tumori pediatrici (ematoncologia)
9	<b>ERN Euro BloodNet</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie ematologiche
10	<b>ERN RARE-LIVER</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie epatiche
11	<b>MetabERN</b>	Rete di riferimento europea sui disturbi ereditari del metabolismo
12	<b>ERN RITA</b>	Rete di riferimento europea sull'immunodeficienza e le malattie autoinfiammatorie ed autoimmuni
13	<b>ERN ITHACA</b>	Rete di riferimento europea sulle malformazioni congenite e le disabilità intellettuali rare
14	<b>VASCERN</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie vascolari multisistemiche rare
15	<b>ERN-RND</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie neurologiche
16	<b>ERN EURO-NMD</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie neuromuscolari
17	<b>ERKNet</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie renali
18	<b>ERN Skin</b>	Rete di riferimento europea sui disturbi dermatologici
19	<b>ERN eUROGEN</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie e condizioni urogenitali
20	<b>ERN LUNG</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie respiratorie
21	<b>ERN GENTURIS</b>	Rete di riferimento europea sulle sindromi da rischio di tumore ereditario
22	<b>ERN EpiCARE</b>	Rete di riferimento europea sull'epilessia
23	<b>ERN TRANSPLANT - CHILD</b>	Rete di riferimento europea sui trapianti nei bambini
24	<b>ERN GUARD HEART</b>	Rete di riferimento europea sulle malattie cardiache

Per saperne di più sugli specialisti e i centri clinici della Rete Nazionale Malattie Rare, la possibilità di esenzione dalle spese dell'assistenza sanitaria, le malattie rare senza diagnosi, le sperimentazioni cliniche su specifiche malattie rare ed altro, è possibile rivolgersi a:

- Telefono Verde Malattie Rare 800 896949
- Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità
- Servizio SAIO 800662541
- UNIAMO Federazione Italiana Malattie Rare

***Conflitti di interesse.*** *L'Autore Claudio Ales dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*



## MALATTIE RARE E BIOETICA

Salvatore Amato, Matteo Negro

**L**e malattie rare costituiscono al giorno d'oggi un oggetto d'indagine di sempre maggior interesse non soltanto in ambito biomedico, ma anche per la bioetica applicata agli studi genetici e al percorso terapeutico e psicosociale dei pazienti coinvolti. Il riflesso esistenziale delle malattie rare è costituito dai "farmaci orfani", un'espressione suggestiva che stigmatizza la grave situazione determinata da queste potenzialità terapeutiche non sfruttate che impongono di abbandonare al loro destino, a causa del modello di sviluppo della nostra società, milioni di persone che potrebbero avere un'adeguata assistenza. Ma, fino a che punto il rispetto del principio della "sanità possibile" può giustificare gli orizzonti della "sanità negata"? Nonostante la limitatezza del contesto terapeutico e normativo, appare chiaro che il soggetto affetto da patologie rare è in molti casi capace di esprimere nuove modalità di adattamento e nuove forme di equilibrio, a prescindere dalla correzione delle anomalie. L'*empowerment*, entro questa prospettiva, è certamente possibile ed è connesso ad un cambio di orizzonte della medicina: da medicina della cura a medicina dell'adattabilità. In questo senso, un ruolo di supporto del tutto privilegiato hanno quelle realtà, prevalentemente di natura associativa, che raggruppano quanti sono affetti da malattie rare, nel loro insieme o per patologie specifiche.

---

### Profili etico-giuridici.

**L**e malattie rare costituiscono al giorno d'oggi un oggetto d'indagine di sempre maggior interesse non soltanto in ambito biomedico, ma anche per la bioetica applicata agli studi genetici e al percorso terapeutico e psicosociale dei pazienti coinvolti. Le "malattie orfane", così denominate in origine a testimonianza dell'abbandono e della sottovalutazione da parte della ricerca farmacologica e delle istituzioni deputate a garantire l'assistenza sanitaria ai pazienti e la relativa copertura finanziaria, sono sempre più diffuse ed esiziali. Negli Stati Uniti si costituisce, nel 1982, la *National Organisation for Rare Disorders*: un primo importante passo nella direzione di una presa di coscienza pubblica (e politica) dopo decenni di appelli a vuoto rivolti alle istituzioni da parte di individui e famiglie coinvolti. L'incidenza sociale delle malattie rare è d'altronde molto alta: in Europa sono responsabili del 10% dei decessi di soggetti in età compresa tra 1 e 5 anni. In Italia la malattia rara viene definita così: «Malattia la cui prevalenza, intesa come il numero di casi presenti su una data popolazione, non

superi la soglia di cinque casi su diecimila persone, e sia inclusa in una delle seguenti liste di riferimento: lista EMA (collegata ai pareri espressi dal Comitato medicinali orfani - COMP); lista del Centro nazionale malattie rare dell'Istituto Superiore di Sanità». È questa la più recente definizione giuridica, contenuta nel Decreto del Ministero della Salute del 7 settembre 2017 che detta la *Disciplina dell'uso terapeutico di medicinale sottoposto a sperimentazione clinica*. Lo stesso Decreto prevede, nel caso di tumori rari, che l'incidenza sia inferiore a 6 su 100.000 l'anno. E' più dettagliata la definizione contenuta nel Regolamento della Comunità europea n. 141/2000: «a life-threatening or chronically debilitating diseases which are of such low prevalence (less than 5 per 10.000) that special combined efforts are needed to address them so as to prevent significant morbidity or perinatal or early mortality or a considerable reduction in an individual's quality of life or socio-economic potential» (1, 1089 e ss. Un'analisi dettagliata si trova in 2).

Dietro le definizioni e gli schemi statistici si sviluppa un cruciale problema etico che ha risvolti scientifici ed economici. Scientificamente è spesso difficile, per patologie che coinvolgono un numero ristretto di persone, condurre studi che abbiano una base di pazienti conforme ai parametri minimi richiesti dai protocolli sperimentali per garantire la validità dei risultati raggiunti. Economicamente le case farmaceutiche non hanno un mercato adeguato a giustificare i costi della sperimentazione e dell'eventuale successiva commercializzazione. Ne deriva la conseguenza paradossale per cui nel primo decennio di questo secolo sono stati approvati in Europa poco più di 60 farmaci che trattano una quarantina di malattie rare, ma altri 800 prodotti, di cui le autorità regolatorie hanno riconosciuto la potenziale efficacia, non vengono sviluppati per mancanza di fondi. La malattia da virus "Ebola" ha messo in luce, qualche anno fa, proprio una situazione di questo genere: pur in presenza di diversi studi in fase avanzata, nessuno, prima del timore che l'epidemia si diffondesse in tutto il mondo, aveva interesse a finanziare un prodotto che sarebbe stato utilizzato solo da qualche migliaio di persone in una delle parti più povere del mondo.

Il riflesso esistenziale delle malattie rare è, infatti, costituito dai "farmaci orfani", un'espressione suggestiva che stigmatizza la grave situazione determinata da queste potenzialità terapeutiche non sfruttate che impongono di abbandonare al loro destino, a causa del modello di sviluppo della nostra società, milioni di persone che potrebbero avere un'adeguata assistenza. Solo in Europa sono circa 30 milioni le persone affette da malattie rare, la metà delle quali si sviluppa già in età pedia-

trica. Questa evidente ingiustizia non è dovuta soltanto alla grettezza degli interessi economici. La scarsità delle risorse sanitarie impedisce di garantire tutto a tutti. Dovendo fare delle scelte, per quanto difficili e impietose, è comprensibile che si operino delle restrizioni proprio per quelle terapie che hanno un'incerta evidenza clinica a causa della difficoltà, se non impossibilità, nell'effettuare studi adeguati, che colpiscono un numero ristretto di persone e che non hanno un mercato in grado di ripagare gli investimenti per il loro sviluppo.

Il primo intervento giuridico per cercare di porre rimedio a questa situazione si è avuto negli Stati Uniti con l'*Orphan Drug Act* del 1983, seguito dall'*Orphan Drug Program* del Giappone nel 1993 e dall'*Australian Orphan Drug Program* nel 1998. Tutte queste normative hanno scelto di non rinunciare alla logica del mercato, preferendo intervenire con tre livelli di incentivi in favore delle case farmaceutiche: a) finanziamento di una parte delle spese per la ricerca, b) agevolazioni fiscali, c) concessione della c.d. clausola di esclusione che garantisce all'impresa produttrice un'esclusiva di mercato su qualsiasi farmaco anche equivalente per un certo numero di anni (cfr. 3, 1245 e ss.). Si è privilegiata, insomma, la via privata, evitando un intervento diretto dello Stato nella produzione dei farmaci nel timore di una probabile lievitazione dei costi, ma con l'effetto di limitare la tutela del diritto alla salute, se non addirittura del diritto alla vita.

Ha seguito questo modello l'Unione europea con il Regolamento 141/2000 che prevede, oltre alle stesse misure della legislazione di questi paesi, un'approvazione centralizzata, valida per tutti gli Stati membri dell'Unione. Il Regolamento tende anche ad abbreviare i tempi per la messa in commercio, consentendo, quando ricorrono determinati presupposti, di ottenere un'autorizzazione condizionata, pur in mancanza di dati clinici completi sulla sicurezza ed efficacia del prodotto, e prevedendo, inoltre, la possibilità di ricorrere a procedure di approvazione agevolate e accelerate. L'attenzione dell'Unione europea su questo problema è rimasta costante nel tempo. Nel secondo programma di azione nel campo della salute (2008-2013) il punto 2.2.2 è dedicato a *Promote action on the prevention of rare disease*. Nel 2009 è stato istituito l'EUCERD (European Union Commission of Experts on Rare Diseases). Sempre nel 2009 è stato emanato un *Report on Initiatives and Incentives in the Field of Rare Diseases of the European Union Committee of Experts on Rare Diseases*. Gli art. 36 e 37 del Regolamento 1901/2006 sui farmaci per uso pediatrico prevede particolari aiuti economici per i farmaci orfani (cfr. 4, 173 e ss.). Il Regolamento 536/2014 sulla speri-

mentazione clinica di medicinali per uso umano sottolinea l'esigenza di incentivare le sperimentazioni cliniche per lo sviluppo di medicinali orfani (§ 9) e sollecita una "valutazione rapida ma approfondita" per le sperimentazioni cliniche riguardanti condizioni cliniche fortemente debilitanti e/o potenzialmente letali per le quali non esistono, o esistono solo in misura limitata, opzioni terapeutiche, come nel caso delle malattie rare e ultra-rare (§ 10).

In Italia, a partire dal 1998 tutti i Piani Sanitari Nazionali indicano le malattie rare tra le priorità da tutelare. Il quadro normativo è contenuto nel D. M. 2001/279 sul *Regolamento di istituzione della Rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie*. Il Decreto individua una prima serie di patologie soggette ad esenzione e istituisce una Rete Nazionale per la prevenzione e la sorveglianza, attivando un Registro Nazionale presso il Centro Nazionale Malattie Rare (CNMR) dell'Istituto Superiore di Sanità (ISS). Affida, poi, alle Regioni il compito di individuare i centri per la diagnosi e la cura al fine di effettuare la sorveglianza e attuare un'adeguata programmazione sanitaria.

Tuttavia il decentramento regionale che dovrebbe garantire un rapporto più immediato e mirato con le esigenze dei pazienti, costituisce uno degli elementi critici del nostro sistema sanitario, perché l'Italia è il paese europeo con la più grande differenza di PIL pro-capite tra le singole regioni. Il Pil della regione più povera è solo 1/3 di quello della più ricca. Questa situazione economica determina grosse differenze nella possibilità di accesso ai trattamenti sanitari, provocando discriminazioni che si ripercuotono pesantemente proprio su quelle situazioni marginali che, come le malattie rare, impongono un particolare impegno di spesa.

Fino a che punto il rispetto del principio della "sanità possibile" può giustificare gli orizzonti della "sanità negata"? Il Comitato Nazionale per la Bioetica nel documento su *Farmaci orfani per le persone affette dalle malattie rare* del 25 Novembre 2015 ha affermato con chiarezza che «il diritto alla cura della salute delle persone affette da malattie rare non può essere messo in discussione dalla contrazione delle risorse economiche e da scelte di allocazione dei fondi guidate dal solo criterio costo-efficacia». Il Comitato ha anche indicato una serie di misure che potrebbero rendere più accettabile il rapporto costi-benefici. Innanzitutto la riduzione della soglia che definisce la rarità di una malattia per poter usufruire del fondo europeo per lo sviluppo dei farmaci, in modo da favorire la ricerca su farmaci realmente innovativi. Questa misura

dovrebbe essere accompagnata dalla promozione di sperimentazioni cliniche su base multicentrica, nazionale e internazionale, creando un fondo europeo destinato alla ricerca traslazionale di nuovi farmaci orfani con un sistematico monitoraggio dell'efficacia e della tollerabilità dei farmaci concessi ad uso compassionevole o utilizzati in forma off-label. Sarebbe opportuno, inoltre, promuovere il trasferimento dei risultati delle ricerche nelle cure delle malattie rare e la contestuale adozione di un maggiore rigore nei criteri di valutazione del tasso di innovazione dei farmaci orfani prima della loro immissione sul mercato, garantendo le migliori pratiche cliniche nazionali e internazionali a tutti i pazienti, senza eccezioni o differenze a livello regionale. Un risparmio di spesa potrebbe derivare anche da una più efficiente presa in carico nelle prime fasi della patologia, riducendo il numero dei casi non diagnosticati, abbattendo i tempi della diagnosi e aumentando la disponibilità della consulenza genetica per le malattie ereditarie. Non poche risorse potrebbero essere ricavate dalla redistribuzione del carico di spesa per alcune classi di farmaci di largo impiego e basso costo. Il Comitato propone, inoltre, che le più importanti case farmaceutiche, produttrici di farmaci di largo consumo che procurano redditi notevoli, siano incoraggiate ad "adottare" almeno una delle malattie orfane. Se è vero, come sostiene Joseph Stiglitz (5), che le maggiori case farmaceutiche spendono più in promozione e pubblicità che in ricerca, quale maggiore pubblicità potrebbe derivare da un investimento che, almeno per una volta, avrebbe immediate ricadute etiche?

---

### Malattie rare e adattabilità.

**I**l versante economico e giuridico costituisce l'aspetto di più immediato impatto sociale, ma sarebbe ingiusto trascurare il versante strettamente bioetico, dedicato alla condizione di difficoltà esistenziale e all'isolamento cui non di rado soggetti affetti dalle patologie rare, soprattutto di origine genetica, si vedono costretti. In un recente studio apparso in Francia (6), Marie-Hélène Boucand, medico e bioeticista, ha affrontato l'argomento sotto una luce diversa, focalizzando in prima istanza il vissuto dei pazienti e il loro modo di rappresentare narrativamente gli stessi contenuti che la ricerca genetica veicola. Interessante è in questo senso la scoperta di un senso comune che di fatto reinterpreta il dato scientifico, assegnandogli metaforicamente o simbolicamente significati e statuti che il dato, estrapolato dal contesto dei protocolli, di fatto non possiede. Qualcuno in proposito ne ha già par-

lato nei termini di un "essenzialismo genetico": una sorta di rappresentazione sostanzialistica dei geni, concepiti come delle "entità" autonome e isolate, collocate in un universo ontologico cui il senso comune attribuisce caratteristiche e proprietà tra le più varie, intelligibili però dal solo punto di osservazione del paziente. Uno studio apparso negli Stati Uniti nel 1995, riedito nel 2004 e non ancora tradotto in italiano, *The DNA Mystique: The Gene as a Cultural Icon*, è particolarmente illuminante sotto questo profilo (7). In realtà, esempi di una trasposizione metaforica vengono già forniti dalla pubblicistica o dalla letteratura divulgativa. Basti pensare all'espressione "gene egoista" o ad altre semplificazioni ricorrenti (il gene "della violenza", o "della felicità"), che colpiscono immediatamente l'immaginazione senza tuttavia rinviare a dei riferimenti diretti e precisi nell'ambito delle scienze biologiche. Ciononostante, il vissuto dei pazienti è una dimensione nient'affatto trascurabile, perché fornisce di fatto una testimonianza imprescindibile sulla condizione di sofferenza esistenziale in cui versano e sulla quale è indispensabile raccogliere informazioni, al fine non solo di offrire un adeguato accompagnamento e una relazione di cura attenta alle esigenze più profonde, ma soprattutto di stabilire un'identità narrativa. Molti sono gli aspetti di cui tenere conto ai fini di una valutazione etica dell'impatto della relazione di cura sulla condizione di vita delle persone affette da malattie rare. Tra questi, risalta in modo particolare la mancanza di fiducia e, in alcuni casi, la colpevolizzazione del medico a causa di una diagnosi errata o tardiva. Le malattie rare catalogate sono circa 7000 e la loro diagnosi non sempre è semplice, soprattutto se viene richiesta in prima battuta, com'è d'altronde ovvio che lo sia nella maggior parte dei casi, al medico di medicina generale o al pediatra di famiglia. Gli stessi specialisti non sempre sono in grado di formularla correttamente, se il numero di casi è globalmente molto ristretto. Non è pertanto infrequente l'esperienza di un salto cronologico, di uno scarto temporale anche significativo tra il momento dell'insorgere dei sintomi della patologia e il momento della sua identificazione. Il periodo che intercorre tra i due momenti è caratterizzato da un profondo stato di prostrazione legato all'incertezza. Paradossalmente risulta essere proprio l'incertezza la causa dominante della prostrazione del paziente (e dei suoi familiari), accompagnata dalla delusione e dal rigetto del proprio stato, difficile da decifrare e riconoscere. Quando la diagnosi viene formulata e la patologia identificata, allo stato di prostrazione fa seguito il sollievo. Anche questa condizione è per certi paradossale e peculiare: non è la regressione della malattia a sollevare il paziente,

ma la sua identificazione, la sua nominabilità. Il soggetto (paziente o familiare) percepisce in un modo o in un altro, prima ancora che venga elaborato un percorso terapeutico, che tutta la vita sarà segnata dall'alterazione genetica e che quella condizione è probabilmente irreversibile, ma prova sollievo nel pronunciare finalmente il nome del male: nominandolo, ne sancisce la realtà; può finalmente confrontarsi con qualcosa di reale, e non con delle mere ipotesi. Due elementi vanno sottolineati. Il primo è relativo appunto al potere del dare il nome, con «un enunciato performativo – osserva la Boucand –, che avrebbe anche il potere di rendere la malattia reale perché riconosciuta dalla medicina» (6, 66, trad. Negro). Il secondo elemento è quello, decisivo, relativo alla costruzione dell'identità del soggetto. Il paziente ha bisogno, come chiunque altro, di identificare sé stesso a partire da eventi, qualità, proprietà reali e conoscibili. L'aleatorietà e l'incertezza ostacolano l'auto-rappresentazione, la rendono opaca e sfumata. Se il soggetto non sa dire chi è, da quale patologia è affetto, in quale condizione ultimamente si trova, non è poi neanche in grado di costruire un percorso personalizzato di adattamento al suo nuovo stato, di acquisizione di un nuovo equilibrio e di una nuova normalità. Né va tralasciato il tema del tutto particolare della sofferenza delle madri e dei padri: anch'essi si misurano con l'incapacità di gestire una situazione di incertezza diagnostica e terapeutica, cui si aggiunge l'oggettiva solitudine nella quale spesso si ritrovano, insieme ad un acuto senso di colpa per aver trasmesso al figlio o alla figlia una malattia genetica incurabile. Questo genere di patologia, che non si contrae ma si eredita, è vissuta come una condanna a vita. La relazione con la malattia rara di origine genetica è inoltre complicata dal fatto che essa è al contempo qualcosa di interno e di esterno al soggetto che ha ereditato l'anomalia, e ciò comporta delle ripercussioni sul piano della costruzione del proprio sé, soprattutto se i sintomi appaiono in età infantile, in una fase in cui l'identità personale è ancora in evoluzione. La Boucand descrive appropriatamente il nodo problematico: «La rappresentazione è ontologica nella misura in cui il malato considera che l'anomalia del gene esiste come un "essere in sé", entità per lui malvagia e indipendente dalla sua volontà, un'anomalia che è sempre più localizzata in maniera assai precisa. Essa corrisponde in questo senso al carattere riconoscibile e malefico dell'agente ontologico. Ma questa anomalia non proviene dall'esterno. Anzi, essa è nel punto più intimo dell'endogeno, essendo il gene l'espressione di ciò che è più intimo della persona; tuttavia non proviene da lì, senza essere realmente esogena. La trasmissione ereditaria sarebbe qualcosa

che si trova a metà strada, né totalmente esogena, né totalmente endogena al malato che ne è portatore» (6, 98, trad. Negro). Nell'esperienza del soggetto affetto da patologia cronica rara si sommano pertanto le limitazioni indotte dall'esterno (ambiente, società) a quelle dettate dal corredo naturale e dal patrimonio genetico. Come favorire, in questa condizione fortemente debilitante, il processo di riadattamento e di potenziamento delle capacità? Porre il tema dell'*empowerment* nel quadro di queste patologie è una sfida cruciale da qui al prossimo futuro. Non si possono però elaborare in astratto concetti o parametri di riferimento per l'*empowerment*. Bisogna prendere in considerazione ciascuna situazione concreta recuperando l'idea che è *in primis* il paziente a percepire da sé il confine tra normalità e patologia, e a ristabilire un nuovo equilibrio normativo, a partire dalla condizione in cui versa. In proposito ci ricorda autorevolmente Georges Canguilhem, nel suo celebre studio apparso in Francia nel 1966: «La frontiera tra il normale e il patologico è imprecisa per individui diversi considerati simultaneamente, ma è estremamente precisa per un solo e medesimo individuo considerato successivamente. Ciò che è normale in quanto normativo in condizioni date, può divenire patologico in un'altra situazione, e si mantiene identico a se stesso. Di tale trasformazione è giudice l'individuo, in quanto è lui a patirne, nel momento stesso in cui si sente inferiore ai compiti che la nuova situazione gli pone» (8, 147). Sotto questo profilo la particolarità genetica in quanto tale, benché implichi un potenziale patogeno, in assenza di segni clinici non riduce la capacità di adattamento del soggetto e dei comportamenti che questi mette in atto. Non è il gene in quanto tale a definire la patologia, ma l'insieme complessivo dei fattori soggettivi con cui il gene interagisce (6, 142: «le porteur d'une particularité génétique, c'est-à-dire de la normalité biologique du gène, sans aucun signe clinique, n'est pas malade, au sens canguilhemien, tant que son comportement adaptatif n'est pas affecté par cette particularité. La génomique n'a plus de pouvoir que le thermomètre!»). Ha ragione pertanto Canguilhem: «L'uomo non si sente in buona salute – che è la salute – se non quando si sente non solo normale – vale a dire adattato all'ambiente e alle sue esigenze – ma normativo, capace di seguire nuove forme di vita» (8, 164), cioè capace di esprimere nuove modalità di adattamento e nuove forme di equilibrio, a prescindere dalla correzione dell'anomalia genetica. L'*empowerment*, entro questa prospettiva, è certamente possibile ed è connesso ad un cambio di orizzonte della medicina: da medicina della cura a medicina dell'adattabilità. In questo senso, un ruolo di supporto del tutto pri-

vilegiato hanno quelle realtà, prevalentemente di natura associativa, che raggruppano quanti sono affetti da malattie rare, nel loro insieme o per patologie specifiche. La loro finalità, oltre all'interlocuzione con gli attori istituzionali, è di mettere in moto iniziative strutturate volte a migliorare la qualità della vita dei soggetti coinvolti, a potenziarne le capacità e a offrire assistenza e solidarietà in collaborazione con i medici specialisti. Uno dei rischi maggiori che i pazienti e i loro familiari o *caregiver* corrono è infatti proprio la percezione della solitudine, del ritrovarsi a lottare da soli nel soddisfare i bisogni anche più elementari, nello svolgere le mansioni della vita quotidiana o nel proseguire il trattamento terapeutico.

**Conflitti di interesse.** *Gli autori Salvatore Amato e Matteo Negro dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.*

**Studi condotti su esseri umani e animali.** *L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.*

## **Bibliografia**

D. Tucconi, "Farmaci orfani" in *Nuova enciclopedia di bioetica e sessuologia* (Elledici, Torino, 2018), pp. 1089-1094.

Malattie rare: conoscere per assistere. *L'Arco di Giano*. 71 (2012).

A. Parziale, Il futuro dei farmaci orfani tra promozione della ricerca per la cura di malattie rare e i rischi di prezzi eccessivi: il ruolo del diritto della concorrenza. *Contratto e impresa*. 32 (4-5), 1245-1277 (2016).

G. Sena, Farmaci "orfani" e medicinali per uso pediatrico. Note critiche. *Rivista di diritto industriale*. 65 (4-5), 173-178 (2016).

J. Stiglitz, Don't Trade Away Our Health. *New York Times*. Jan. 30 (2015).

M.-H. Boucand, *Une approche éthique des maladies rares génétiques. Enjeux de reconnaissance et de compétence* (Éditions érès, Toulouse, 2018).

D. Nelkin, M.S. Lindee, *The DNA Mystique: The Gene as a Cultural Icon* (University of Michigan Press, Ann Arbor, 2004).

G. Canguilhem, *Il normale e il patologico* (Einaudi, Torino, 1998).



**SECONDA PARTE:**

**MALATTIE RARE IN ETÀ PEDIATRICA: DIAGNOSI,  
PRESA IN CARICO E POSSIBILITÀ TERAPEUTICHE**

## APPROCCIO DIAGNOSTICO AL NEONATO CON MALFORMAZIONI CONGENITE

Giovanni Corsello

**L**e malformazioni congenite sono difetti di sviluppo di un organo o di una regione corporea, presenti alla nascita o identificabili nella vita intrauterina attraverso metodiche di screening o diagnosi prenatale. Sulla base di un criterio clinico, le **malformazioni** congenite si definiscono **maggiori** quando i difetti delle morfogenesi assumono una rilevanza clinica e/o estetica e necessitano di un intervento medico e/o chirurgico. Difetti che non implicano alterazioni morfostrutturali rilevanti sul piano clinico sono considerati **malformazioni minori** se risultano presenti in meno del 4% della popolazione di riferimento e **varianti fenotipiche** se presenti con frequenza maggiore (tra il 4% ed il 50%). Il rilievo di una malformazione maggiore singola, espressione della alterazione di un unico campo di sviluppo embrionario, comporta oggi sempre più spesso l'avvio di interventi terapeutici e abilitativi, spesso plurispecialistici, tesi in primo luogo a favorire il recupero anatomico o funzionale dell'organo o dell'apparato interessati. Un difetto strutturale minore singolo è generalmente un carattere familiare con trasmissione mendeliana, più frequentemente autosomica dominante. Anomalie isolate quali le sindattilie cutanee, l'epicanto o la ptosi palpebrale ne sono esempi di frequente riscontro clinico. Difetti congeniti minori e multipli possono con frequenza essere associati a dei difetti maggiori, non sempre evidenti sul piano clinico alla nascita. In presenza di tre o più anomalie minori è elevata la probabilità che esse dipendano da una patologia genetica o sottendano una malformazione maggiore. Di fronte a soggetti con quadri plurimalformativi, l'analisi del fenotipo tende alla ricerca della etiologia e delle dinamiche patogenetiche dei difetti. È una ricerca che oggi si avvantaggia di una serie di test genetici e citogenetici di nuova generazione, che hanno ampliato il panorama delle opportunità di diagnosi. La classificazione più diffusa distingue malformazioni primarie, secondarie (o *disruptions*) e deformazioni.

Le **malformazioni primarie** sono difetti della morfogenesi che dipendono da un errore intrinseco del processo di sviluppo, presente sin dal concepimento. Queste malformazioni hanno, quindi, un'origine genetica. Le **disruptions** si verificano in un prodotto del concepimento che, dopo aver avviato i processi di sviluppo con modalità e cronologia normali, subisce per opera di fattori ambientali un arresto globale o dei danni settoriali su singoli campi di sviluppo. Queste alterazioni possono avere natura vascolare (da interruzione del flusso ematico che irrorava uno o più campi di sviluppo durante la differenziazione) o essere provocate da agenti teratogeni (di natura biolo-

gica, fisica o chimica); inoltre, possono estrinsecarsi con un singolo difetto ovvero assumere una dinamica sequenziale con un meccanismo a cascata (vedi sequenze). Le **deformazioni** derivano da compressioni *ab estrinseco* di natura meccanica su una o più regioni corporee, realizzatesi in un periodo più tardivo (fetale) dello sviluppo intrauterino. Le cause di deformazioni più frequenti sono le briglie amniotiche, la gemellarità, la presenza di malformazioni e tumori uterini. In alcuni casi le deformazioni possono assumere un andamento sequenziale, con difetti multipli collegati tra loro con una relazione patogenetica di causa ed effetto, quali ad esempio le deformità del piede in corso di oligoidramnios o le alterazioni posturali degli arti in corso di sequenza da ipocinesia fetale.

Seguendo infine una ottica patogenetica, un quadro polimalformativo può essere inquadrato come sequenza, sindrome, associazione o displasia. Le **sequenze** sono dovute ad una cascata di processi dismorfogenetici collegati tra loro da una relazione di causa ed effetto innescata da un singolo evento iniziale; un difetto primario induce quindi un corteo di difetti secondari cronologicamente e patogeneticamente correlati. Nelle **sindromi** i difetti strutturali che interessano varie regioni corporee sono provocati da cause genetiche o ambientali che agiscono su più campi di sviluppo durante l'embriogenesi. Il termine sindrome implica, quindi, una singola causa (peraltro nota o presumibile), sebbene sia diffuso un uso improprio del termine spesso esteso ad una gamma più vasta di quadri polimalformativi. Le **associazioni malformative**, per lungo tempo considerate degli eventi sporadici in cui i diversi difetti erano esclusivamente correlati tra loro da una probabilità di compresenza nello stesso soggetto maggiore rispetto a quella presumibile secondo i dati statistici, sono oggi riconosciute come disordini della blastogenesi. Si tratta cioè di quadri dismorfogenetici multipli dovuti all'azione di uno o più fattori esogeni o endogeni sui processi evolutivi che caratterizzano la blastogenesi, periodo di sviluppo che comprende le prime quattro settimane dopo la fecondazione. In questa fase l'embrione è un campo di sviluppo unico, in cui i processi morfogenetici si svolgono in modo sincrono e contestuale. Le anomalie congenite più caratteristiche di questo periodo sono quelle a carico della linea mediana, dei somiti vertebrali, dei rapporti di lateralità e simmetria. Alcune associazioni sono identificate attraverso acronimi costituiti dalle iniziali dei singoli difetti congeniti che le compongono: VACTERL (*Vertebral defects, Anorectal atresia, Cardiac anomalies, Tracheoesophageal fistula, Esophageal atresia, Renal anomalies, Limb defects*) e CHARGE (*Coloboma, Heart disease, Atresia of choanae, Retarded mental development, Genital hypoplasia, Ear anomalies*) sono le associazioni più note. Alcuni quadri clinici inizialmente inquadrati come associazioni, sono stati successivamente rico-

nosciuti come sindromi malformative, in seguito alla identificazione di nessi etiologici precisi (ne è un esempio la sindrome VACTERL-H, caratterizzata anche da idrocefalo, che ha una base monogenica ormai certa con possibilità di trasmissione autosomica recessiva o X-linked) o la stessa CHARGE, oggi inquadrata come sindrome in quanto legata a mutazioni o delezione di un gene mappato sul braccio lungo del cromosoma 8. Le displasie sono quadri dismorfogenetici a determinismo genetico che interessano gli elementi costitutivi di un solo tessuto. Dal punto di vista biologico, le displasie sono affini ai difetti congeniti del metabolismo in cui il difetto qualitativo o quantitativo di un enzima può rendersi responsabile di difetti strutturali a carico di uno o più distretti corporei. Il coinvolgimento di strutture che derivano da un singolo tessuto orienta verso la diagnosi di displasia; le osteocondrodisplasie sono il prototipo di questo gruppo eterogeneo di condizioni monogeniche a trasmissione mendeliana il cui follow-up diagnostico e terapeutico è legato prevalentemente alle peculiarità del tessuto di origine.

---

### Inquadramento clinico

**L**a nascita di un soggetto che presenta delle malformazioni multiple avvia un processo diagnostico il cui obiettivo primario è quello di giungere ad una precisa definizione nosologica. Le malformazioni congenite possono riconoscere cause e processi evolutivi diversi in presenza di un identico pattern fenotipico. A volte solo seguendo la storia naturale di una condizione si ha la possibilità di valutarne il fenotipo completo e di acquisire elementi utili per una diagnosi appropriata.

L'**iter diagnostico** in campo dismorfologico prevede l'esecuzione di indagini anamnestica, analisi del fenotipo ed esecuzione di indagini specialistiche. Presupposto comune di ogni diagnosi appropriata deve essere una oculata **anamnesi** in primo luogo familiare, ma anche gravidica e perinatale. L'inchiesta anamnestica familiare, con la eventuale compilazione di un albero genealogico (la simbologia usata nella costruzione di un albero genealogico), è importante per la raccolta di eventuali fattori di rischio preconcezionale (consanguineità, poliabortività, morti neonatali, età materna e/o paterna avanzata) in grado di orientare la diagnosi verso una patologia a determinismo genetico. L'**anamnesi** è importante anche perché può utilmente indirizzare l'**analisi del fenotipo** verso patologie insorte durante la vita intrauterina o in epoca perinatale, quindi non riconducibili ad una causa genetica. L'analisi del fenotipo deve in primo luogo ricercare la presenza di difetti strutturali singoli o multipli, minori e/o maggiori nel soggetto in esame. Una ricerca accurata deve essere indirizzata verso i problemi più frequentemente

associati ai difetti congeniti nelle sindromi a determinismo genetico, quali:

- il ritardo dello sviluppo neuropsicomotorio
- le alterazioni del pattern di accrescimento staturale e/o ponderale
- i disordini dello sviluppo puberale
- i danni sensoriali

I quadri di malformazioni multiple da causa genetica riconoscono in genere una base ereditaria di tipo mendeliano o una aberrazione cromosomica numerica o strutturale di cui è necessario definire le caratteristiche anche al fine della consulenza genetica. La *relazione genotipo-fenotipo* può variare per l'interazione di fattori ambientali o poligenici che modificano l'espressività di singoli geni e amplificano la variabilità fenotipica. A volte, infatti, la definizione diagnostica può non essere di immediata o agevole esecuzione; in altri casi invece essa può concludersi con l'identificazione di nuove sindromi o di nuove varianti.

---

### Associazioni Malformative

Il concetto di “associazione” in dismorfologia venne coniato per la prima volta nel 1973 con specifico riferimento alla associazione VATER. Nel 1981 una associazione malformativa venne definita come “una presenza non casuale in due o più individui di anomalie congenite multiple, non nota come difetto politopico, sequenza o sindrome” riferendosi quindi ad anomalie correlate tra loro sulla scorta di una evidenza statistica. Durante gli ultimi dieci anni è diventato chiaro che le associazioni sono vere entità biologiche, etiologicamente eterogenee, riconducibili a danni simultanei a carico dell'embrione verificatesi durante la blastogenesi. La **blastogenesi** è il periodo iniziale dello sviluppo embrionario che comprende le prime 4 settimane dopo il concepimento. In questo periodo l'embrione si comporta come un campo di sviluppo unico (o primario), contesto nel quale i processi morfogenetici avvengono in modo simultaneo nelle diverse aree. I principali processi di sviluppo che caratterizzano questo periodo sono la formazione della linea mediana, degli assi corporei, dei rapporti di lateralità e simmetria, dei somiti e la placentazione. Si è giunti, quindi, ad un nuovo inquadramento nosologico delle associazioni che possiamo ridefinire come l'”insorgenza idiopatica di anomalie multiple congenite durante la blastogenesi”. Le diverse associazioni malformative possono presentare un certo grado di *overlapping* fenotipico a conferma della loro stretta interconnessione etiologica e patogenetica. Le associazioni malformative hanno complessivamente una

frequenza significativa e costituiscono circa il 30% di tutte le anomalie congenite multiple. Esse tendono a presentarsi in modo sporadico con un basso rischio di ricorrenza. Alcune sostanze teratogene, quali l'alcool, la cocaina, l'acido retinoico, o particolari condizioni materno-fetali come il diabete materno, possono alterare la blastogenesi e condurre a disturbi dello sviluppo di varia gravità fino allo sviluppo di anomalie incompatibili con la vita. Il background genetico può determinare un rischio lievemente maggiore di anomalie in individui legati tra loro da rapporti di consanguineità.

### **Associazione Vacterl (Vater)**

È un acronimo che identifica una associazione non casuale di difetti **Ver**tebrali, **im**perforazione **An**ale, **Cardi**opatie, fistola **Tr**acheo-esofagea con **at**resia **Eso**fagea, anomalie **Ren**ali, difetti degli arti superiori (**Limbs**). Viene spesso definita come associazione VATER, termine con il quale fu descritta. I difetti cardiaci più frequenti sono i difetti del setto interventricolare. Le alterazioni degli arti includono prevalentemente i difetti radiali (ipo-aplasia del radio, aplasia del I dito), la polidattilia e la sindattilia. Possono associarsi con minore frequenza: ritardo di crescita pre- e postnatale, arteria ombelicale singola, anomalie auricolari e dei genitali esterni. L'associazione VACTERL ha generalmente un'incidenza sporadica con un basso rischio di ricorrenza. È stata osservata con maggiore frequenza tra i figli di madre diabetica. In soggetti che presentano oltre ai segni dell'associazione anche un idrocefalo ostruttivo, può essere sostenuta da mutazioni geniche con un meccanismo di trasmissione mendeliana, X-linked o autosomica recessiva. Nei casi che oltrepassano l'epoca neonatale ed il I anno di vita spesso si evidenziano un ritardo di crescita staturò-ponderale e difficoltà dello sviluppo neuromotorio. Nella maggior parte dei casi, le capacità intellettive sono normali. Nella maggior parte dei casi è particolarmente utile un idoneo approccio terapeutico e riabilitativo, anche in relazione alle problematiche ortopediche (scoliosi) e chirurgiche (stenosi anorettali ed esofagee).

### **Malformazioni nel nato da madre diabetica**

La patologia malformativa nel nato da madre diabetica è 2-4 volte più frequente rispetto ai nati da gravidanza normale ed è notevolmente eterogenea sul piano clinico e biologico. Il rischio relativo (RR) di malformazioni nei nati da madri diabetiche è considerato nella sua globalità di 1,8 con valori notevolmente maggiori nelle donne con diabete insulino-dipendente (RR 5,2) ed in particolare in quelle con diabete mellito insulino-dipendente (IDDM)

tipo I (RR 7,9). I fattori coinvolti nel processo di genesi del danno fetale sono diversi, e vanno dalla ipossia cronica, alla poliglobulia, alla iperaggregabilità piastrinica ed all'acidosi lattica. Il neonato da madre diabetica è di norma macrosomico per l'effetto di induzione sull'accrescimento intrauterino svolto dall'insulina, vero ormone della crescita fetale. L'iperinsulinemia fetale è secondaria alla persistente iperglicemia materno-fetale che caratterizza il diabete mellito. In presenza di danni vascolari placentari da microangiopatia il neonato da madre diabetica può presentarsi anche con un ritardo di crescita intrauterino. In studi clinici e sperimentali sui nati da donne diabetiche sono stati documentati: una inibizione dei fattori di crescita, un eccesso di acido beta-idrossibutirrico, uno squilibrio del metabolismo dell'acido arachidonico (i cui livelli intracellulari si riducono con aumento di quelli del sorbitolo), alterazioni del DNA mitocondriale e di alcune attività enzimatiche dei mitocondri con incremento dei radicali liberi. Tutti questi fattori possono risultare interagenti e depongono per una vera e propria multifattorialità della patologia malformativa in corso di gravidanze diabetiche. In embrioni di gravidanze in cui è stato provocato un diabete sperimentale sono state documentate delle alterazioni strutturali dei vasi del sacco vitellino (capillari diradati ed assottigliati) e delle cellule endodermiche (ridotta presenza di reticolo endoplasmico rugoso, ribosomi e mitocondri). Dal punto di vista nosologico le malformazioni multiple nei nati da gravidanza diabetica sono oggi considerate delle vere e proprie associazioni malformative in quanto dovute a disordini dei processi morfogenetici della blastogenesi, con coinvolgimento prevalente delle strutture mediane e degli organi simmetrici. Tutte le malformazioni congenite si possono riscontrare con frequenza più elevata in corso di gravidanza diabetica. Le malformazioni scheletriche, cardiache, renali, gastrointestinali e del SNC presentano un rischio relativo più elevato. Il quadro clinico più caratteristico dei nati da gravidanze diabetiche è la sequenza da disgenesia caudale, caratterizzata da un deficit di sviluppo delle strutture vertebrali, urogenitali ed intestinali di provenienza dal mesoderma caudale, con diversi gradi di espressività clinica sino a quello più severo della sirenomelia. La gestione clinica del nato da madre diabetica include oltre ad un attento screening della patologia malformativa, anche una valutazione metabolica tesa al trattamento dell'ipoglicemia e di altra patologia correlata. L'inquadramento clinico prevede una valutazione dell'assetto metabolico materno attraverso il dosaggio dell'emoglobina glicosilata, indice di controllo metabolico del diabete mellito. È importante che la programmazione e la prosecuzione della gravidanza includa un attento monitoraggio della glicemia (mediana dei valori giornalieri < 120 mg/dl) e dell'emoglobina glicosilata (inferiore a 10 g/dl). Nel corso di gravidanze diabetiche è possibile

l'identificazione di alcuni fattori di rischio quali lo scarso controllo metabolico preconcezionale, la presenza di IDDM da oltre 10 anni o di vasculopatia diabetica e la predisposizione genetica in termini di aplotipi HLA (DR3).

### Sequenze malformative

In alcuni casi difetti congeniti multipli possono riconoscere non solo una comune base etiologica ma anche una relazione patogenetica di sviluppo. È il caso delle sequenze malformative in cui diversi difetti strutturali derivano da un unico insulto su un processo ontogenetico che si riverbera (spesso con un meccanismo a cascata) su altre strutture in via di evoluzione morfostrutturale, gerarchicamente dipendenti dal processo precedente. Un elenco delle sequenze malformative definite è mostrato in **tabella 1**.

**TAB. I - Sequenze malformative**

NOME	CAMPI DI SVILUPPO ED ORGANI INTERESSATI
Oloprosencefalia	mesoderma precordiale, vescicola prosencefalica, rinencefalo, orbite, naso, premaxillare
displasia setto-ottica	chiasma ottico, ipofisi
Pierre Robin	mandibola, distretto orofaringeo
ipo-atireosi	tiroide
sequenza di Di George	IV arco branchiale, II e III tasche branchiali
Oligodramnios	arti inferiori, polmoni
Poland	muscolo pettorale ed arto superiore
Klippel-Feil	rachide
Potter	reni, vie urinarie, polmoni, arti, facies
<i>prune belly</i>	vie urinarie, parete addominale
estrofie della vescica	mesoderma sottombelicale
estrofie della cloaca	mesoderma sottombelicale
Rokitanski	dotti di Muller
Sirenomelia	mesoderma caudale
Regressione caudale	mesoderma caudale

Rottura precoce dell'amnios	linea mediana, deformazioni degli arti, schisi facciali
Sequenza da acinesia fetale	distretti corporei multipli
<i>Twin-twin disruption sequence</i>	distretti corporei multipli

**Tab. 1.**

Sebbene nel maggior numero di casi le sequenze malformative siano dovute ad una patologia a determinismo genetico (sequenze malformative vere), è possibile che un danno malformativo sequenziale consegua a fattori ambientali (*disruption o deformation sequences*). È infine possibile che quadri sindromici complessi, ad etiologia genetica o ambientale, presentino nel loro contesto una sequenza malformativa che può anche risultare prevalente nel fenotipo. Nelle sequenze malformative sono numerose le regioni corporee e gli apparati che possono risultare colpiti da un disordine evolutivo; uno degli apparati più frequentemente coinvolti è quello nefro-urologico.

### Sequenza Oloprosencefalica

Comprende uno spettro di anomalie congenite dell'encefalo e della regione mediana craniofacciale che dipendono da un difetto di sviluppo mediano della vescicola prosencefalica avvenuto nel corso della blastogenesi. La sequenza oloprosencefalica è, infatti, innescata da una mancata o parziale divisione mediana del prosencefalo e del mesoderma circostante. Sia dal punto di vista anatomico che clinico presenta una notevole variabilità fenotipica; si distinguono infatti 3 varianti anatomiche e 4 varianti cliniche. È spesso presente un certo grado di correlazione tra forma anatomica e variante clinica, pur non in modo assoluto. La sua prevalenza alla nascita in studi clinico-epidemiologici diversi è variabile tra 1/5.000 ed 1/50.000; più elevata (0,4%) è l'incidenza tra gli aborti spontanei. Ampia è la sua eterogeneità etiologica, essendo stata osservata e descritta in associazione ad aberrazioni cromosomiche (trisomia 13, delezione del braccio corto dei cromosomi 2 e 18, trisomia 21, delezione del braccio lungo del cromosoma 18, triploidia), sindromi monogeniche (pseudotrisomia 13) ed embriofetopatie da fattori ambientali (diabete gestazionale, infezioni da virus citomegalico). Le forme isolate possono presentare una etiologia mendeliana (autosomica dominante, recessiva o X-linked) oppure insorgere in modo sporadico su base multifattoriale. Nelle forme autosomico dominanti è talvolta possibile identificare in uno dei genitori o in altri membri della famiglia dei segni minori della sequenza

(incisivo centrale unico, ipotelorismo). Come tutti i difetti congeniti precoci dovuti ad alterazione di processi di sviluppo della blastogenesi, è stata osservata tra i gemelli monozigotici con frequenza maggiore rispetto ai nati singoli. Nelle forme parziali è possibile una prolungata sopravvivenza che però si accompagna alla presenza di problemi neurologici di solito rilevanti. La sequenza deve essere sempre inquadrata dal punto di vista clinico e neuro-radiologico, anche ai fini di una corretta valutazione prognostica. La ricerca delle malformazioni associate o di una sottostante aberrazione cromosomica deve essere sempre eseguita per una precisa attribuzione nosologica del quadro malformativo ed in vista del consiglio genetico alla famiglia. Nelle forme ad etiologia multifattoriale il rischio di ricorrenza è stimato del 6% circa. La diagnosi prenatale si effettua attraverso l'ecografia sin dal primo trimestre di gestazione soprattutto nelle forme a maggiore espressività anatomica.

### **Sequenza di Pierre Robin**

È un difetto di sviluppo della regione orofaringea che è caratterizzato da: microretrognazia, schisi del palato secondario e turbe funzionali del distretto orofaringeo (deficit di deglutizione, distress respiratorio). La sequenza è stata per la prima volta inquadrata nel 1922 dal medico parigino da cui trae la denominazione. Il difetto di base risiede in un deficit di sviluppo della mandibola e delle regioni faringee circostanti; la schisi del palato può essere primitiva, per deficit di induzione mesodermica (a forma di V), o secondaria ad una ipoplasia degli archi mandibolari che si rende responsabile di una malposizione linguale durante la vita intrauterina. In questo caso, infatti, non si ha la normale deflessione del capo verso l'alto per cui la lingua permane nel contesto delle lamine palatine provocando un difetto di saldatura mediano del palato secondario (a forma di U). La sequenza di Pierre Robin può presentarsi solo con alcuni dei segni che la caratterizzano e ciò ha consentito di delineare 4 varianti clinico-anatomiche, distinte in relazione al tipo di schisi del palato ed alla presenza o meno di ostruzione delle vie aeree superiori. L'ostruzione respiratoria è dovuta sia alla retroglossoptosi che ad una vera e propria costrizione faringea primitiva, che si associa all'ipoplasia dell'arco mandibolare e dipende dalla alterazione del processo di migrazione delle cellule delle creste neurali. La sequenza può essere osservata isolatamente o nel contesto di sindromi più complesse da causa cromosomica (delezione del braccio lungo del cromosoma 18) o monogenica (sindrome di Stickler). Nelle forme isolate la base etiologica è di norma multifattoriale. Il destino dei soggetti con sequenza di Pierre Robin dipende spesso da un complesso di fattori interagenti. In primo luogo è legata alla eventuale presenza di difetti congeniti associati o di alterazioni cromosomiche sottostanti; in secondo

luogo alla entità del distress respiratorio che consegue alla costrizione faringea, alla retroglossoptosi ed all'ipoplasia mandibolare. Inoltre, le difficoltà di alimentazione legate ad un deficit di suzione-masticazione e di deglutizione possono dominare il quadro clinico in epoca neonatale, richiedendo un prolungato supporto nutrizionale con gavage, una lunga ospedalizzazione, una patologia da reflusso gastroesofageo o da infezioni ab ingestis. Sono importanti l'assistenza intensiva neonatale, nonché un trattamento terapeutico e riabilitativo precoce e multidisciplinare, sia per ridurre il rischio di complicanze e di mortalità che per favorire il recupero anatomico e funzionale. Il rischio di ricorrenza nella fratria o nella prole, nei casi sporadici ad etiologia multifattoriale, è relativamente basso.

### **Sequenza di Potter**

È stata la prima sequenza malformativa descritta. Riconosce come difetto di base un'agenesia renale bilaterale, grave malformazione con una incidenza di 1-3/10.000 nati, che è dovuta ad un difetto di differenziazione del blastema metanefrico. L'agenesia renale bilaterale è responsabile di una produzione urinaria nulla o gravemente ridotta, con conseguente assenza di urine in vescica ed anidramnios. Una sequenza di Potter può essere innescata anche da altre malformazioni bilaterali renali e/o delle vie urinarie che comportano un mancato afflusso urinario in vescica sin dal primo trimestre di gestazione. In seguito all'oligo-anuria fetale si determina uno stato di anidramnios a sua volta responsabile di altri danni: ipoplasia polmonare con deficit di sviluppo degli alveoli, facies dismorfica con naso a becco su un profilo appiattito, padiglioni auricolari a basso impianto e deformità posturali degli arti inferiori dovuti alla ipomotilità fetale ed alla compressione sulla parete interna della cavità amniotica. La severità dei danni, specie a livello renale e respiratorio, condiziona la elevata letalità perinatale della sequenza. Il rischio di ricorrenza nelle forme sporadiche, in assenza di quadri sindromici più complessi, è considerato del 3% circa. Nelle forme sindromiche l'analisi del fenotipo consente di individuare dei difetti associati a quelli che connotano la sequenza, orientando quindi la diagnosi. Un esempio è rappresentato dall'encefalocele occipitale, che associato ad una sequenza di Potter e alla polidattilia, orienta verso la diagnosi di sindrome di Meckel-Gruber, malattia monogenica a trasmissione autosomica recessiva con rischio di ricorrenza del 25%.

### **Sequenza Prune Belly**

È una grave sequenza malformativa da difetto primitivo nell'apparato ne-

fro-urologico e trae la sua denominazione dall'aspetto a prugna secca dell'addome del neonato ricco di protuberanze e rientramenti. I difetti di base possono essere diversi e risiedono tutti in una severa alterazione strutturale dell'uretra prossimale: agenesia uretrale, persistenza della cloaca, stenosi serrata o valvole posteriori dell'uretra, quest'ultima malformazione appannaggio esclusivo del sesso maschile. La prevalenza alla nascita di questo quadro polimalformativo è di 1-2/10.000 nati. L'ostruzione uretrale si rende responsabile sia di un oligoidramnios che di una retropressione delle urine con dilatazione della vescica, uretero-idronefrosi bilaterale ed alterazioni strutturali del parenchima renale. La vescica distesa ed ipertrofica può assumere un aspetto cistico ed interferire con il normale sviluppo della muscolatura addominale - che diviene ipoplasica e si rende responsabile di un deficit di contenimento delle anse intestinali visibili nel neonato con l'aspetto a prugna secca - e del diaframma che insieme all'oligo-idramnios è responsabile di ipoplasia polmonare. Il fenotipo della sequenza è completato nei soggetti di sesso maschile dalla ritenzione testicolare, dovuta ad una interferenza della dilatazione vescicale e della ipoplasia muscolare addominale sul normale processo di discesa dei testicoli verso lo scroto. La prognosi funzionale *quoad vitam* di questa sequenza dipende dal grado di compromissione nefro-urologica primitiva e secondaria alla stasi vescicale inveterata nella vita intrauterina, nonché dai danni dovuti all'oligo-anidramnios che possono indurre un quadro simile a quello della sequenza di Potter. Le sequenze di Potter e *prune belly* possono essere agevolmente diagnosticate in epoca prenatale attraverso lo studio ecografico, sia per il deficit grave e precoce di liquido amniotico, che per la presenza di alterazioni strutturali renali e/o delle vie urinarie. I difetti renali e delle vie urinarie sono certamente tra le malformazioni che possono essere studiate con definizione e sicurezza diagnostica più elevate nella vita intrauterina attraverso gli ultrasuoni, sebbene spesso la diagnosi differenziale tra forme cistiche isolate ed uropatie ostruttive possa risultare problematica. La diagnosi prenatale di queste condizioni può in alcuni casi già essere il presupposto non solo di un oculato intervento preventivo o di management perinatale, ma anche di un approccio terapeutico prenatale, teso quando possibile, a rimuovere le cause della patologia ostruttiva ovvero a garantire un deflusso di urine nello spazio amniotico, in attesa di un approccio chirurgico correttivo nella vita postnatale. La consulenza genetica nel caso delle sequenze di Potter e *prune belly* è spesso difficile per la notevole eterogeneità etiologica di queste condizioni. Come già osservato, infatti, pur riconoscendo nella maggioranza dei casi una genesi multifattoriale, entrambe le condizioni si possono riscontrare nel fenotipo di sindromi complesse, cromosomiche o monogeniche.

### **Estrofie della vescica e della cloaca**

Questi disordini derivano da una anomalia di sviluppo della plica caudale della parete addominale anteriore. Nell'estrofia vescicale è assente la parete anteriore dell'organo, di cui risulta esposta la parete posteriore. L'estrofia della cloaca è una anomalia più complessa in cui sono coinvolte sia le strutture urinarie che quelle intestinali per la mancata formazione del setto uretrale. L'estrofia vescicale ha una predilezione per il sesso maschile ed una prevalenza alla nascita di 1/25.000-30.000; l'estrofia della cloaca, che non ha predilezione di sesso, ha una incidenza di 1/200.000 nati circa. Nell'estrofia vescicale, in cui il difetto di base risiede nel mesoderma infraombellicale, il seno urogenitale non si fonde con le strutture cloacali, e ne risulta la esposizione della parete posteriore della vescica, la separazione delle ossa pubiche, la dislocazione inferiore dell'ombelico, la mancata discesa dei testicoli, ed infine la presenza di micropene ed epispadia. La fissurazione del muscolo elevatore dell'ano e dei muscoli puborettali può rendersi responsabile di incontinenza rettale e prolasso anale. Nell'estrofia della cloaca, in cui vi è un difetto del mesoderma più esteso, si realizzano due emivesciche, ciascuna con il suo orifizio uretrale, separate da un'area di intestino che risulta rudimentale e di norma con ano imperforato. In soggetti con estrofia vescicale è rara l'osservazione di anomalie associate, che invece sono frequenti nei soggetti con estrofia della cloaca (onfalocele o ernia ombelicale, difallo per separazione dei corpi cavernosi o clitoride fissurato, idromielia con protrusione del canale centrale dilatato del midollo spinale, difetti di chiusura del tubo neurale, anomalie renali, anomalie cardiovascolari). La diagnosi prenatale di queste condizioni di norma non è agevole come nelle altre sequenze malformative; un segno di sospetto è rappresentato dalla mancata visualizzazione ecografica della vescica in un feto con una normale quantità di liquido amniotico.

### **Sirenomelia e sequenza da regressione caudale**

Sono complessi polimalformativi che interessano diverse strutture (genito-urinarie, vertebrali, intestinali) che derivano dal mesoderma caudale. Queste sequenze malformative sono state ritenute per lungo tempo un'unica entità clinica con diversa espressività fenotipica, ma sono oggi considerate indipendenti dal punto di vista patogenetico. La sirenomelia infatti, secondo la maggior parte degli autori, sembra essere dovuta ad un disordine vascolare che consiste nella anomala formazione e posizione di un singolo vaso arterioso noto come arteria vitellina al posto delle due arterie ombelicali. Attra-

verso questa arteria anomala anche per la sede di origine, si realizza un vero furto di sangue e di nutrienti dalle strutture caudali in via di differenziazione a favore della placenta. Il fenotipo della sequenza da regressione caudale, la cui prevalenza alla nascita è stimata di 1/60.000 nati con una predilezione per il sesso maschile ed una maggiore incidenza in donne affette da diabete mellito, comprende: alterazioni strutturali degli arti inferiori sino alla fusione, agenesia della vescica, dei genitali esterni e delle vertebre caudali. Possibili sono anche difetti renali e di altre strutture della linea mediana, anche in distretti diversi, in relazione al fatto che l'embrione è un campo di sviluppo unico durante la blastogenesi. Molti di questi difetti strutturali, infatti, sono comuni a quelli descritti nelle associazioni VACTERL, dovute appunto a difetti acquisiti dall'embrione durante la blastogenesi. La sequenza da regressione caudale è dovuta ad un disordine di sviluppo più globale del mesoderma caudale che comprende alterazioni strutturali primitive delle varie componenti mesenchimali, da quelle ossee a quelle fibro-muscolari a quelle parenchimali. L'espressività fenotipica della sequenza da regressione caudale può risultare simile a quella della sirenomelia, in cui sono costanti le alterazioni strutturali degli arti inferiori, quali la fusione (di grado variabile dai piani cutaneo-muscolari alle strutture ossee con possibile allineamento posteriore per mancata rotazione anteriore). Lo spettro fenotipico di questa sequenza include lo sviluppo incompleto del sacro ed in misura minore delle vertebre lombari con alterazioni strutturali del midollo spinale e turbe neurologiche secondarie che variano dalla incontinenza sfinterica alla perdita della attività sensitivo-motoria degli arti inferiori. Frequenti sono anche le deformità posturali degli arti inferiori e le malformazioni associate della linea mediana (difetti di chiusura del tubo neurale, schisi labiali e palatine, ano imperforato).

### **Sequenza da rottura precoce dell'amnios**

È una sequenza malformativa innescata da una rottura parziale delle membrane amniotiche durante il primo trimestre di gestazione che comporta:

1. una riduzione del liquido amniotico dovuto ad un aumentato riassorbimento transamniotico (che può rendersi responsabile di difetti posturali degli arti);
2. un deficit di differenziazione delle regioni embriofetali a contatto con le membrane prive di un adeguato rivestimento amniotico (ad esempio schisi labiopalatine);
3. la formazione di bande aberranti di tessuto amniocoriale ed amniotico

che possono indurre alterazioni destruenti a livello del cranio e degli arti (amputazioni asimmetriche, costrizioni ad anello).

In alcuni casi la sequenza è stata osservata in soggetti nati da gravidanze in cui erano state praticate procedure prenatali invasive (amniocentesi). La sequenza da rottura precoce dell'amnios ha ricevuto varie denominazioni nel corso degli anni (complesso ADAM, sequenza da briglie amniotiche, *limb body wall complex*). È frequente l'osservazione di casi con espressività clinica parziale, caratterizzati dalla esclusiva presenza di amputazioni digitali, costrizioni ad anello settoriali e lievi deformità posturali. La sopravvivenza dei soggetti con sequenza da rottura precoce dell'amnios è legata all'entità ed alla distribuzione topografica dei difetti congeniti presenti. Nelle forme con esclusivo interessamento degli arti o della regione labiopalatina è necessario mettere in atto un iter di chirurgia ricostruttiva teso ad un precoce recupero sia anatomico che funzionale delle regioni coinvolte dai processi destruenti. La consulenza genetica alla famiglia nelle forme conclamate è rassicurante per il basso rischio di ricorrenza.

### **Disruption del territorio dell'arteria succlavia e Twintwin Disruption Sequence (TTDS)**

Con il termine di disruption vascolare del territorio irrorato dall'arteria succlavia si identificano un gruppo di condizioni eterogenee sotto il profilo clinico ed etiologico, di cui fanno parte principalmente le sequenze di Poland ed alcune forme di Klippel-Feil. Questi quadri clinici distinti sono caratterizzati da alterazioni strutturali a carico di diverse strutture mesodermiche irrorate dall'arteria succlavia (agenesia del muscolo pettorale e difetti di riduzione dell'arto superiore omolaterale nella sequenza di Poland; difetti vertebrali cervico-toracici nella sequenza di Klippel-Feil). In entrambe le condizioni sono frequentemente associati difetti congeniti renali o delle vie urinarie, al punto che recentemente è stata proposta la identificazione di un campo di sviluppo acro-pectoro-renale per definire i rapporti patogenetici tra questo complesso di anomalie. La TTDS è una sequenza estremamente polimorfa sotto il profilo clinico per la molteplicità delle strutture che possono farne parte, dall'encefalo agli arti, dal territorio branchiale alle strutture renali. È innescata da un arresto dello sviluppo e morte di uno dei due gemelli in una coppia di gemelli monozigotici in cui esistono anomalie vascolari placentari tra il distretto arterioso di un gemello e quello arterioso del cogemello. La commistione ematica e le alterazioni di flusso tra i due distretti rendono possibile una embolizzazione nel ricevente con interruzione del flusso e un danno strutturale nel territorio irrorato da quel distretto vascolare.

## Sequenza di George

È un quadro clinico complesso identificato nel 1965 in cui si associano un insieme di anomalie congenite a carico delle strutture che derivano dalla III e dalla IV tasca branchiale. È caratterizzata da una ampia eterogeneità etiologica e da una variabile espressività clinica tipica delle sequenze malformative in cui un difetto iniziale su un campo di sviluppo induce con un meccanismo a cascata un insieme di difetti secondari. L'insulto agisce durante la blastogenesi su un campo di sviluppo branchiale distale (III e IV tasca), nel cui contesto si differenziano il timo, le paratiroidi ed alcune componenti dell'arco aortico. Nel 50% circa dei casi si identifica grazie alle tecniche di citogenetica molecolare o di analisi del DNA una microdelezione 22q11 che consente di inquadrare la sequenza nell'ambito della sindrome CATCH22, insieme con altri quadri dismorfogenetici complessi che riconoscono la stessa etiologia come la sindrome velo-cardio-faciale. I segni clinici che più caratterizzano la sequenza sono: ipocalcemia, dovuta a deficit di paratormone per agenesia o ectopia delle paratiroidi; deficit di immunità cellulomediata, per carenza e/o anomala differenziazione di linfociti T dovuta ad una aplasia o ipoplasia timica; cardiopatie congenite, tra cui l'interruzione dell'arco aortico, il tronco arterioso comune e la tetralogia di Fallot sono le più frequenti; anomalie craniofacciali (micrognazia, schisi labiopalatine, narici antiverse, padiglioni auricolari a basso impianto); anomalie viscerali accessorie (agenesia tiroidea, atresia esofagea, malrotazione intestinale). L'evoluzione dei soggetti affetti è legata in primo luogo alla severità del deficit T-linfocitario che provoca infezioni ricorrenti ed arresto della crescita. In questi casi è richiesto un trattamento mirato dei processi infettivi in rapporto all'agente etiologico responsabile nonché un eventuale supporto con farmaci immunostimolanti. L'associazione di cardiopatie congenite spesso impone un adeguato follow-up cardiologico rivolto al trattamento dei difetti che possono essere chirurgicamente corretti. Nei soggetti con parziale espressività clinica ed anatomica della sequenza o con più prolungata sopravvivenza può emergere nel corso dello sviluppo un deficit psichico di entità variabile.

---

## Patologia malformativa acquisita in utero (Disruptions)

**N**umerose anomalie congenite possono essere ricondotte all'azione di noxae esogene che hanno agito durante la vita intrauterina. Questa patologia malformativa, dovuta a fattori ambientali che hanno alterato processi di sviluppo e differenziazione dell'embrione, ha oggi un inquadramento autonomo nell'ambito delle disruptions, termine anglosassone

difficilmente traducibile in italiano con la stessa efficacia. Si tratta di difetti congeniti singoli o multipli che interessano organi, apparati o regioni corporee, dovuti alla interruzione completa o parziale della crescita e della differenziazione di uno o più campi di sviluppo durante l'embriogenesi. Il periodo di maggiore suscettibilità è quello della organogenesi, che si estende dalla 5<sup>a</sup> alla 10<sup>ma</sup> settimana di gestazione. L'organogenesi si svolge nel contesto di aree coordinate dal punto di vista spaziale e temporale, denominate campi di sviluppo secondari o epimorfici, che grossolanamente corrispondono ad una struttura organica definitiva. Il periodo della organogenesi segue quello della blastogenesi, fase in cui il campo di sviluppo embrionario è unico, e precede quello fetale, in cui gli organi sono già definiti nei loro limiti ed i processi biologici che avvengono sono quelli della differenziazione tissutale (istogenesi) e dell'accrescimento cellulare, sia iperplastico (aumento del numero delle cellule) che ipertrofico (aumento della massa citoplasmatica). Può essere interessato un unico campo di sviluppo ovvero un contesto multidistrettuale in cui sono coinvolti vari ambiti corporei. Nel caso di malformazioni multiple va considerata anche la possibile esistenza di sequenze polimalformative da *disruptions*, quali la sequenza da rottura precoce dell'amnios (vedi sopra) o la *twin-twin disruption sequence* (vedi sopra).

Non sempre è possibile individuare le modalità ed il periodo di insorgenza di una malformazione secondaria. Una noxa esterna, infatti può compromettere lo sviluppo embrionario o fetale anche senza interferire con lo stato di salute della madre. Nei casi di patologia malformativa da *disruptions* in cui non è possibile risalire ad una causa esogena attraverso una buona indagine anamnestica o attraverso l'osservazione di segni clinici nella madre, la dimostrazione del difetto di sviluppo avviene di solito in modo occasionale, durante una esplorazione ecografica o alla nascita. Cause biologiche (microbiche e virali), chimiche e fisiche possono essere coinvolte nella induzione di difetti della morfogenesi in diverse epoche e con differenti meccanismi patogenetici. Il riconoscimento clinico di malformazioni congenite da causa esogena ha grande importanza per la consulenza genetica familiare, in quanto consente di escludere un rischio di ricorrenza significativo.

L'ampio polimorfismo clinico delle embrio-fetopatie da causa esogena permette di delineare un fenotipo caratteristico solo in alcuni casi. Il riconoscimento dei segni clinici caratteristici può rappresentare un importante ausilio diagnostico, specie in assenza di dati anamnestici o umorali utili.

### **Embriofetopatie da agenti biologici**

Le embriofetopatie da agenti infettivi sono le *disruptions* da cause ambientali più note e meglio caratterizzate dal punto di vista clinico e biologico. Molti

dei meccanismi etiopatogenetici che le determinano sono infatti conosciuti e definiti. Si tratta di quadri clinici in cui i difetti strutturali si associano variamente a ritardo di crescita intrauterino, alterazioni ematologiche e neurologiche che possono in alcuni casi essere di tale consistenza clinica da condurre a morte in epoca prenatale o in subordine a sequele permanenti (negli USA il 5-10% delle morti fetali è dovuto ad una infezione intrauterina). Il riscontro di conseguenze cliniche nel prodotto del concepimento non è costante nel caso di una infezione intrauterina, interessando solo il 30% circa dei casi. Una infezione intrauterina è però rintracciabile nel 2-4% di tutti i neonati e può essere svelata attraverso la ricerca delle IgM totali nel sangue fetale o cordonale con un titolo significativo ( $>0,2-0,3$  g/L). Le IgM sono infatti una classe di immunoglobuline che non attraversa la placenta e la loro presenza nel sangue fetale o del neonato alla nascita è una espressione sicura di attivazione immunitaria intrauterina nei confronti di agenti patogeni. In questi casi vi è di norma una contestuale alterazione strutturale della placenta, che si presenta percorsa da focolai di flogosi e di infiltrazione linfocitaria o linfomonocitaria.

Gli agenti patogeni che vengono di norma ricercati nel sospetto di una embriofetopatia sono quelli del gruppo TORCH, acronimo che comprende il **T**Oxoplasma, la **R**osolia, il **C**itomegalovirus e l'**H**erpes virus. Anche altri agenti possono indurre alterazioni strutturali nel feto, quali il Parvovirus B19 (agente etiologico del megalocitemia infettiva), il virus HIV, la *Listeria Monocytogenes*, il virus Varicella-Zoster. Nell'ambito dei microrganismi, i virus sono più frequentemente ritenuti responsabili di infezioni intrauterine, in quanto la diffusione transplacentare di particelle virali avviene con maggiore facilità in epoche precoci della gravidanza, quando i processi morfogenetici sono particolarmente attivi.

Molti segni clinici sono comuni ad embriofetopatie da agenti diversi e pochi sono gli elementi che evocano un'affezione specifica, come avviene nel caso della triade di Gregg, caratterizzata da sordità, cataratta e cardiopatia, che è correlata alla rosolia congenita. La frequente aspecificità delle alterazioni strutturali in corso di infezioni intrauterine è legata al fatto che gran parte dei difetti dipende più da alcune caratteristiche evolutive dell'embrione che dalla patogenicità dell'agente biologico. Ciò rende necessario uno studio clinico accurato e polivalente (anamnestico, fenotipico, sierologico, microbiologico, di imaging) non solo della madre ma anche del prodotto del concepimento prima di procedere ad una identificazione nosologica.

### **Embriopatia da Citomegalovirus**

Embriopatia riferibile alla diffusione transplacentare del citomegalovirus, virus ubiquitario che è spesso responsabile di infezioni inapparenti. Il quadro

clinico è tanto più severo quanto più precoce è stata l'infezione. È caratterizzata nel neonato da microcefalia, calcificazioni endocraniche, ritardo psicomotorio, sordità neurosensoriale, corioretinite, epatosplenomegalia, piastrinopenia. La dimostrazione dell'avvenuta infezione è sierologica e si può avvantaggiare anche della dimostrazione del virus nelle urine e nella saliva dei soggetti affetti. Dal punto di vista istologico il riscontro delle caratteristiche cellule ad inclusioni è possibile in tutti i tessuti biologici. La diffusione del virus avviene anche in epoca postnatale attraverso tutte le secrezioni ed i liquidi biologici.

### **Embriopatia rubeolica**

Descritta da Gregg nel 1941, è riconducibile ad infezione avvenuta nel primo trimestre di gestazione. L'infezione materna può essere inapparente ed infatti il numero di casi in donne non protette da infezione naturale o da vaccinazione aumenta dopo recrudescenze epidemiche di rosolia. I segni clinici salienti sono: microcefalia, ritardo psicomotorio, cataratta congenita, sordità neurosensoriale, cardiopatie, alterazioni ematologiche. L'infezione nel secondo trimestre di gestazione è responsabile di manifestazioni più tardive (anemia, piastrinopenia, epatosplenomegalia, ittero ostruttivo). La diagnosi di certezza della malattia è affidata alla dimostrazione sierologica (dosaggio e titolazione della IgM specifiche) della avvenuta infezione nella madre e nel neonato. Il soggetto affetto mantiene un'elevata infettività per alcuni mesi dopo la nascita, elemento che può rendersi responsabile di pericolose epidemie nelle Divisioni di Neonatologia.

### **Embriopatia da virus Varicella-Zoster**

Descritta originariamente da La Foret e Lynch nel 1947, solo negli anni '80 è stata riconosciuta una chiara sindrome riferibile ad una azione teratogena di questo virus. Il quadro clinico è caratterizzato da ritardo mentale, atrofia corticale, convulsioni, corioretinite, esiti cicatriziali sulla cute ed occasionalmente difetti in riduzione degli arti. Un quadro clinico in parte sovrapponibile può essere indotto dalla infezione intrauterina da virus Herpes Simplex. La storia naturale di questa affezione può essere significativamente modificata anche durante la gravidanza dalla terapia con farmaci antierpetici, quali l'acyclovir, e dalla recente disponibilità di immunoglobuline ricche di anticorpi specifici.

## Infezione luetica

Sindrome clinica che ha registrato nel corso degli anni una notevole riduzione nella incidenza per il miglioramento delle condizioni igienico-ambientali della popolazione. È endemica in alcune aree del pianeta ove la diffusione della sifilide è ancora vasta. Diverse esperienze segnalano una tendenza ad una maggiore frequenza della malattia luetica e quindi anche delle sue manifestazioni connatali, anche nei paesi occidentali a più elevato tenore di vita. È dovuta ad infezione transplacentare del *Treponema Pallidum*, agente etiologico della sifilide. Il passaggio attraverso la placenta può avvenire solo dopo il 4° mese di gestazione, grazie alle modificazioni strutturali che essa presenta dopo tale epoca, con involuzione del citotrofoblasto. In caso di infezione nelle prime quattro settimane di gestazione è frequente l'aborto spontaneo.

Il quadro clinico nel neonato è caratterizzato da pemfigo cutaneo palmoplantare, esantema cutaneo con evoluzione cicatriziale, anemia, piastrinopenia, epatosplenomegalia, miocardite, corioretinite, rinite mucoematica, alterazioni scheletriche con lacune ossee, *caput quadratum*, disturbi della ossificazione metafisaria, osteocondriti e pseudoparalisi secondarie (pseudoparalisi di Parrot). La diagnosi clinica deve comunque essere confermata attraverso la dimostrazione batteriologica del germe nelle mucose e le indagini sierologiche.

## Infezione da *Toxoplasma Gondi*

L'infezione da *Toxoplasma Gondi* decorre frequentemente in modo asintomatico. Il contagio può avvenire attraverso l'ingestione di carni o altri alimenti infestati (crudi o poco cotti) oppure attraverso il contatto con gatti o altri animali domestici infetti. Le manifestazioni cliniche nel prodotto del concepimento sono tanto più gravi quanto più precoce è il contagio, anche se il rischio di passaggio transplacentare aumenta in modo sensibile con il progredire della gravidanza e diviene massimo nel terzo trimestre. Le forme severe si manifestano con idrope fetoplacentare marcata e diffusione sistemica del parassita. In altri casi il fenotipo comprende idrocefalo, calcificazioni endocraniche, corioretinite, cataratta, convulsioni, epatosplenomegalia, rash cutaneo. La diagnosi di certezza è affidata alla dimostrazione sierologica della infezione nel neonato e nella madre.

## Embriopatie da agenti chimici

Esiste oggi una grossa mole di informazioni sulla potenziale teratogenicità di molti farmaci, anche grazie a numerosi esperimenti condotti su diverse specie animali. Tuttavia, i risultati di molti di questi studi su animali non possono essere direttamente trasferiti sugli esseri umani. In atto, praticamente tutti i farmaci sono considerati potenzialmente teratogeni e viene quindi consigliato alle donne di evitarne l'uso durante la gravidanza. L'uso di un farmaco in gravidanza deve essere sempre preceduto da una attenta valutazione del rapporto rischi/benefici sia per il feto che per la madre.

La teratogenesi chimica è un processo dipendente in gran parte da un complesso sistema di interazione tra sostanza chimica e risposta metabolica materna e fetale alla sua introduzione. Qualsiasi farmaco assunto dalla madre può attraversare la placenta e raggiungere il circolo fetale. A livello placentare e fetale può, inoltre, avvenire una sua biotrasformazione che è in grado di ridurne o aumentarne la tossicità.

Variazioni individuali del metabolismo corporeo possono, quindi, a parità di dose e di epoca della esposizione al farmaco, influenzare notevolmente la risposta clinica.

*I fattori principali che influiscono nella teratogenesi di una sostanza chimica sono:*

1. la dose totale somministrata e la sua modalità di assunzione (in dose unica o prolungata);
2. l'epoca di assunzione, anche in rapporto con i periodi di suscettibilità biologica;
3. peculiarità metaboliche materne o placentari e fetali che possono modificare, prolungandolo o riducendolo, il periodo di esposizione ad una sostanza assunta;
4. interazioni biochimiche tra sostanze diverse che possono influire sull'effetto definitivo a livello fetale.

Malgrado l'ampia variabilità delle possibili manifestazioni cliniche indotte dall'assunzione di una sostanza chimica durante la gestazione, per alcune di esse esiste un pattern di anomalie riconoscibili alla nascita. Il prototipo di questa categoria di sindromi malformative è costituito dalla embriopatia da assunzione di talidomide, verificatasi con un andamento "epidemico" nel corso degli anni '60. Questo farmaco, testato solo su alcune specie animali in cui non erano state individuate anomalie congenite, venne introdotto senza

precauzioni particolari anche in donne gravide, ove produsse una serie di danni malformativi, rapidamente individuati (focomelia, asimmetria facciale, paralisi dei nervi cranici, microftalmia, cataratta, sordità, atresia delle coane) che ne consentirono l'immediata esclusione dalla farmacopea internazionale.

### **Embriopatia da anticonvulsivanti**

Danni teratogeni derivanti dall'assunzione in gravidanza di farmaci anticonvulsivanti non sono accertati in modo univoco, sebbene esistano evidenze cliniche e sperimentali per alcuni di essi. Alcuni studi clinico-epidemiologici, infatti, sembrano correlare l'insorgenza di danni neurologici più con lo stato di epilessia materna che con l'assunzione del farmaco, in quanto convulsioni generalizzate mal controllate possono causare ipossia sia nella madre che nel feto. L'uso di farmaci anticonvulsivanti in gravidanza si rende spesso necessario al fine di ridurre la frequenza e la gravità degli episodi convulsivi nella madre e quindi il rischio anche per il feto. È comunque consigliabile evitare in gravidanza sia le associazioni tra più farmaci anticonvulsivanti che variazioni del protocollo terapeutico in assenza di una effettiva urgenza clinica.

Il rischio di malformazioni maggiori per questi farmaci, in seguito alla loro introduzione in gravidanza, comprende l'insorgenza di schisi labiopalatine, di difetti di chiusura del tubo neurale e di cardiopatie congenite.

Oggi si tende a delineare un fenotipo comune per i nati da madre che ha assunto farmaci anticonvulsivanti in gravidanza. Un più chiaro pattern malformativo è emerso per l'idantoina (microcefalia, ritardo mentale, anomalie del sistema nervoso centrale, naso piccolo, ipoplasia del massiccio facciale, epicanto, ipertelorismo, strabismo, bocca larga con vermiglioni del filtro nasale ben marcati, schisi labiopalatine, micrognazia, collo corto, cardiopatie congenite), il trimetadione (microcefalia, ipoplasia del massiccio facciale, sinofri palpebrale, epicanto, difetti oculari multipli, anomalie auricolari con elice ispessito, anomalie genitourinarie e cardiopatie congenite) e l'acido valproico (trigonocefalia, diametro bifrontale corto, ipoplasia facciale, naso piccolo, schisi labiopalatine, anomalie genitourinarie e degli arti).

### **Fetopatia alcolica**

Riconosciuta da tempo come entità clinica autonoma, la fetopatia alcolica presenta una vasta gamma di sintomi e segni clinici, spesso non riconoscibili all'esame clinico nel neonato. La prevalenza alla nascita della sindrome fetto-alcolica è notevolmente influenzata dall'uso di alcool nell'alimentazione

e nelle abitudini di vita della popolazione di riferimento. Negli Stati Uniti si calcola che il 2 per mille circa dei nati presenti danni fetali da abuso di alcool etilico in gravidanza. In molti paesi europei, tra cui l'Italia, mancano precisi riferimenti epidemiologici ed è verosimile che esistano numerose differenze su base regionale. Le quantità minime di alcool necessarie per indurre un danno nell'embrione e nel feto non sono ben stabilite e variano tra 50 e 200 gr/die. È infatti verosimile che esista una soglia individuale, diversa per ciascun soggetto, per cui si può affermare che non esiste un livello minimo di assunzione giornaliera sicuro. È indubbio però che l'uso prolungato di bevande alcoliche e l'uso di superalcolici sono da sconsigliare durante la gravidanza. Il fenotipo della fetopatia alcolica è caratterizzato da una riduzione dell'accrescimento somatico ad esordio prenatale, da anomalie neurologiche e psichiche (ipotonia, deficit di coordinazione motoria, microcefalia, convulsioni, sindrome da iperattività, ritardo mentale) e da una facies caratteristica (rime palpebrali corte, naso piccolo con narici anteverse, filtro nasale ipoplasico, microretrognazia). Occasionalmente sono state riportate anche cardiopatie congenite, schisi labiopalatine, anomalie del sistema nervoso centrale e delle vie urinarie.

### **Uso di sostanze stupefacenti**

La cocaina è un potente vasocostrittore e, in gravidanza, aumenta le resistenze vascolari uterine e riduce il flusso ematico in utero. Le donne che fanno uso di cocaina durante la gravidanza sono soggette a parti prematuri, rottura di placenta ed aborti spontanei con frequenza maggiore rispetto al resto della popolazione. I nati da queste gravidanze hanno un rischio più elevato di microcefalia, malformazioni urogenitali, anomalie scheletriche e ritardo di crescita intrauterino. Anche per i figli di madri che fanno uso di **eroina** durante la gravidanza è stata riportata un'incidenza maggiore di anomalie congenite, basso peso alla nascita e ritardo di crescita intrauterino. Gli effetti a lungo termine delle sostanze stupefacenti in gravidanza sullo sviluppo nell'età evolutiva sono poco noti e difficilmente valutabili per il sovrapporsi di molte variabili confondenti di tipo sociale ed ambientale.

### **Iperfenilalaninemia materna (fenilchetonuria materna)**

Risale all'inizio degli anni '60 l'identificazione di alcuni soggetti con malformazioni multiple e ritardo mentale, nati da donne fenilchetonuriche. Studi clinici ed epidemiologici hanno dimostrato che questi quadri clinici sono

imputabili ad elevati livelli intrauterini di fenilalanina, aminoacido essenziale che se presente in concentrazioni elevate durante lo sviluppo embrionico-fetale induce, con meccanismi che ancora non sono stati definiti nella loro interezza, difetti strutturali soprattutto del SNC. Disordini di proliferazione e migrazione cellulare e ritardo di mielinizzazione sono gli elementi più significativi sul piano della patogenesi delle alterazioni neurologiche. Livelli plasmatici di fenilalanina superiori a 6 mg/dl sono oggi considerati a rischio di embriopatia; il periodo di maggior suscettibilità è rappresentato dalle prime 8-10 settimane di gestazione. In considerazione di ciò nelle gravidanze a rischio si rende necessario garantire un livello di fenilalanina al di sotto della soglia già prima o comunque intorno al periodo del concepimento. Le donne con fenilchetonuria classica o *mild* in età fertile sono oggi sempre più numerose grazie alla diffusione degli screenings neonatali ed al buono stato di salute anche in termini di fertilità dei soggetti affetti trattati sin dal periodo neonatale. A rischio sono però anche le donne con iperfenilalaninemia senza fenilchetonuria in cui durante le gravidanze possono realizzarsi danni fetali se non vengono individuati gli elevati livelli di fenilalanina. Oggi in tutti i soggetti affetti da fenilchetonuria o iperfenilalaninemia si consiglia un follow-up adeguato e prolungato oltre l'età evolutiva, sia per evitare l'insorgere di danni o disturbi neurologici tardivi, che per proteggere adeguatamente la fertilità e la qualità della vita riproduttiva dei soggetti di sesso femminile. La dieta con alimenti poveri di fenilalanina deve essere proseguita quindi lungo tutta l'età fertile; durante le gravidanze devono essere eseguiti frequenti controlli dei livelli di fenilalanina plasmatici (anche bisettimanali), garantendo altresì all'embrione ed al feto un adeguato apporto proteico per evitare danni secondari a carenze nutrizionali (di aminoacidi e/o di oligoelementi). Una microcefalia di grado elevato, presente alla nascita ed evolutiva, è il tratto clinico più significativo, associato ad un ritardo mentale costante. Ipotelorismo, naso prominente, padiglioni auricolari displasici ed a basso impianto sono i segni dismorfici più frequenti. Schisi labiopalatine, difetti cardiaci settali (conotruncali) e ritardo di crescita intrauterino possono essere associati e completare il fenotipo. Esiste una indubbia correlazione tra livelli di fenilalanina in gravidanza, rischio di insorgenza e grado di espressività dei vari difetti.

---

### Considerazioni conclusive

**L**e sindromi genetiche e le condizioni plurimalformative neonatali richiedono in alcune circostanze un intervento terapeutico in urgenza, spesso fondamentale per garantire la sopravvivenza di quel soggetto.

Garantire la sopravvivenza in molti dei casi in cui si ha una riduzione della vitalità media di un soggetto, assume anche un ruolo importante di prevenzione, in quanto consente di mettere in atto percorsi diagnostici non solo a livello del fenotipo, ma anche del genotipo e quindi di attivare la consulenza genetica in ambito familiare con le ricadute in termini di depistaggio di portatori, di identificazione pre e postatale dei soggetti affetti.

**Conflitti di interesse.** *L'autore dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*

**Studi condotti su esseri umani e animali.** *L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali.*

## MALFORMAZIONI DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

*Martino Ruggieri, Flavia LaMendola, Stefano Catanzaro*

**S**i definisce malformazione un'anomalia morfologica/strutturale di un organo o di una parte del corpo, dovuta a una alterazione del normale processo di sviluppo embrionale e/o fetale. Le **malformazioni del sistema nervoso centrale (SNC)** possono interessare la corteccia cerebrale, i nuclei cerebrali profondi/sostanza bianca sottocorticale, le commissure, il cervelletto, il tronco cerebrale e il midollo spinale. La maggior parte di queste strutture si sviluppa durante lo stesso arco di tempo cosicché non è rara l'associazione di più anomalie. Si tratta di un processo complesso e lungo con più fasi che dipendono da un preciso programma genetico giungendo, in alcune strutture quali il cervello, ad esempio, a completamento definitivo anche dopo molti anni dalla nascita.

Le malformazioni del sistema nervoso possono essere il risultato di informazioni genetiche errate, come nella trisomia 13 nella quale possono essere presenti anomalie del corpo calloso (1) o della mutazione del gene LIS1 associata a lissencefalia (2). Inoltre, possono essere il risultato di interferenze nel normale processo di sviluppo del SNC dovute a cause interne e/o esterne all'organismo, come nel caso della fenilchetonuria materna o dell'infezione congenita da Citomegalovirus. Talvolta, possono dipendere da una complessa interazione tra genotipo e fattori ambientali, come in alcuni difetti del tubo neurale (3).

---

### Cenni di embriologia

**I** principali stadi di sviluppo del SNC sono: gastrulazione, induzione dorsale, neurulazione (primaria e secondaria), induzione ventrale, proliferazione, migrazione, organizzazione corticale, mielinizzazione.

In realtà, non esiste una netta separazione tra uno stadio e il successivo; piuttosto si embricano tra di loro a partire dalla gastrulazione, che ha inizio intorno alla terza settimana di sviluppo e porta alla formazione di endoderma, mesoderma e ectoderma dal quale hanno origine cute e tessuto nervoso. Nel corso del processo di induzione dorsale si forma la placca neurale che con la neurulazione primaria diventa tubo neurale; la neurulazione secondaria è responsabile invece dell'allungamento del tubo neurale nella sua parte più caudale mediante la fusione dello stesso con un gruppo di cellule mesenchimali. Il processo di induzione ventrale, mediante la formazione di vescicole e flessure nella parte rostrale del tubo neurale, comporta l'individuazione di tre differenti regioni corrispondenti a prosencefalo, mesencefalo e rombencefalo. Le cellule della cresta neurale, che rappresentano le cellule più dor-

sali del tubo neurale, migrano per formare buona parte del sistema nervoso periferico. Quindi, lo sviluppo del SNC prosegue mediante la proliferazione e migrazione delle cellule neurali verso regioni specifiche con successiva organizzazione per formare, per esempio, i diversi strati corticali. Le fasi di organizzazione corticale e mielinizzazione si completano alcuni anni dopo la nascita (4).

---

## Malformazioni del processo d'induzione dorsale e della neurulazione

**A nencefalia.** Consiste in una malformazione del tubo neurale con mancata o parziale formazione dell'encefalo associata ad assenza delle ossa della volta cranica (frontali, parietali e occipitali). Ne esistono due tipi: *parziale* (meroacrania), con mancato interessamento del forame occipitale; e *totale* (oloacrania) con interessamento del forame occipitale. La malformazione può coinvolgere altre strutture come il tronco encefalico, cervelletto e midollo spinale. Si tratta di una condizione grave, spesso associata a malformazioni a carico di altri organi/apparati tali da non essere compatibili con la vita postnatale, con un'incidenza di circa 1:1000 e un rapporto femmine/maschi di 4:1 (5).

**Craniorachischisi.** Si tratta di un difetto del tubo neurale, caratterizzato dalla mancata chiusura del neuroporo anteriore e del neuroporo posteriore a livello della linea mediana, con conseguente *acrania* (assenza della volta cranica) ed *anencefalia*, associate a *disrafismo spinale* (colonna vertebrale completamente aperta). Nella maggior parte dei casi si ha aborto spontaneo all'inizio della gestazione.

**Cefalocele.** È un difetto cranico presente lungo le suture ossee caratterizzato da un'erniazione del tessuto encefalico o meningeo al di fuori del cranio e deriva da difetti del mesoderma in corrispondenza della chiusura del tubo neurale. Sono definiti *encefaloceli* quei difetti nei quali il cefalocele contiene tessuto cerebrale, e *meningoceli* quando è presente esclusivamente liquido cerebrospinale.

Nel caso dell'encefalocele il tessuto nervoso erniato contiene usualmente una cavità ricca di liquido cefalo-rachidiano in comunicazione con i ventricoli cerebrali e in circa la metà dei casi è presente idrocefalo. Il cefalocele può coinvolgere le regioni occipitali, frontali, temporali e parietali: le forme occipitali e frontali sono le più frequenti (6). Il grado di compromissione neurologica non dipende tanto dalla localizzazione quanto piuttosto dalle dimensioni del cefalocele, dalla quantità di tessuto nervoso contenuto al suo interno e dalla presenza di anomalie associate (7).

Disrafismo spinale. Il termine disrafismo spinale sottende un gruppo di malformazioni congenite che interessano in misura diversa il midollo spinale, il rachide ed i tessuti circostanti con incompleta e/o anomala formazione delle stesse strutture. Si parla di disrafismo spinale “chiuso” o “aperto” se la cute sovrastante la lesione è integra o meno. Inoltre, le forme “chiusure” si possono classificare in base alla presenza o meno di una massa sottocutanea (9). Il termine *spina bifida* è stato utilizzato in passato come sinonimo di disrafismo spinale, ma più propriamente per spina bifida si intende una malformazione del rachide che si caratterizza per incompleta e anomala fusione degli elementi ossei posteriori del rachide.

Inoltre, alcune forme di disrafismo spinale, che non rientrano nelle forme sopra descritte e che dipendono da un anomalo sviluppo della notocorda, vengono definite *complesse* (10).

**Mielomeningocele.** Si definisce mielomeningocele l'erniazione di parte di tessuto nervoso e meningi al di fuori del canale spinale, causata nella maggioranza dei casi da una mancata chiusura localizzata del tubo neurale lungo la linea mediana prima della quarta settimana di età gestazionale. La colonna vertebrale può essere più o meno interessata dal processo malformativo. La colonna lombosacrale è la parte più colpita, ma può essere interessata qualsiasi regione del nevrasse.

A seconda della porzione del midollo spinale in cui avviene il difetto di chiusura, si possono avere differenti quadri clinici: paraparesi flaccida, assenza dei riflessi tendinei, deficit della sensibilità tattile e dolorifica, displasia delle anche e piede torto (11). Se localizzato in regione *sacrale*, il mielomeningocele può causare incontinenza fecale o urinaria associata a perdita o riduzione della sensibilità a livello perineale; se localizzato a livello *lombare* o *lombosacrale* si ha la *sindrome del midollo ancorato* (dall'inglese “tethered cord”), con mancata risalita del midollo spinale, che rimane ancorato in regione lombare inferiore o sacrale. Spesso il mielomeningocele è associato a malformazione di Chiari II, idrocefalo oppure a diastematomielia.

**Diastematomielia.** Si tratta di una forma *complessa* di disrafismo spinale, caratterizzata dalla duplicazione del midollo stesso lungo il suo piano sagittale. Il midollo è così formato da due parti che possono essere simmetriche o asimmetriche, contenenti entrambe uno strato interno ependimale, un corno posteriore e la sua radice dorsale, un corno anteriore e la radice ventrale, il tutto circondato dallo strato di pia madre. Un setto fibroso, cartilagineo o osseo separa le due parti di midollo spinale formatesi. Può essere completa o parziale, interessando in questo caso solo la parte anteriore o posteriore del midollo spinale (12).

Clinicamente si manifesta in più del 50% dei casi con la presenza sulla cute di un ciuffo di peli (lesione più frequente), un nevo, un angioma, una fossetta o un seno dermico in corrispondenza della malformazione sottostante. Si ha una maggiore prevalenza nel sesso femminile e si possono avere problemi ortopedici, come il piede cavo, scoliosi (anche congenita), ipostenia di un emilato e altri segni neurologici aspecifici (13). Possono essere associati altri difetti come mielocele, mielomeningocele, seni dermoidi e lipomi spinali.

**Sindrome di Arnold-Chiari.** Consiste in una dislocazione di parte del cervelletto e del tronco encefalico attraverso il forame magno. Si riconoscono diverse varianti. La Chiari tipo I, che è la più comune, è caratterizzata da dislocazione del bulbo nel canale spinale con erniazione delle tonsille nel forame, spesso asintomatica. Le manifestazioni cliniche possono dipendere da anomalie del flusso del liquido cefalo-rachidiano, compressione e/o eventuale presenza di siringoidromielia. In età pediatrica la prevalenza di tale malformazione è circa 1%, con uguale distribuzione nei due sessi, e i sintomi di presentazione più comuni sono la cefalea occipitale e il dolore nucale, tipicamente esacerbato dalla manovra di Valsalva. Nel primo anno di vita, il dolore si può manifestare come irritabilità, opistotono o pianto continuo. Segni e sintomi da compressione comprendono disfagia, disartria, atassia, singhiozzo ed anomalie respiratorie come l'apnea (14). La presenza di siringoidromielia può determinare quadri di paresi e deficit sensoriali; oppure la comparsa di una scoliosi progressiva. Inoltre, la Chiari tipo I si può essere associare a condizioni patologiche diverse come l'anomalia di Klippel-Feil. La *variante di tipo II* è la forma che con maggiore frequenza si presenta in età pediatrica; ha una prevalenza di circa 0,4 casi ogni 1000 nati vivi. Si ha dislocamento inferiore del midollo e del quarto ventricolo nel canale cervicale superiore, allungamento ed assottigliamento del midollo superiore e della porzione più bassa del ponte, e dislocamento verso il basso della porzione inferiore del cervelletto attraverso il forame magno. Si tratta di una malformazione complessa con interessamento del mesoderma della base del cranio e della colonna cervicale. Si possono associare difetti ossei del forame magno, dell'occipite, e delle vertebre cervicali superiori, mielomeningocele e idrocefalo (abituamente) precoce. I primi sintomi possono essere evidenti già nel periodo neonatale: lo stridore è il sintomo di presentazione più comune causato da una compromissione del tronco encefalico e/o dei nervi cranici. Nelle età successive la disfagia può essere uno dei sintomi principali della Chiari II, causando scarso accrescimento. Possono essere presenti anomalie oculari e atassia. Sono frequenti anche i disturbi del sonno con riscontro di apnee, sia centrali che ostruttive. La sintomatologia descritta può essere ulteriormente aggravata dall'idrocefalo. La *variante tipo III* è rara e consiste

nella presenza contemporanea delle anomalie caratteristiche della Chiari II e di un meningoencefalocele, con coinvolgimento o meno del midollo spinale, in sede occipitale e cervicale superiore.

Il termine malformazione di Chiari tipo IV non è più utilizzato; si preferisce descrivere l'ipoplasia del cervelletto come tale (15).

**Sindrome di Dandy-Walker (DWM).** Dipende da un alterato sviluppo embriologico del tetto del IV ventricolo con conseguente espansione pseudo-cistica del IV ventricolo a livello della fossa cranica posteriore; spesso è presente anche ostruzione dei forami di Luschka e di Magendie (16). Tale difetto determina alterato drenaggio del liquido cefalo-rachidiano e comparsa in circa il 90% dei pazienti di idrocefalo secondario.

Si tratta della malformazione più frequente della fossa cranica posteriore, può essere una condizione isolata o far parte di sindromi cromosomiche o malattie genetiche. In alcuni pazienti è stata messa in evidenza la mutazione di singoli geni quali, ad esempio, ZIC1 e ZIC4.

Le caratteristiche neuroradiologiche che definiscono la DWM sono: (i) ipoplasia (o raramente agenesia) del verme cerebellare (soprattutto a carico della porzione inferiore); (ii) dilatazione pseudo-cistica del quarto ventricolo che tende ad occupare l'intera fossa cranica posteriore. Entrambe queste caratteristiche sono richieste per la diagnosi. Gli emisferi cerebellari sono solitamente di dimensioni normali, mentre la fossa cranica posteriore risulta aumentata complessivamente di dimensioni. DWM può essere associata nel 30-50% dei casi a diverse anomalie del SNC come l'agenesia del corpo calloso. Durante il primo anno di vita la maggior parte dei pazienti presentano sintomi e segni riconducibili ad aumento della pressione intracranica con macrocefalia. La prognosi è variabile; potrebbero rappresentare fattori prognostici favorevoli una normale conformazione del verme e l'assenza di altre anomalie cerebrali associate.

In passato veniva utilizzato il termine "variante Dandy-Walker", oggi non più in uso, per indicare alcune anomalie del cervelletto senza dilatazione cistica del IV ventricolo (17).

---

## Malformazioni del processo d'induzione ventrale

**Oloprosencefalia (HPE).** Si tratta di una malformazione complessa caratterizzata da un fenotipo molto variabile in relazione alla mancata differenziazione e suddivisione del prosencefalo lungo la linea mediana: da forme lievi con solo ipotelorismo o con singolo incisivo centrale sino a fenotipi più gravi associati a microcefalia, anomalie del naso, schisi del labbro e del palato o infine ad un singolo occhio ciclopico. La prevalenza è

di circa 1 caso ogni 10.000 nati (18). La patogenesi è complessa, e comprende fattori genetici e ambientali. Nelle forme familiari, malgrado la presenza di una stessa mutazione, vi è un'importante variabilità clinica. Ciò si potrebbe spiegare con il coinvolgimento di fattori ambientali e/o geni modificatori dell'espressione della malattia. Tra i fattori teratogeni il diabete materno è uno dei più comuni, ma anche le infezioni virali (19).

Viene suddivisa in tre forme:

1. Forma alobare: la più comune e la più grave, in quanto difficilmente compatibile con la vita con esito fatale alla nascita o entro i primi anni di vita. Il fenotipo è caratterizzato da dismorfismi facciali della linea mediana (ipotelorismo, ipoplasia o assenza delle strutture della linea mediana fino alla fusione, in casi estremi, dei globi oculari) con convulsioni, ipertonia e riflessi neonatali anomali.
2. Forma semilobare: meno grave della precedente, ed associata ad anomalie facciali minime. I bambini affetti, di solito, presentano microcefalia o macrocefalia, ritardo psicomotorio e disturbi del movimento. Il setto pellucido è assente, mentre il corpo calloso è ben sviluppato nella sua parte posteriore e assente nella porzione anteriore.
3. Forma lobare: caratterizzata da manifestazioni cliniche meno gravi, quali ritardo dello sviluppo psicomotorio, lieve o moderata disfunzione ipotalamo-ipofisaria e anomalie oculari. Anatomicamente gli emisferi cerebrali sono ben sviluppati e separati da uno spazio completo interemisferico; i lobi frontali possono mostrare una fusione parziale con sistema ventricolare integro.

Nello studio di Orioli il 40% dei casi era alobare, 43% semilobare e 17% lobare (20). Tale classificazione, pur essendo molto utile sotto più punti di vista, non tiene conto di alcune varianti quali l'interemisferica mediana e la setto-pre-ottica (21).

**Displasia setto-ottica.** È una variante fenotipica dell'oloprosencefalia con alterazioni delle strutture della linea mediana del sistema nervoso associate a differenti quadri malformativi che includono agenesia o ipoplasia del corpo calloso e del setto pellucido, con disfunzione ipotalamo-ipofisaria e ipoplasia o displasia dei nervi ottici e del chiasma ottico. Possono essere presenti anche aplasia olfattoria e anomalie cerebrali associate come schizencefalia e oloprosencefalia (*displasia setto-ottica plus*) (22).

Clinicamente si hanno anomalie oculari, disfunzione ipotalamo-ipofisaria (deficit di GH, FSH, prolattina e diabete insipido), convulsioni e ritardo mentale (23).

**Idrocefalo congenito.** Per idrocefalo si intende un aumento delle dimensioni dei ventricoli cerebrali e/o dello spazio subaracnoideo; è causato da un alterato equilibrio tra produzione, circolazione e riassorbimento del liquido cefalo-rachidiano. Può essere congenito se presente alla nascita o acquisito se si instaura in età giovanile-adulta. In base alla causa sottostante può essere definito *ostruttivo*, *ipersecretivo* o *da difetto di riassorbimento* (24).

L'idrocefalo congenito rappresenta circa il 50% di tutte le forme di idrocefalo. L'eziologia è multifattoriale. Si tratta soprattutto di forme secondarie, causate da infezioni intrauterine, emorragie intracraniche, traumi o tumori. L'idrocefalo congenito può essere anche il risultato di un difetto del tubo neurale ed essere associato ad altre malformazioni del sistema nervoso centrale. La forma primaria ha un'incidenza di circa 0.2-0.8 casi ogni 1.000 nati vivi. Una possibile causa genetica è presente in circa il 40% dei pazienti con idrocefalo congenito primario (25).

Il principale meccanismo di formazione dell'idrocefalo è rappresentato da una ostruzione del flusso del liquido cefalo-rachidiano. Nell'idrocefalo "non comunicante", l'ostruzione è localizzata all'interno dei ventricoli (come nel caso della stenosi dell'acquedotto di Silvio) o alla giunzione tra ventricoli e spazio subaracnoideo. L'idrocefalo "comunicante" è invece causato da una ostruzione all'interno dello spazio subaracnoideo (ad esempio nella trombosi dei seni venosi). Clinicamente gli individui affetti presentano alla nascita un aumento della circonferenza cranica, che si realizza per mancata saldatura delle suture craniche: si ha marcata sproporzione tra cranio e volto, per cui il viso appare di forma triangolare, la fronte marcata ed ampia, le fontanelle tese, le vene superficiali del cuoio capelluto ben visibili e dilatate. I disturbi neurologici sono caratterizzati da deficit motori di tipo piramidale, epilessia, atrofia dei nervi ottici con associato ritardo mentale di media o elevata entità. Nelle età successive con la chiusura delle fontanelle e delle suture può non esserci un aumento significativo della circonferenza cranica. In tal caso i sintomi e segni clinici prevalenti saranno vomito, cefalea, cecità secondaria al papilledema e all'atrofia dei nervi ottici, alterazione dello stato di coscienza, disfunzione ipotalamica e difficoltà nel camminare secondaria ad una spasticità degli arti inferiori (26). La prognosi dipende dalla causa che ha determinato il quadro di idrocefalo, dai danni encefalici prodotti e dalle possibilità terapeutiche di tipo chirurgico.

**Agenesia del corpo calloso.** L'agenesia del corpo calloso è un raro difetto congenito che riguarda l'assenza parziale o totale delle fibre che connettono gli emisferi cerebrali; il più delle volte è *completa*, anche se sono stati segnalati numerosi casi di *agenesia parziale*, che può interessare la parte posteriore (splenio) o la parte anteriore (rostro). Poiché il corpo calloso si forma con-

temporaneamente a molte strutture del SNC, spesso l'agenesia si associa ad altre malformazioni.

In molti casi di agenesia un fascio di materia bianca, chiamato fascio di Probst, va ad occupare l'area cerebrale che doveva essere occupata dal corpo calloso. I bambini con quest'anomalia possono presentare ritardo dello sviluppo psicomotorio, ma in alcuni casi sono asintomatici. I primi segni di agenesia del corpo calloso possono essere crisi epilettiche tipo grande male oppure crisi focali motorie caratterizzate da movimenti clonici unilaterali. Si può associare idrocefalo (27).

---

### Malformazioni del processo di proliferazione neuronale

**M**icroencefalia. Si definisce microcefalia una riduzione della circonferenza cranica  $> 2$  o più deviazioni standard rispetto al normale. Può essere suddivisa in differenti forme in relazione allo spessore della corteccia, che può essere normale, sottile o spessa, e alle malformazioni corticali associate (polimicrogiria o altre displasie). Ciò comporta una sintomatologia molto variabile: da lievi segni neurologici a gravi deficit con disabilità intellettiva, convulsioni e/o segni focali.

Le microcefalie possono essere distinte in *forme genetiche e non* (28). Le forme non genetiche sono secondarie a difetti congeniti del metabolismo (iperfenilalaninemia), a processi infettivi pre- e postnatali (toxoplasmosi, citomegalovirus, HIV), ad encefalopatia ipossico-ischemica, ad esposizione a sostanze tossiche (alcol, cocaina) o a radiazioni. Nel caso delle forme secondarie la circonferenza cranica può essere normale alla nascita e ridursi successivamente (29).

**Macroencefalia.** Si parla di macrocefalia quando l'aumento della circonferenza cranica è  $> 2$  o più deviazioni standard rispetto a valori medi per sesso e per età.

Nella *forma primitiva* si ha un aumento armonico dell'encefalo dal punto di vista volumetrico e del peso. Si ha coinvolgimento tanto della sostanza bianca quanto della corteccia; quest'ultima appare macroscopicamente normale anche se a volte può presentarsi associata a difetti di migrazione corticale. Il sistema ventricolare è solitamente aumentato di volume. La forma primitiva può essere sporadica o familiare. Clinicamente gli individui affetti presentano ritardo psicomotorio di vario grado e deficit neurologici variabili a seconda delle anomalie associate.

La *forma secondaria* invece può essere dovuta a differenti patologie, quali malattie metaboliche o leucodistrofie (30).

**Emimegaloencefalia.** È caratterizzata da un'eccessiva crescita di parte o di un intero emisfero cerebrale, associata anche a disturbi della migrazione neuronale e dell'organizzazione corticale. Dal punto di vista neuroradiologico si osserva abnorme crescita di un emisfero cerebrale con aumento di volume della sostanza bianca e con ispessimento della corteccia cerebrale formata da solchi poco profondi; il ventricolo laterale dell'emisfero colpito è irregolare e aumentato di dimensioni in proporzione all'aumento dell'emisfero. Clinicamente i pazienti affetti presentano macrocefalia alla nascita e varie forme di epilessia, ritardo dello sviluppo psicomotorio ed emiparesi (31).

---

### Malformazioni del processo di migrazione neuronale

**L**issencefalia (LIS). Si caratterizza per la mancanza delle normali circonvoluzioni corticali con aspetto "liscio" della superficie e istologicamente da strati di corteccia anomali. Infatti, i neuroni presentano un'architettura alterata e sono distribuiti in solo quattro strati, a differenza dei normali sei strati corticali (32).

Le manifestazioni cliniche sono più o meno gravi. Si può avere una completa assenza di circonvoluzioni corticali o una riduzione delle stesse (33).

Clinicamente gli individui affetti presentano ipotonia precoce, che può evolvere in spasticità degli arti, convulsioni e ritardo psicomotorio. Gli episodi convulsivi si manifestano precocemente già nei primi mesi di vita e includono spasmi infantili, convulsioni acinetiche o miocloniche, fino a sviluppare complesse sindromi epilettiche.

Il gene *LIS1* (*PAFHAH1B1* localizzato sul cromosoma 17p13.3) è stato il primo gene ad essere stato correlato con il quadro della lissencefalia (34).

**Eterotopia.** L'*eterotopia nodulare periventricolare* (PNH) è caratterizzata dalla presenza di noduli eterotopici di sostanza grigia situati a livello delle pareti dei ventricoli laterali, spesso bilateralmente o anche unilateralmente. Gli individui affetti presentano epilessia (es. spasmi infantili o crisi parziali), che può esordire a qualsiasi età e spesso è farmaco resistente (35).

L'*eterotopia sottocorticale a banda o doppia corteccia* (SBH) è un difetto di migrazione neuronale, caratterizzato da un doppio strato di sostanza grigia, localizzato tra la sostanza bianca sottocorticale e la corteccia sovrastante, a causa di una migrazione anomala dei neuroni dalla zona germinativa nelle pareti dei ventricoli laterali verso le future regioni corticali. Crisi parziali o generalizzate spesso insorgono nella prima decade di vita, quasi sempre refrattarie alla terapia farmacologica. Si associa ritardo psicomotorio.

**Displasia corticale focale.** Si tratta di una malformazione corticale caratterizzata da una alterazione focale della corteccia cerebrale (36), causa di epilessia farmaco-resistente. L'esordio delle manifestazioni epilettiche è variabile, spesso nei primi anni di vita con quadri clinici differenti.

---

### Malformazioni del processo d'organizzazione corticale

**P**olimicrogiria (PMG). Si caratterizza per la presenza di molteplici e piccole circonvoluzioni corticali separate da solchi poco profondi e dilatati, che formano aree con un aspetto particolare a “cavolfiore o castagna”. Le manifestazioni cliniche comprendono: epilessia farmaco-resistente, encefalopatie gravi, tetraparesi spastica, ritardo mentale e deficit focali più o meno gravi delle funzioni corticali superiori (37).

**Schizencefalia (SCZ).** È il risultato di un difetto della fase di migrazione neuronale e di organizzazione corticale, caratterizzata da una fessurazione a tutto spessore (*forma a labbra aperte*) o di parte (*forma a labbra chiuse*) di un intero emisfero cerebrale, con conseguente comunicazione tra i ventricoli e gli spazi subaracnoidei periencefalici. È spesso associata a displasia setto-ottica (agenesia del setto pellucido ed ipoplasia del nervo ottico) o a polimicrogiria. Può essere unilaterale o bilaterale e si localizza prevalentemente nella regione frontale o parietale della corteccia.

La sintomatologia clinica dipende da fattori quali l'interessamento di un solo o entrambi gli emisferi e dalla forma a labbra chiuse o aperte. All'esame neurologico si osservano gravi deficit neurologici, microcefalia, tetraparesi spastica e grave deterioramento cognitivo.

Dal punto di vista eziologico è stata associata a diverse cause di tipo genetico, vascolare, tossico, metabolico ed infettivo (38).

## **Bibliografia**

- Palmer E.E. Agenesis of the corpus callosum: A clinical approach to diagnosis. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 166C:184–197 (2014)
- Fry A.E. The genetics of lissencephaly. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 166C:198–210 (2014)
- Copp A.J. Neural tube defects: recent advances, unsolved questions, and controversie. *Lancet Neurol* 12:799–810 (2013)
- Verity C. Congenital abnormalities of the central nervous system. *Neurol Neurosurg Psychiatry* 74(Suppl 1):i3–i8 (2003)
- Kim C. Congenital brain malformations in the neonatal and early infancy period. *Semin Ultrasound CT MRI* 36:97–119 (2015)
- Lo B.W. Clinical predictors of developmental outcome in patients with cephaloceles. *J Neurosurg Pediatr* 2: 254–257 (2008).
- Martinez-Lage J.F. The child with a cephalocele: etiology, neuroimaging, and outcome. *Childs Nerv Syst* 12:540–550 (1996).
- Kumar J. Imaging spectrum of spinal dysraphism on magnetic resonance: A pictorial review. *World J Radiol* April 28; 9 (4):178–190 (2017)
- Rossi A. Imaging in spine and spinal cord malformations. *European Journal of Radiology* 50 177–200 (2004)
- Mitchell L. Spina Bifida. *Lancet* 364: 1885–95 (2004)
- Schijman E. Split spinal cord malformations: report of 22 cases and review of the literature. *Childs Nerv Syst* 19:96–103 (2003)
- Cheng B. Diastematomyelia. *J Bone Joint Surg Br* 2012;94-B:365–72
- Pomeraniec J. Natural and surgical history of Chiari malformation Type I in the pediatric population. *J Neurosurg Pediatr* 17:343–352 (2016)
- Poretti A. Chiari malformations and syringohydromyelia in children. *Semin Ultrasound CT MRI* 37:129–142 (2016)
- Chapman T. Diagnostic imaging of posterior fossa anomalies in the fetus and neonate: part 2, posterior fossa disorders. *Clinical Imaging* 39 167–175 (2015)
- Bosemani T. Congenital Abnormalities of the Posterior Fossa. *RadioGraphics* 35: 200–220 (2015)
- Winter T.C. Holoprosencephaly: A Survey of the Entity, with Embryology and Fetal Imaging. *RadioGraphics* 35:275–290 (2015)

- Dubourg C. Recent advances in understanding inheritance of Holoprosencephaly. *Am J Med Genet* 178C:258–269 (2018)
- Griffiths P.D. In Utero MR Imaging of Fetal Holoprosencephaly: A Structured Approach to Diagnosis and Classification. *Am J Neuroradiol* 37:536–43 (2016)
- Hahn J.S. Septopreoptic Holoprosencephaly: A Mild Subtype Associated with Midline Craniofacial Anomalies. *Am J Neuroradiol* 31:1596–601 (2010)
- Polizzi A. Septo-optic dysplasia complex: a heterogeneous malformation syndrome. *Pediatr Neurol* 34(1):66–71 (2006)
- Severino M. Midbrain-Hindbrain Involvement in Septo-Optic Dysplasia. *Am J Neuroradiol* 35:1586–92 (2014)
- Tully H.M. Infantile hydrocephalus: A review of epidemiology, classification and causes. *European Journal of Medical Genetics* 57 359e368 (2014)
- Kahle K.T. Hydrocephalus in children. *Lancet* 387: 788–99 (2016)
- Verhagen J.M.A. Congenital hydrocephalus in clinical practice: a genetic diagnostic approach. *European Journal of Medical Genetics* 54 e542ee547 (2011)
- Palmer E.E. Agenesis of the Corpus Callosum: A Clinical Approach to Diagnosis. *American Journal of Medical Genetics Part C (Seminars in Medical Genetics)* 166C:184–197 (2014)
- Tarrant A. Microcephaly a radiological review. *Pediatr Radiol* 39:772–780 (2009)
- Alcantara D. Congenital microcephaly. *Am J Med Genet Part C Semin Med Genet* 166C:124-139 (2014)
- Winden K.D. Megalencephaly and Macrocephaly. *Semin Neurol* 35:277–287 (2015).
- Mirzaa G.M. Megalencephaly and hemimegalencephaly: breakthroughs in molecular etiology. *Am J Med Genet Part C* 166C:156-172 (2014)
- Kanekar S. Malformations of cortical development. *Semin Ultrasound CT MRI* 32:211-227 (2011)
- Di Donato N. Lissencephaly: Expanded imaging and clinical classification. *Am J Med Genet* 173A:1473–1488 (2017)
- Fry A.E. The Genetics of Lissencephaly. *American Journal of Medical Genetics Part C (Seminars in Medical Genetics)* 166C:198–210 (2014)
- Guerrini R. Malformations of cortical development: clinical features and genetic causes. *Lancet Neurol* 13: 710–26 (2014)
- Watrin F. Causes and Consequences of Gray Matter Heterotopia. *CNS Neuroscience & Therapeutics* 21 112–122 (2015)
- Siedlecka M. Focal cortical dysplasia: Molecular disturbances and clinicopathological

classification. *Int J Mol Med* 38: 1327-1337 (2016)

Barkovich A.J. Current concepts of polymicrogyria. *Neuroradiology* 52:479-487 (2010)

Halabuda A. Schizencephaly—diagnostics and clinical dilemmas. *Childs Nerv Syst* 31:551-556 (2015)



## LA DIAGNOSI PRECOCE DELLE MALATTIE METABOLICHE EREDITARIE

Agata Fiumara, Federica Raudino, Marianna Messina, Anna Cardillo, Concetta Meli

**L**e Malattie Metaboliche Ereditarie (MME) sono malattie rare. Ognuna di esse ha un'incidenza variabile tra 1/50000 e 1/100000. Tuttavia nel loro insieme costituiscono una evenienza reale nella pratica quotidiana ed è stato calcolato che ne possa essere affetto addirittura un neonato ogni 50 nati.

Ad oggi sono noti più di 500 difetti metabolici, ma nuove condizioni vengono spesso descritte, grazie alla identificazione di specifici difetti genetici con effetti sul metabolismo.

La diagnosi precoce di queste malattie è particolarmente importante perché per alcune di esse esiste un trattamento (dietetico, farmacologico, sostitutivo ecc) la cui efficacia è strettamente legata all'inizio tempestivo. Di grande rilievo per la diagnosi precoce delle MME è lo Screening Neonatale esteso come strumento di Medicina preventiva per la diagnosi precoce, in fase pre-clinica di patologie quali aminoacidopatie, acidurie organiche, difetti della  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi, disturbi del ciclo dell'urea, attraverso la Spettrometria di Massa accoppiata (MS/MS) e di fibrosi cistica, difetto del metabolismo della biotina, galattosemia e ipotiroidismo congenito su piattaforma GSP™ (Genetic Screening Processor).

---

### Introduzione

**L**e Malattie Metaboliche Ereditarie (MME) sono condizioni rare, spesso misconosciute. La diagnosi precoce può cambiare in maniera significativa la prognosi *quoad vitam* e la qualità di vita di questi bambini. Esiste invece, ancora oggi, un importante ritardo di riconoscimento e la diagnosi può essere raggiunta anche dopo parecchi anni.

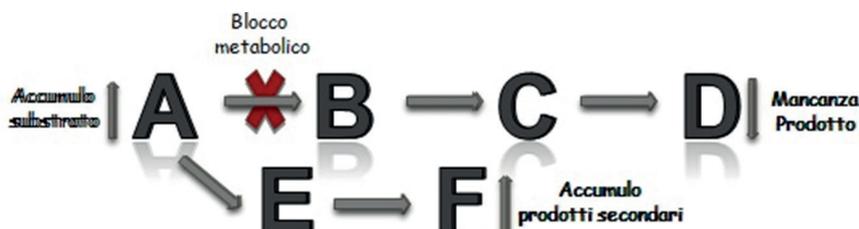
La convinzione che, in quanto rare, queste malattie si presentino in maniera insolita e che comunque la diagnosi sia di pertinenza esclusiva di centri altamente specializzati, fa sì che il medico di famiglia o lo specialista d'organo non le considerino affatto nella diagnostica differenziale di altre patologie più comuni. Per contro il futuro di quel paziente, sia esso un neonato o un bambino, un adolescente o anche un adulto, dipende dal riconoscimento dei segni e dei sintomi con cui può presentarsi una malattia metabolica e dal conseguente invio verso quei centri che possano dare inizio al necessario complesso iter diagnostico.

Per alcune forme il ritardo nella diagnosi inficia l'efficacia dell'eventuale

trattamento terapeutico o espone il soggetto a possibili scompensi che, se non opportunamente trattati, possono condurre al coma o all'*exitus*.

### Cosa sono le malattie metaboliche.

**L** malattie metaboliche ereditarie (MME) sono condizioni genetiche, prevalentemente a trasmissione autosomica recessiva e in alcuni casi ad ereditarietà X-linked, dovute spesso all'alterazione di uno o più geni che codificano per una proteina, con conseguente deficit totale o parziale della produzione o funzione della stessa che interviene in una delle tappe del metabolismo cellulare. Nella maggior parte dei casi la proteina interessata è un enzima che catalizza la trasformazione di una sostanza in un'altra. Il blocco conseguente della via metabolica determinerà l'accumulo del substrato non degradato e, per contro, la mancata sintesi del prodotto a valle (**Fig. 1**).



**Fig. 1.** Alterazione pathway metabolico (deficit enzimatico).

In genere è proprio l'aumentata concentrazione della sostanza non metabolizzata che determina effetti negativi sull'organismo, in alcuni casi di tipo tossico, in altri conseguenti alla distruzione tissutale per l'eccessivo accumulo. Le alterazioni saranno evidenti a carico di quegli organi / tessuti in cui in condizioni normali la proteina / enzima interessato è particolarmente attivo. In generale queste malattie hanno infatti un interessamento multi sistemico. Sebbene si tratti di malattie rare, con una incidenza variabile tra 1/50000 e 1/100000 se valutate singolarmente, nel loro insieme costituiscono una evenienza possibile nella pratica quotidiana potendo essere presenti in 1/1500 nati, o addirittura secondo stime più recenti in 1/50 (1).

Ad oggi sono noti più di 500 difetti metabolici congeniti, ma potenzialmente ogni tappa del nostro metabolismo può essere interessata e corrispondere ad un quadro clinico definito. Non è infatti raro che si scoprano nuovi grandi gruppi di malattie prima non note (2).

Per alcune MME oggi è disponibile un trattamento terapeutico (farmacologico e/o dieta terapeutico) più o meno risolutivo soprattutto se iniziato tempestivamente. Negli altri casi, in cui ad oggi non si dispone ancora di una terapia, sarà possibile comunque programmare un adeguato follow up e, soprattutto, fornire un corretto consiglio genetico ai genitori e a tutto il nucleo familiare.

### Indizi che devono indurre a sospettare una MME.

L'approccio al paziente si basa su un'accurata anamnesi familiare e personale.

Va fatta attenzione alla presenza di consanguineità fra i genitori o di un'origine comune delle loro famiglie da piccoli paesi in cui il numero esiguo di abitanti potrebbe risalire a pochi progenitori comuni nelle generazioni precedenti. Indizi a favore di una possibile malattia metabolica sono inoltre la presenza di casi di morte improvvisa (SIDS) in età neonatale o di ritardo mentale o sequele neurologiche croniche di episodi acuti etichettati come pregresse encefaliti o meningiti.

Anche se nella maggior parte dei casi le MME hanno un'ereditarietà autosomica recessiva, esistono alcune forme X-linked nelle quali, casi con malattie simili possono essere individuati all'anamnesi familiare materna o addirittura possono esservi sintomi materni ascrivibili ad una condizione metabolica non ancora diagnosticata (ad es. rifiuto istintivo di cibi proteici, vomito ricorrente o cefalea nelle portatrici di un difetto del ciclo dell'urea, deficit di ornitina transcarbamilasi). Ad ereditarietà materna sono inoltre le malattie mitocondriali.

Nell'anamnesi personale va individuata la presenza di ricorrenti episodi di scompenso con compromissione delle condizioni generali di origine non chiara, la possibile concomitanza con fattori scatenanti, o in altri casi, la perdita delle abilità neuromotorie acquisite e un decorso progressivo con deterioramento ulteriore.

Nella maggior parte dei casi il periodo neonatale è normale. Dopo un "intervallo libero", più o meno lungo a seconda della patologia metabolica, una volta smaltita l'azione di compenso del metabolismo materno, il neonato non riesce ad attivare correttamente la via metabolica interessata dall'alterazione e diventa sintomatico. In altri casi, può essere evidente la presenza, fin dalle prime ore di vita, di ipotonia marcata, convulsioni o anomalie malformative, come ad esempio nel caso delle malattie perossisomiali o della iperglicinemia non chetotica che rappresenta la causa più precoce di convulsioni, talvolta riconoscibili già in utero. L'idrope fetale non immune è un segno comune a

diverse malattie lisosomiali come ad esempio la mucopolipidosi o la malattia di Gaucher tipo II.

Nei primi mesi di vita la ricorrenza di episodi di vomito e letargia, spesso in concomitanza con fenomeni febbrili o in seguito a digiuno prolungato, ma trattati con successo con semplici infusioni di soluzioni elettrolitiche o fisiologiche, deve indurre a sospettare possibili crisi ipoglicemiche da causa metabolica.

Nelle epoche successive la comparsa di epatomegalia e/o splenomegalia o di crampi muscolari, una crescita stentata, il rifiuto selettivo di alcune categorie di alimenti, l'arresto e/o la regressione dello sviluppo neuromotorio sono indizi che depongono per una possibile MME. Vanno considerati anche episodi stroke-like, peraltro piuttosto rari in età pediatrica, l'atassia in particolare se intermittente, i disturbi respiratori che potrebbero essere dovuti ad acidosi metabolica. Le convulsioni rappresentano un fenomeno di fronte al quale si pensa al trattamento tempestivo e all'inquadramento clinico-emeiologico ma difficilmente e comunque non in maniera sistematica si pensa a identificare una possibile causa organica come una MME.

---

## Diagnosi

Comunemente si è portati a pensare che la diagnosi di una MME sia particolarmente complessa e di esclusiva competenza degli specialisti che si occupano di queste patologie. In realtà alcune comuni analisi di routine possono aiutare a selezionare quei pazienti con maggiori probabilità di essere affetti da uno di questi disordini. In particolare, di fronte ad un soggetto (di qualunque età) che manifesti una compromissione generale vanno eseguite poche indagini di laboratorio che possono indirizzare la diagnosi e soprattutto un trattamento in emergenza. Sarà sufficiente eseguire un emogasanalisi (EAB), il dosaggio di glicemia, ammonio e acido lattico e la ricerca dei chetoni urinari. La combinazione delle alterazioni di alcuni di questi parametri suggerirà le probabili patologie. Ad esempio il riscontro di ipoglicemia associata a ipertransaminasemia, ipercolesterolemia, la presenza di elevati livelli di ammonio, acido lattico o un EAB che riveli un'acidosi metabolica sono dati che depongono a favore di un disturbo del metabolismo (a seconda dei casi aminoacidopatie, difetti del ciclo dell'urea, galattosemia, glicogenosi, organicoacidurie ecc) (**Tab.1**).

La diagnosi definitiva sarà successivamente definita sulla base di specifiche indagini di secondo e terzo livello, talvolta effettuabili solo presso selezionati laboratori. Si tratta in questi casi della determinazione di metaboliti nei fluidi corporei (siero o plasma, urine o in alcuni casi anche liquor).

ACIDOSI	IPOGLICEMIA	CHETONI	LATTICO	NH <sub>3</sub>	
-	-	++	+	-	MSUD
++	+-	++	++	++	OA
-+	-	-	-	+++	CICLO UREA
++	+++	+	++	-	GLICOGENOSI
+	+	+	+	+	GALATTOSEMIA TIROSINEMIA

**Tab. 1.** Sulla base dei cinque parametri indicati e dalla combinazione di più anomalie è possibile individuare le diagnosi più probabili. MSUD = Malattia delle urine a sciroppo d'acero; OA = Acidemie organiche.

Alcune mamme a volte segnalano di aver notato un odore peculiare delle urine o di altre secrezioni corporee. Questo dato può essere particolarmente utile poiché non solo avvalora il sospetto di una MME ma può facilitare la diagnosi permettendo di identificare il metabolita accumulato e quindi escreto in base al tipo di odore (Tab.2).

ODORE	SOSTANZA	MALATTIA
Urine topo	Fenilacetato	PKU
Sciroppo d'acero	Acido 2 cheto- isocaproico	MSUD
Piedi sudati	Acido isovalerico	IVA, aciduria glutarica II
Urina di gatto	Acido 3-OH-isovalerico	Deficit Multiplo di carbossilasi
Burro Acido	2-cheto-metilbutirrico	Tirosinemia tipo I
Cavolo	2 - OH butirrico	Tirosinemia Tipo I
Zolfo	Acido solforico Metionina	Cistinuria Tirosinemia tipo I, cirrosi
Pesce	Trimetilamina	Fish - odour - syndrome (Trimetilaminuria)

**Tab. 2.** Odore peculiare delle urine suggestivo di malattie metaboliche. PKU = fenilchetonuria; IVA = isovalerico aciduria.

Sulla base del quadro clinico e delle indagini di secondo livello, sarà possibile dosare l'attività degli enzimi potenzialmente interessati e dimostrarne la carenza su cellule (leucociti, fibroblasti in coltura, tessuto muscolare, biopsia epatica).

Il passo successivo prevede la conferma definitiva della diagnosi grazie ad indagini molecolari mirate alla ricerca delle anomalie genetiche responsabili del difetto enzimatico.

Se effettivamente le scelte decisionali sui test da effettuare sono di competenza degli specialisti in MME, è però anche vero che alcuni semplici esami di routine possono dare informazioni utili per decidere se riferire il paziente ad un centro specializzato in grado di programmare le indagini necessarie per definire la diagnosi e interpretare i risultati.

**I test di secondo livello** sono effettuabili solo presso alcuni centri di riferimento. Includono il dosaggio degli aminoacidi plasmatici, della chitotriosidasi come test di screening per le malattie lisosomiali, degli enzimi lisosomiali su cellule (leucociti o fibroblasti), e su urine il dosaggio degli acidi organici urinari, la ricerca delle sostanze riducenti e dei mucopolisaccaridi. Tuttavia, nelle malattie caratterizzate da fasi di scompenso, alcune determinazioni vanno effettuate proprio durante tali episodi poiché in condizioni basali potrebbero risultare negative. È questo ad esempio il caso dei disordini del ciclo dell'urea o dei difetti del ciclo del glutatione; un aumento dell'acido lattico nel sangue e nelle urine può essere più evidente in condizioni di digiuno prolungato, stress fisico o infezioni nelle malattie mitocondriali, viceversa è un dato costante in concomitanza con l'ipoglicemia nelle glicogenosi. L'iperammoniemia è presente dopo carico proteico nei disordini del ciclo dell'urea.

L'utilizzo sempre più diffuso delle tecniche di NGS (Next Generation Sequencing) o WHS (Whole Exome Sequencing) sta portando alla individuazione di forme cliniche nuove soprattutto nel campo dei difetti di glicosilazione, un gruppo di MME in continua crescita.

Anche se è prevedibile un sempre più ampio utilizzo di queste tecniche, va sottolineato che a volte l'identificazione di varianti di significato incerto, la cui natura patogenetica non è stata ancora dimostrata, può complicare l'interpretazione della diagnosi. In questi casi è auspicabile un monitoraggio periodico del paziente dal punto di vista biochimico - clinico e uno studio personalizzato di tipo genomico molecolare, per riuscire ad incrementare le conoscenze relative al significato di tali varianti e fare una correlazione fenotipo-genotipo, per definire la diagnosi e poter attuare l'iter terapeutico migliore per il singolo paziente.

---

## Screening neonatale esteso

**L**o screening neonatale (SN) (3) è uno strumento di medicina preventiva in grado di individuare anomalie biochimiche, indicative della presenza di una MME, prima della comparsa di manifestazioni clini-

che. La precoce individuazione di queste patologie e il tempestivo inizio delle terapie (farmacologiche e/o dietetiche) ove possibile, comporta una significativa riduzione della morbilità e della mortalità legate ad ognuna di queste patologie (4).

*Lo SN non è solo un test, ma un programma integrato e multidisciplinare di prevenzione che coinvolge diversi coprotagonisti: i punti nascita dove viene effettuato il prelievo tra la seconda e la terza giornata di vita del neonato, i laboratori che eseguono i test (di prima istanza e di accertamento diagnostico), i centri clinici che prendono in carico i casi confermati positivi, i vari organismi di coordinamento e di sorveglianza a livello regionale e nazionale.*

Lo SN ebbe inizio negli anni 60, grazie alla intuizione di Robert Guthrie che ideò un pratico metodo per la raccolta dei campioni ematici mediante un cartoncino di carta bibula, oggi indicato come DBS (Dried Blood Spot). In pratica poche gocce di sangue, generalmente ottenute pungendo il tallone del neonato, vengono depositate all'interno di aree circolari presenti nel cartoncino. Tale metodo, nato per eseguire il monitoraggio dei pazienti con fenilchetonuria (Pku), rese particolarmente facile sia la raccolta che il trasporto dei campioni. Il test semiquantitativo di Guthrie su DBS si basava sulla capacità della fenilalanina di facilitare la crescita del *Bacillus subtilis* in un terreno di coltura con un inibitore, la  $\beta$ -2-tienialanina. Il campione di sangue di un bambino con fenilchetonuria fornisce abbastanza fenilalanina extra per i batteri da farli crescere nonostante la presenza dell'inibitore.

Se è vero che il test di inibizione batterica su spot di sangue ha gettato le basi per l'inizio dello Screening Neonatale, ad oggi è ormai stato soppiantato dalla Spettrometria di Massa accoppiata o Tandem Mass (MS/MS).

L'applicazione di metodiche sempre più innovative e in particolare della MS/MS (3) allo screening neonatale ha permesso di espandere significativamente il pannello delle malattie metaboliche evidenziabili in epoca neonatale, permettendo l'analisi contemporanea, in un'unica seduta analitica e su un unico campione biologico, di più metaboliti (aminoacidi, acilcarnitine, succinilacetone, nucleotidi purinici, lisofosfatidilcoline) consentendo così di passare dallo screening neonatale di base per 3 patologie (fenilchetonuria, ipotiroidismo e fibrosi cistica) allo Screening Neonatale Esteso (SNE) per più di 40 patologie.

Lo SNE, inserito in Italia nei LEA (livelli essenziali di assistenza) è un servizio che il SSN (Sistema sanitario nazionale) deve fornire gratuitamente a tutti i nuovi nati, dietro il consenso da parte dei genitori. Attraverso l'analisi su poche gocce di sangue imbibite su una speciale carta da filtro, permette l'identificazione di molteplici MME quali aminoacidopatie, acidurie organiche, difetti della  $\beta$ -ossidazione degli acidi grassi, disturbi del ciclo dell'urea,

attraverso la MS/MS e di fibrosi cistica, difetto del metabolismo della biotina, galattosemia e ipotiroidismo congenito mediante piattaforma GSP™ (Tab.3). mediante piattaforma GSP (Tab. 3).

Restano ancora fuori dal pannello ministeriale, le malattie lisosomiali, le perossisomiali e le alterazioni del metabolismo purinico, tutte analizzabili in MS/MS. Per alcune di queste malattie esistono dei programmi sperimentali in alcuni centri, ma molteplici sono gli interrogativi da un punto di vista etico, sulla loro introduzione nel pannello ministeriale obbligatorio.

	Gruppo	Acronimo	Malattia
Malattie metaboliche ereditarie	Difetti nel metabolismo degli aminoacidi	PKU	Fenilchetonuria
		HPA	Iperfenilalaninemia benigna
		BIOPT (BS)	Deficit del biosintesi del cofattore biopterina
		BIOPT (REG)	Deficit della rigenerazione del cofattore biopterina
		TYR I	Tirosinemia tipo I
		TYR II	Tirosinemia tipo II
		MSUD	Malattia delle urine allo sciroppo d'acero
		CBS	Omocistinuria (difetto di CBS)
		MTHFR	Omocistinuria (difetto severo di MTHFR)
	Difetti nel metabolismo degli acidi organici	GA I	Acidemia glutarica tipo I
		IVA	Acidemia isovalerica
		BKT	Deficit di beta-chetotilasi
		HMG	Acidemia 3-idrossi 3-metilglutarica
		PA	Acidemia propionica
		MUT	Acidemia metilmalonica (Mut)
		Cbl A	Acidemia metilmalonica (Cbl-A)
		Cbl B	Acidemia metilmalonica (Cbl-B)
		Cbl C	Acidemia metilmalonica con omocistinuria (deficit Cbl C)
		Cbl D	Acidemia metilmalonica con omocistinuria (deficit Cbl D)
		2MBG	Deficit di 2-metil butiril-CoA deidrogenasi
		MAL	Aciduria malonica
		MCD	Deficit multiplo di carbossilasi
	Difetti del ciclo dell'urea	CIT I	Citrullinemia I
		CIT II	Citrullinemia tipo II (deficit di Citrina)
		ASA	Acidemia argininosuccinica
		ARG	Argininemia
	Difetti dell'ossidazione degli acidi grassi	CUD	Deficit del trasporto della carnitina
		CPT Ia	Deficit di carnitina palmitoil-transferasi I
		CACT	Deficit carnitina acil-carnitina translocasi
		CPT II	Deficit di carnitina palmitoil-transferasi II
		VLCAD	Deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena molto lunga
		MTP	Deficit della proteina trifunzionale mitocondriale
		LCHAD	Deficit di 3-idrossi-acil-CoA deidrogenasi a catena lunga
		MCAD	Deficit di acil-CoA deidrogenasi a catena media
M/SCHAD		Deficit di 3-idrossi-acil-CoA deidrogenasi a catena media/corta	
GA II/MADD		Acidemia glutarica tipo II	
Altre malattie		GALT	Galattosemia
	BTD	Difetto di biotinidasi	
Altre malattie genetiche	FC	Fibrosi cistica	
	IC	Ipotiroidismo congenito	

**Tab. 3.** *Malattie Metaboliche ereditarie individuate con lo SNE. Le patologie in giallo, vengono sottoposte ad analisi con metodica analitica differente dalla Spettrometria di Massa Tandem, mediante piattaforma GSP™ (D.M. del 13-10-2016).*

Il test di screening è un test di prima istanza che non consente di fare diagnosi. Quando un neonato risulta positivo allo SNE viene richiamato, per riconfermare l'alterazione biochimica su un secondo DBS e nel caso di un nuovo risultato positivo, viene avviato l'iter di accertamento diagnostico mediante visita presso il Centro Clinico, per effettuare dosaggio di aminoacidi plasmatici e/o acidi organici urinari. Se anche l'accertamento diagnostico conferma l'accumulo metabolico, si procede con l'ultima tappa dell'iter ovvero l'indagine molecolare per la ricerca delle mutazioni genetiche in modo da effettuare dove possibile una correlazione fenotipo – genotipo e pianificare il migliore approccio terapeutico ove possibile e, quindi, la presa in carico del paziente da parte del personale del Centro di Riferimento con esperienza specifica (Fig.2).

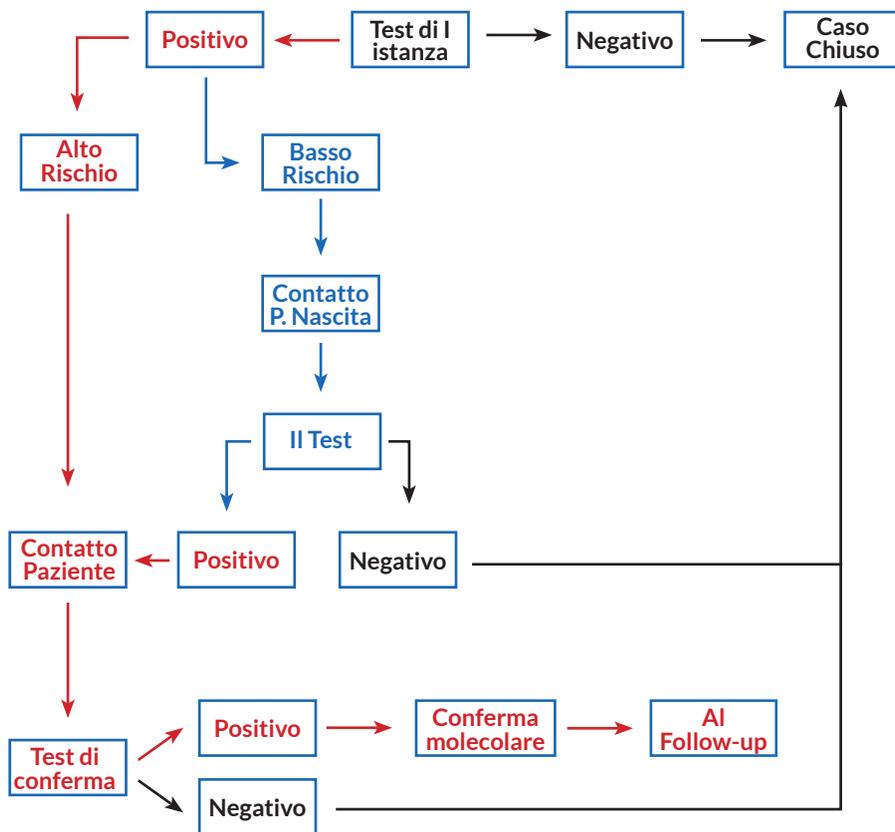


Fig. 2. Algoritmo diagnostico

Sin dai primi anni dell'utilizzo della spettrometria di massa applicata allo SNE, è apparso evidente che la frequenza di malattie raramente diagnosticate in precedenza è significativamente più alta (4).

---

## Conclusioni

**L**a diagnosi precoce delle malattie metaboliche ereditarie rappresenta ancora oggi una sfida che richiede sempre più competenze e multidisciplinarietà. La particolare attenzione verso le malattie rare iniziata negli anni 2000 sulla base di direttive europee, ha certamente incrementato il numero delle diagnosi, grazie anche alla istituzionalizzazione dello SNE che si pone l'obiettivo di individuare precocemente, in fase preclinica, più di 40 errori congeniti del metabolismo ascrivibili a difetti del metabolismo degli aminoacidi, del ciclo dell'urea, del metabolismo degli acidi grassi (difetti della  $\beta$ -ossidazione mitocondriale), fibrosi cistica, difetti del metabolismo della biotina e del galattosio, per potere avviare tempestivamente l'iter diagnostico e intraprendere il prima possibile il trattamento terapeutico (farmacologico, dietetico, sostitutivo), migliorando l'outcome del paziente (con impatto sia sulla prognosi che sul fenotipo clinico di queste condizioni), e fornendo anche un counseling genetico mirato alle famiglie.

Oggi, sulla base dei risultati ottenibili con lo SNE è prevedibile che, in pochi anni, per molte patologie la diagnosi sarà nota fin dalla nascita per cui bisogna potenziare il personale dei Centri specializzati in modo da garantire l'attuazione ottimale di tutti i protocolli e percorsi diagnostici terapeutici assistenziali (PDTA) per salvaguardare al meglio la salute del paziente. Va comunque tenuto presente che all'interno dello SNE esistono delle criticità: non tutte le malattie oggi individuabili alla nascita sono trattabili; la possibilità di falsi positivi al primo test, comportando la necessità del richiamo del neonato, è fonte di notevole stress per le famiglie coinvolte; la possibilità di falsi negativi allo screening. Per ridurre il più possibile tale rischio, vengono attuati protocolli speciali per tutte le categorie di neonati (gemelli, prematuri, sottoposti a terapie speciali, farmaci, trasfusioni ecc.) secondo le linee guida condivise dalle società scientifiche, rinnovati periodicamente i cut-off dei vari analiti e inoltre tutti i valori che risultano alterati rispetto al cut-off vengono sottoposti ad analisi statistica considerando la qualità della misura analitica in termini di rapporto segnale/ rumore delle aree di analiti e standard, e quindi in termini di coefficiente di variazione percentuale (CV%), al fine di ottenere un dato significativamente correlato ad una alterazione biochimica (transitoria o meno) non inficiata da errore strumentale o di metodica. In caso di quadri clinici fortemente suggestivi è sempre opportuno ripetere gli

esami biochimici diagnostici di secondo livello. Da non sottovalutare i costi di installazione della strumentazione e la realizzazione di un sistema adeguatamente efficiente di raccolta e trasporto dei campioni, la necessità di personale altamente specializzato e qualificato nell'utilizzo della strumentazione e nell'interpretazione dei dati, e di medici con competenza clinica nel campo delle malattie metaboliche in grado di gestire la definizione diagnostica e la presa in carico del neonato.

Spesso il personale del Centro Clinico di Riferimento deve inoltre affrontare situazioni a volte inaspettate per neonati nei quali vengano identificate condizioni particolarmente rare per le quali esistono pochissimi pazienti noti al mondo. Ciò richiede una stretta collaborazione con altri Centri di Malattie Metaboliche in Italia e all'estero e rende necessario un aggiornamento continuo del Personale Medico e Paramedico dedicato e specializzato nella gestione delle Malattie Metaboliche.

Per contro, l'estensione dello screening alle patologie lisosomiali, che in alcuni casi potranno divenire sintomatiche solo in età adulta, porta alla ribalta problemi di tipo etico considerando il carico psicologico per le famiglie e per il periodico monitoraggio di bambini che potrebbero restare asintomatici per molti anni.

**Conflitti di interesse.** *Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.*  
**Studi condotti su esseri umani e animali.** *L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.*

## ***Bibliografia***

Urv TK, Parisi MA Newborn screening: beyond the spot. *Adv Exp med Biol* 2017, 1031:323-346.

Morava E Rahman S, Peters V, Baumgartner MR, Patterson M, Zschoke J Quo vadis: the redefinition of inborn metabolic diseases. *J Inher Metab Dis* 2015, 38:1003-1006.

M.A.M, CM, Expanded Newborn Screening Using Tandem Mass Spectrometry: Seven Years of Experience in Eastern Sicily. 5 April 2018 - *International Journal of Neonatal Screening*.

Marsden D, Larson C, Levy HL. Newborn screening for metabolic disorders. *J of Pediatrics* 2006, 148, 5:577-584.

## DALLE NOTE DISMORFICHE ALLA DIAGNOSI DI SINDROME MALFORMATIVA

Teresa Mattina

**U**na sindrome malformativa è una patologia caratterizzata dalla contemporanea presenza di più segni clinici: malformazioni (maggiori e/o minori), note dismorfiche, anomalie dello sviluppo fisico (per eccesso, per difetto, o in maniera asimmetrica), disabilità intellettiva. La sindrome malformativa riconosce una causa univoca.

### Un po' di nomenclatura:

**Malformazione:** è un difetto congenito dovuto a un processo di sviluppo intrinsecamente anomalo. Es. malformazione cerebrale nella sindrome di Smith Lemli Opitz.

**Malformazioni maggiori:** Alterazioni morfologiche strutturali che determinano un'alterazione di una funzione, hanno rilevanza clinica o estetica e necessitano di trattamento medico e/o chirurgico.

Malformazioni minori: Alterazioni morfologiche strutturali poco o per nulla rilevanti sul piano clinico o estetico, che non alterano alcuna funzione e non necessitano di trattamento, hanno una frequenza inferiore al 4% nella popolazione di riferimento.

**Varianti fenotipiche:** Alterazioni morfologiche strutturali non rilevanti sul piano clinico o estetico, che non alterano alcuna funzione e non necessitano di alcun trattamento, e sono presenti con una frequenza superiore al 4% nella popolazione di riferimento.

**Deformazione:** difetto congenito, dovuto a fattori meccanici (come la compressione) che agiscono durante lo sviluppo intrauterino su una struttura intrinsecamente normale. Es: piede torto congenito in caso di poliamnios o oligoamnios.

**Disruption:** è un difetto congenito dovuto allo sconvolgimento di una struttura originariamente normale a causa di agenti esterni: virus, teratogeni ecc. Es: cardiopatia congenita in caso di embriopatia rubeolica.

Sequenza malformativa: è una condizione in cui sono presenti diversi segni clinici, derivati a cascata gli uni dagli altri. Es.: Sequenza di Pierre Robin: micrognatia → lingua prominente → palatoschisi → glossoptosi.

**Associazione malformativa:** è una patologia caratterizzata dalla presenza contemporanea di più sintomi che coincidono con una frequenza superiore alla casualità statistica, ma in cui non si riconosce una causa univoca. Es. associazione VACTERL (vertebral defects, anal atresia, cardiac defects, tracheo-esophageal fistula, renal anomalies, and limb abnormalities).

---

## Perché serve la diagnosi?

**L**a diagnosi, anche se non sempre possibile e non sempre facile, rimane il primo e principale scopo di qualsiasi medico. Solo dopo la diagnosi è possibile, infatti, conoscere le implicazioni del quadro clinico osservato, avere informazioni sulla prognosi, sulle possibili complicazioni, sulla storia naturale e la qualità di vita prevedibile, sui meccanismi eziologici e patogenetici che hanno causato la patologia, e, di conseguenza sugli eventuali interventi terapeutici risolutivi possibili, sui trattamenti sintomatici da proporre ed organizzare, sulla programmazione di un follow up adeguato alla patologia, sulla prevenzione della ricorrenza.

La diagnosi è il primo passo del medico necessario per affrontare la malattia in maniera consapevole e consentire al paziente e alla famiglia la migliore gestione possibile.

Non tutte le malattie rare sono direttamente causate da modificazioni genetiche, anche se quasi tutte le malattie genetiche rientrano fra le patologie rare, esistono malattie rare da cause infettive, da patologie rare del sistema immunitario, malattie neoplastiche rare, tuttavia anche in questi casi, sempre più spesso, si riconoscono condizioni di predisposizione genetica.

Nel campo delle malattie genetiche, dobbiamo distinguere due aspetti della diagnostica: l'aspetto clinico e l'aspetto laboratoristico.

L'osservazione clinica indirizza verso un sospetto diagnostico più o meno definito, il laboratorio di genetica può consentire la conferma diagnostica e indica le eventuali peculiarità di quella particolare patologia in uno specifico soggetto.

---

## La diagnosi clinica e la diagnosi genetica

### Diagnosi gestaltica

La diagnosi clinica di alcune sindromi malformative è possibile già a prima vista, in termini tecnici si parla di diagnosi "gestaltica". Questa è basata sul riconoscimento a prima vista (gestalt) del pattern dismorfológico che conferisce ai pazienti un aspetto peculiare: pazienti che soffrono della medesima condizione, presentano fra loro una straordinaria somiglianza, talvolta non

solo fisica, ma spesso anche comportamentale. Pensiamo per semplicità ai pazienti con sindrome di Down, si somigliano fra loro, più di quanto non somiglino ai propri familiari. Poiché la s. di Down non è particolarmente rara (prevalenza alla nascita 95/100.000), l'aspetto peculiare del paziente è riconosciuto a prima vista, non solo dai genetisti clinici, ma, il più delle volte, anche dalla gente comune.

Sindromi più rare, richiedono un occhio allenato, ma per un certo numero di esse, la diagnosi gestaltica è possibile. La sindrome di Williams, (prevalenza alla nascita 10.8/100.000) è riconoscibile per una facies resa peculiare dalla pienezza della regione periorbitale, e delle labbra, dall'iride stellato (**Fig. 1**), ma anche per la stenosi sopravvalvolare dell'aorta e per il comportamento esuberante. La sindrome Kabuki è riconoscibile a prima vista, per l'aspetto apparentemente truccato degli occhi (**Fig. 2**), (simile al trucco adottato dal teatro giapponese Kabuki).

La diagnosi è sostenuta anche da deficit di sviluppo fisico, disabilità lieve o moderata, e dalle caratteristiche morfologiche dei polpastrelli delle dita. Va ricordato però che la caratteristica fisionomia della sindrome, cardine importante per la diagnosi, non è evidente nella primissima infanzia, ma si evidenzia generalmente dopo il primo anno di vita.



**Fig. 1.** S. di Williams: pienezza della regione periorbitale e delle labbra.



**Fig. 2.** S. Kabuki: aspetto peculiare degli occhi.

## Evoluzione del fenotipo

In termini generali va sottolineato che il quadro clinico e le note dismorfiche osservate in una sindrome genetica possono essere costanti oppure possono subire un'evoluzione durante lo sviluppo del paziente: alcune manifestazioni sono evidenti alla nascita e successivamente non sono più rilevabili, altre, assenti alla nascita, compaiono nel paziente durante lo sviluppo. La sindrome da delezione del braccio corto del cromosoma 5 è caratterizzata da un pianto miagolante che le ha guadagnato la definizione di sindrome del "cri du chat". Questo aspetto clinico caratteristico scompare nei primi anni di vita.



**Fig. 3.** S. di Prader Willi: paziente in epoca neonatale, evidente la magrezza.

La sindrome di Prader Willi, identificata sul piano clinico molti anni prima che fosse riconosciuta la causa genetica, era descritta come una patologia caratterizzata da disabilità intellettiva, ipotonia, obesità, ipogenitalismo. Questa sintomatologia è evidente però solo a partire dal secondo anno di vita, la diagnosi nel paziente più giovane è legata all'osservazione di un quadro sintomatologico molto diverso, dominato dall'ipotonia e dalla estrema magrezza causata dalla difficoltà del paziente, fortemente ipotonico, ad alimentarsi (Fig.3).

Nella delezione 2q37, OMIM #600430 (Albright Hereditary Osteodystrophy-Like Syndrome Brachydactyly-Mental Retardation Syndrome; Bdmr), la microdelezione del cromosoma 2 è associata a brachidattilia e ritardo mentale, le note dismorfiche della facies e la disabilità intellettiva sono sintomi costanti, mentre la brachidattilia, dovuta a brevità dei metacarpi e dei metatarsi, assente nel bimbo più piccolo (**Fig. 4**), compare gradualmente dopo i 6-8 anni (**Fig.5**). L'analisi del fenotipo richiede visite multidisciplinari, accertamenti di laboratorio e strumentali che consentano una definizione, per quanto possibile, completa del quadro clinico, importante la documentazione fotografica del paziente. Poiché il quadro clinico può essere evolutivo, è importante che esso sia rivalutato nel tempo, sia nel caso in cui si sia pervenuti ad una diagnosi, come in quei casi in cui la definizione diagnostica non è stata raggiunta.

#### Sintomo maniglia:

Alcune patologie genetiche rare, pur in assenza di un quadro dismorfico identificabile a colpo d'occhio, mostrano la presenza di un sintomo specifico



**Fig. 4.** Radiografia della mano in un bambino con delezione 2q37, a 5 anni.



**Fig. 5.** Radiografia della mano dello stesso bambino a 12 anni.

o altamente suggestivo, che indirizza e agevola la diagnosi. Il sintomo “maniglia”, quello che di più ci aiuta nella diagnosi, spesso è un segno minore, di poca o nessuna rilevanza clinica.

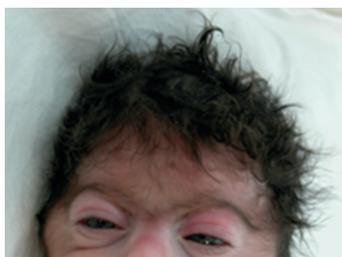
La presenza di solchi *plantari e palmari profondi* (**Fig. 6**) è un segno caratteristico di forte sospetto di trisomia 8 a mosaico (la trisomia 8 si osserva solo nella condizione di mosaico).

Nella sindrome di Cornelia de Lange la *sinofria* (le sopracciglia sono fuse sopra il ponte nasale), costituisce un segno altamente caratteristico (**Fig.7**).

Nella Atassia telangectasia, le *telangectasie* (dilatazioni dei capillari), molto ben visibili sulla sclera (**Fig. 8**), sono un segno importante per la diagnosi della patologia.



**Fig. 6.** Solchi palmari profondi nella trisomia 8 a mosaico.



**Fig. 7.** SS. di Cornelia de Lange: Iperticosi e sinofria.



**Fig. 8.** Telangectasie della sclera nella sindrome Atassia-Telangectasia.

Nel caso della Fibrodisplasia ossificante progressiva, l'*alluce valgo* (**Fig. 9**) è un sintomo precoce, altamente sospetto per la sindrome quando ancora i segni caratteristici dell'ossificazione ectopica possono non essersi manifestati.

La *deformità di Madelung*, una deformità dell'avambraccio e del polso dovuta allo sviluppo difettoso del radio (**Fig. 10**), indirizza verso una diagnosi di discondrosteosi di Léri-Weill o altri quadri legati a mutazioni o delezioni del gene SHOX.

La particolare tipologia a Y di *sindattilia fra 2 e 3 dito del piede* (**Fig. 11**), associata a polidattilia, indirizza verso la sindrome di Smith Lemli Opitz.



**Fig. 9.** Alluce valgo infantile nella Fibrodisplasia ossificante progressiva (FOP).



**Fig. 10.** Deformità di Madelung nella mutazione/delezione del gene SHOX.



**Fig. 11.** Sindattilia tipica ad Y nella sindrome di Smith Lemli Opitz.

---

## Uso di database:

**N**ella maggior parte dei casi il paziente che giunge al medico genetista ha un quadro malformativo complesso, non inquadrabile immediatamente con una diagnosi a prima vista, né è presente un sintomo evocatore peculiare e distintivo. Ci si trova di fronte a una quantità di sintomi contemporaneamente presenti in un soggetto. Non è detto che tutti i sintomi osservati facciano parte del quadro sindromico di base, possono essere presenti anche sintomi aggiuntivi, ereditati autonomamente, o dovuti a cause ambientali contingenti. **Nello stilare l'albero genealogico è pertanto utile indicare con un simbolo diverso, ciascuno dei sintomi più rilevanti osservati nel paziente, consentendo una vera e propria dissezione del fenotipo. Lo studio clinico dei familiari permette di identificare altri soggetti che condividono con il proposito il quadro clinico, in tutto, o in parte, o che presentano un del tutto fenotipo diverso, ma correlato a quello del proposito, esempio carcinoma mammario nella mamma di un paziente con anemia di Fanconi, o menopausa precoce nella mamma di un soggetto con sindrome FRAXA.**

Nel caso frequente, di un paziente con sindrome malformativa da definire, è utile il ricorso ai database clinici disponibili. Questi programmi, sulla base dei segni clinici che il medico seleziona come "più rilevanti", indirizzano verso un numero di possibili diagnosi. Esistono numerosi siti che consentono gratuitamente accesso on line a programmi utili ai fini diagnostici, OMIM, Geneclinics, Orphanet, Phenomizer, Face2gene.

La principale difficoltà nel realizzare un database clinico sta nella necessità e nella difficoltà degli autori di standardizzare le osservazioni cliniche, presupposto indispensabile per la preparazione e per l'utilizzo di programmi informatici. Spesso le descrizioni dei segni clinici, fornite dalla letteratura scientifica, ed utilizzati dal database, sono riportate da ricercatori diversi, che utilizzano un linguaggio differente anche quando si riferiscono al medesimo segno.

Mentre da una parte vi è l'esigenza da parte degli informatici di standardizzazione, dall'altra vi è l'esigenza dei clinici di precisione descrittiva.

*Un database molto utilizzato come supporto alla diagnosi clinica è Phenomizer.*

Phenomizer, è stato concepito per i medici, allo scopo di consentire loro di affrontare la diagnosi clinica con mezzi che stiano al passo con i formidabili sistemi bioinformatici che sostengono la diagnosi genetica molecolare e bio-

chimica. Nel campo biologico genetico molecolare, genomico, biochimico, la nomenclatura è standardizzata. Phenomizer si propone di rispondere ai quesiti dei clinici, fornendo una serie di possibili diagnosi elencate per probabilità, consente di affinare la diagnosi con l'aggiunta di informazioni supplementari inclusa la probabile tipologia di trasmissione ereditaria, è disponibile gratuitamente on line e rimanda ad altri database a partire da OMIM. Face2gene, un sito online gratuito che consente di confrontare fotografie del paziente con immagini di riferimento relative a sindromi definite. La tecnologia del sito converte una foto del paziente in "descrittori" facciali matematici deidentificati, il descrittore facciale del paziente viene confrontato con l'immagine della sindrome e ne quantifica la somiglianza (ottenendo punteggi di gestalt). Ne risulta un elenco di sindromi con morfologia simile, con punteggi di gestalt diversi che il clinico può prendere in considerazione. L'intelligenza artificiale suggerisce inoltre tratti fenotipici e geni che possono migliorare l'annotazione dei segni clinici e quindi definire quale sindrome è da considerare prioritaria nel sospetto diagnostico. È possibile fornire in aggiunta informazioni cliniche del paziente non riferibili al viso che possono ulteriormente indirizzare verso la diagnosi.

Il sito consente anche forum con il coinvolgimento di esperti.

OMIM, un elenco sempre aggiornato delle patologie genetiche, con sinossi clinica (clinical synopsis) della patologia, con eventuale indicazione di patologie clinicamente indistinguibili (phenotypic series), ma legate ad anomalie genetiche diverse. Rimanda ad altri database online.

---

## Diagnosi genetica

**U**na volta stabilita una diagnosi clinica a che serve la diagnosi genetica? Immaginiamo una famiglia dove vi è un soggetto con sindrome di Down. La diagnosi clinica è stata facile, non ha lasciato margini di dubbio. Ma se vogliamo prevenire la ricorrenza della sindrome di Down nella famiglia, dobbiamo sapere se il paziente ha una trisomia 21 libera (rischio di ricorrenza 1/100 oltre al rischio per età materna), una trisomia 21 da traslocazione de novo (rischio estremamente basso), da traslocazione familiare (rischio diverso se il portatore della forma bilanciata è il padre o la madre), una traslocazione 21;21 familiare comporta un rischio di ricorrenza del 100%. A prescindere dalla possibilità di valutare il rischio di ricorrenza, e adottare metodi specifici per la prevenzione, la diagnosi genetica consente inoltre di distinguere fra forme caratterizzate da prognosi diverse: ad esempio ci sono mutazioni che si associano ad aumentato rischio neoplastico. Alcune patologie come la distrofia muscolare di Duchenne, nel caso di alcune mutazioni de-

finite (mutazioni non senso), sono addirittura trattabili farmacologicamente. Nel caso in cui si perviene ad una ipotesi diagnostica si può procedere con l'esecuzione del test genetico di conferma.

Nel caso di patologie geneticamente omogenee (per quel fenotipo è riportata una specifica causa genetica), il test genetico si esegue analizzando il gene che è conosciuto come responsabile.

Nel caso di patologie geneticamente eterogenee (per lo stesso fenotipo sono possibili cause genetiche diverse), il test genetico si esegue analizzando contemporaneamente un pannello di geni, che comprenda, possibilmente, tutti i geni potenzialmente responsabili.

Nel caso in cui non è possibile pervenire ad una ipotesi diagnostica clinica, l'approccio alla diagnosi genetica di una sindrome malformativa è quello di uno studio cromosomico e genomico (cariotipo tradizionale ed esame genomico con array) e/o eventuale analisi in next generation sequencing (NGS) di pannelli di geni, del mendelioma, dell'esoma o del genoma.

Data l'enorme variabilità anche fisiologica del genoma umano, è altamente probabile la necessità di confrontarsi, non solo con le mutazioni effettivamente causative, ma anche con varianti genomiche o geniche che non hanno alcuna relazione con la patologia in esame. È importante riconoscere queste ultime e non attribuire ad esse un significato patogenetico.

Un simile errore comporterebbe tutta una serie di ricadute negative in termini di assistenza al malato e di possibilità di prevenzione della ricorrenza.

### **Risultato del test genetico:**

Il risultato del test genetico può confermare la diagnosi clinica e consentire un'assistenza disegnata ad hoc sulle condizioni cliniche del paziente e sulle conoscenze del difetto di base.

Se il risultato del test genetico eseguito non conferma l'ipotesi diagnostica è necessario rivalutare il paziente e, decidere se è opportuno considerare ipotesi diagnostiche alternative, oppure, se il sospetto diagnostico già definito rimane forte, proporre o rimandare a nuove alternative metodologiche di indagine biomolecolare.

### **La consulenza genetica:**

Prima di qualsiasi test genetico deve essere eseguita una consulenza genetica che ha lo scopo di raccogliere le informazioni personali e familiari del paziente, eseguire la visita dismorfologica, proporre eventuali esami strumentali e/o di laboratorio necessari per completare l'inquadramento clinico del paziente, identificare e proporre i test genetici indicati. Dopo l'esecuzione dei test genetici, il significato dei risultati ottenuti e le implicazioni che ne seguono, devono essere discussi con il paziente e la famiglia nell'ambito di una consulenza genetica post test. La consulenza genetica deve essere accompagnata da una relazione scritta che viene consegnata al paziente.

## ***Bibliografia/Sitografia***

Smith's Recognizable Patterns of Human Malformation. Edition 7 K.L. Jones 2013.

<https://www.omim.org/>

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1116/>

<https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/index.php>

<http://compbio.charite.de/phenomizer/>

<https://www.face2gene.com/>

***Conflitti di interesse.*** L'autore dichiara di non avere alcun conflitto di interesse.

***Studi condotti su esseri umani e animali.*** L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali.



# SINDROMI GENETICHE RARE CON DISTURBI DEL NEUROSVILUPPO

Corrado Romano

## Introduzione

I disturbi del neurosviluppo (DNS) sono definiti dal DSM-5 (1) come un gruppo di condizioni con esordio nel periodo dello sviluppo. Si manifestano nelle prime fasi dello sviluppo e sono caratterizzati da deficit dello sviluppo che causa una compressione del funzionamento personale, sociale, scolastico o lavorativo. Il range dei deficit varia da limitazioni molto specifiche dell'apprendimento fino alla compromissione globale delle abilità sociali e dell'intelligenza. Si presentano frequentemente in concomitanza; per esempio individui con disturbo dello spettro dell'autismo spesso presentano disabilità intellettive, e molti bambini con disturbo da deficit di attenzione/iperattività hanno anche un disturbo specifico dell'apprendimento. In alcuni disturbi il quadro clinico comprende sintomi di eccesso, ma anche deficit e ritardi nel raggiungimento delle tappe dello sviluppo attese.

In particolare, i DNS si suddividono in Disabilità Intellettive, Disturbi della Comunicazione, Disturbo dello spettro dell'autismo, Disturbo da deficit di attenzione/iperattività, Disturbo specifico dell'apprendimento, Disturbi del Movimento, Altri disturbi del Neurosviluppo, Disturbi del neurosviluppo senza specificazione.

**La Disabilità Intellettiva** è caratterizzata da deficit delle capacità mentali generali, come il ragionamento, il problem solving, la pianificazione, il pensiero astratto, la capacità di giudizio, l'apprendimento scolastico e l'apprendimento dell'esperienza. I deficit comportano una compromissione del funzionamento adattivo tale che l'individuo risulta incapace di soddisfare gli standard di autonomia e di responsabilità sociale in uno o più aspetti della vita quotidiana, comprese la comunicazione, la partecipazione sociale, l'attività scolastica o lavorativa, e l'autonomia a casa o nella comunità. Il ritardo globale dello sviluppo viene diagnosticato quando un individuo non riesce a raggiungere le tappe attese dello sviluppo in diverse aree del funzionamento intellettuale.

**I Disturbi della Comunicazione** comprendono il disturbo del linguaggio, il disturbo fonetico-fonologico, il disturbo della comunicazione sociale e il disturbo della fluenza. I primi tre disturbi sono caratterizzati da deficit dello sviluppo e dell'utilizzo rispettivamente del linguaggio, dell'eloquio e della comunicazione sociale. I disturbi della comunicazione si manifestano precocemente e possono produrre danni funzionali permanenti.

**Il Disturbo dello Spettro dell'Autismo** è caratterizzato da deficit persistenti

della comunicazione sociale e dell'interazione sociale in molteplici contesti, compresi deficit della reciprocità sociale, della comunicazione non verbale utilizzata per le interazioni interpersonali. In aggiunta ai deficit della comunicazione sociale, la diagnosi di disturbo dello spettro dell'autismo richiede la presenza di un repertorio di comportamenti, interessi o attività limitato e ripetitivo.

**Il Disturbo da Deficit di Attenzione e Iperattività** è un disturbo del neurosviluppo caratterizzato da livelli invalidanti di disattenzione, disorganizzazione e/o iperattività-impulsività. La disattenzione e la disorganizzazione comportano l'incapacità di mantenere l'attenzione su un compito, l'apparente mancanza di ascolto e la perdita di oggetti, a livelli inadeguati all'età o al livello di sviluppo. L'iperattività-impulsività comporta un livello di attività eccessivo, agitazione, incapacità di rimanere seduti, intromissione nelle attività altrui e incapacità di aspettare.

**Il Disturbo Specifico dell'Apprendimento** viene diagnosticato quando sono presenti deficit specifici dell'abilità di un individuo di percepire o elaborare informazioni in maniera efficiente ed accurata. Questo disturbo del neurosviluppo si manifesta la prima volta durante gli anni della formazione scolastica ed è caratterizzato da persistenti e progressive difficoltà nell'apprendere le abilità scolastiche di base nell'ambito della lettura, della scrittura e/o del calcolo. La prestazione dell'individuo nelle abilità scolastiche è di gran lunga al di sotto della media per l'età. In tutti gli individui il disturbo specifico dell'apprendimento è in grado di dare luogo a compromissioni permanenti di quelle attività che dipendono dalle abilità coinvolte, comprese le prestazioni lavorative.

**I Disturbi del Movimento** comprendono il disturbo dello sviluppo della coordinazione, il disturbo da movimento stereotipato e i disturbi da tic. Il disturbo dello sviluppo della coordinazione è caratterizzato da deficit dell'acquisizione e dell'esecuzione delle abilità motorie coordinate e si manifesta con goffaggine e lentezza o imprecisione nello svolgimento delle abilità motorie che interferiscono con le attività della vita quotidiana. Il disturbo da movimento stereotipato viene diagnosticato quando un individuo presenta comportamenti motori ripetitivi, apparentemente intenzionali e apparentemente afinalistici, come scuotere le mani, dondolarsi, battersi la testa, morsiarsi o colpirsi. I disturbi da tic sono caratterizzati dalla presenza di tic motori o vocali, che sono movimenti stereotipati o vocalizzazioni improvvisate, rapidi e non ritmici.

Gli **Altri DNS** presentano i sintomi caratteristici di un disturbo del neurosviluppo, che causano disagio clinicamente significativo o compromissione del funzionamento in ambito sociale, lavorativo o in altre aree importanti, predominano ma non soddisfano pienamente i criteri per uno qualsiasi dei

disturbi della classe diagnostica dei disturbi del neurosviluppo.

I **DNS senza specificazione** presentano i sintomi caratteristici di un disturbo del neurosviluppo, che causano disagio clinicamente significativo o compromissione del funzionamento in ambito sociale, lavorativo o in altre aree importanti, predominano ma non soddisfano pienamente i criteri per uno qualsiasi dei disturbi del neurosviluppo. La categoria disturbo del neurosviluppo senza specificazione è utilizzata nelle situazioni in cui il clinico sceglie di non specificare la ragione per cui i criteri per uno specifico disturbo del neurosviluppo non vengono soddisfatti e comprende le manifestazioni in cui ci sono informazioni insufficienti per porre una diagnosi più specifica.

È importante avere dei dati epidemiologici quando si affronta l'argomento DNS. La Società Italiana per i Disturbi del Neurosviluppo (SIDIN) ha recentemente (2) diffuso una revisione dei dati epidemiologici dei principali DNS. Complessivamente, nell'età compresa tra 0 e 17 anni, lo 0,5% della suddetta popolazione necessita di supporti massicci e continuativi per tutto l'arco della vita, in particolare nell'ambito delle autonomie e della comunicazione. Circa l'1% presenta Disturbo dello Spettro dell'Autismo e l'1,8% Disabilità Intellettiva. I Disturbi Specifici di Linguaggio riguarderebbero circa il 5% della popolazione tra i 2 e i 6 anni. I Disturbi Specifici dell'Apprendimento colpirebbe circa il 3,5% della popolazione sopra i 7 anni. Il Disturbo da Deficit dell'Attenzione/Iperattività riguarderebbe circa il 2% della popolazione tra i 6 e i 17 anni.

Questi dati di prevalenza sono di molto più frequenti di quelli di una Malattia Rara che, per definizione, deve essere inferiore a 1:2000 (0,05%) nati vivi. Il proposito di questo capitolo sarà quello di condurre il lettore ad una strategia razionale per identificare la Sindrome Genetica Rara con Disturbo del Neurosviluppo (SGR/DNS).

---

## L'iter diagnostico verso le Sindromi Genetiche Rare con Disturbi del Neurosviluppo

**P**er comprendere rapidamente e in maniera pratica il rapporto tra le SGR/DNS ed il totale dei DNS basta pensare alla proporzione che c'è fra la parte emersa di un iceberg (cioè la cosiddetta punta dell'iceberg) e la parte sommersa dell'iceberg. Seguendo questo esempio, sarà facile per tutti comprendere come la ricerca della diagnosi di una SGR/DNS è la ricerca di un sottoinsieme del totale. L'introduzione serviva a definire cosa si intende per DNS. In questa sezione si cercherà di addentrarsi nel percorso più razionale possibile per individuare SGR/DNS conosciute o per sospettarne delle nuove, cioè non conosciute.

Il primo passo da fare è quello dell'anamnesi familiare e personale.

L'anamnesi familiare o l'albero genealogico con almeno tre generazioni può aiutare a sospettare una SGR/DNS quando nella famiglia è presente un altro paziente affetto da una SGR/DNS nota, che abbia una collocazione nell'albero genealogico compatibile con una trasmissione mendeliana conosciuta. È il caso della mamma di un bambino che presenti una sorella che abbia generato un figlio con sindrome da X fragile. L'eredità X-linked recessiva è in questo caso possibile e la sindrome dell'X fragile sarà la prima da sospettare nel bambino del caso in questione. Se, invece, quella mamma avesse un fratello che ha generato un figlio con sindrome dell'X fragile, questa informazione non ci aiuterebbe perché non sarebbe compatibile con una trasmissione X-linked che riguardasse il bambino.

L'anamnesi personale o la storia naturale del bambino o bambina che stiamo valutando ci può aiutare. Per esempio, se la bambina che stiamo valutando era normale alla nascita, ha avuto uno sviluppo psicomotorio normale fino ai primi 6 mesi di vita, poi inizia a regredire, a ridurre la velocità di accrescimento della sua circonferenza cranica, che passa progressivamente dal 50° centile al 25°, al 10° fino a diventare microcefalica, dobbiamo cominciare a pensare a qualcosa di specifico. Se, infine, la suddetta storia naturale si associa alla comparsa di stereotipie delle mani come lavarsi le mani o mettersela in bocca, allora il sospetto clinico di sindrome di Rett si sarà fatto sempre più forte, e saremo stati sensibili, perché non avremmo perso una SGR/DNS nota, ma per essere specifici dovremmo fare un altro passo che è quello di effettuare il test genetico di sequenziamento del gene MECP2, che ci documenterà una variante patogenetica associata alla condizione clinica che abbiamo diagnosticato.

Spesso, però, l'anamnesi non è sufficiente ad indirizzarci ed allora cercheremo di utilizzare l'esame obiettivo. Qui dovremo concentrarci su elementi come la gestalt, il fenotipo comportamentale, le malformazioni maggiori e le anomalie morfologiche minori. La gestalt s'impara e si migliora solo con l'esperienza clinica. Essa consiste nell'individuare a primo colpo o a sospettare fortemente le somiglianze fisiche caratteristiche di quella SGR/DNS che abbiamo diagnosticato in altri pazienti. Il fenotipo comportamentale è il complesso del comportamento dei pazienti con una specifica SGR/DNS. Esempio classico è la sindrome di Williams, nella quale il paziente ha un comportamento definito, in inglese, da cocktail party. Sono, cioè, persone che si inseriscono amabilmente nella conversazione di gruppi di persone a loro sconosciute, alle quali danno l'impressione di essere salottieri, conversanti e, magari, poco disabili. Le malformazioni maggiori possono essere parte del quadro clinico della specifica SGR/DNS che dobbiamo essere capaci di individuare. Lo stesso concetto vale se, al posto o in aggiunta a malforma-

zioni maggiori, sono presenti anomalie morfologiche minori che, elencate in numero uguale o superiore a tre, ci permetteranno di sospettare una peculiare SGR/DNS.

A questo punto potremo utilizzare delle specifiche consulenze specialistiche e/o degli esami strumentali che ci permetteranno di confermare il sospetto diagnostico che avevamo o di porne uno nuovo. Concluderemo il percorso con degli esami di laboratorio e, più specificamente dei test genetici. Se siamo pervenuti alla diagnosi clinica di SGR/DNS eseguiremo il test genetico specifico. Altrimenti dovremo passare ad un test genetico aspecifico.

A questo punto si pone lo spartiacque fra l'approccio che abbiamo seguito finora, che è quello "phenotype first", cioè guidato dal fenotipo, e quello definito come "genotype first". Il primo tipo di approccio è stato seguito in maniera esclusiva fino al 2005, quando il cariotipo è stato sostituito come primo test genetico nell'iter diagnostico della Disabilità Intellettiva e, poi e più in generale, dei DNS dall'array CGH. Quest'ultimo esame consiste in una ibridazione genomica comparativa tra il DNA del paziente e quello di un genoma di riferimento. Questo esame permette di riconoscere alterazioni quantitative del genoma che si definiscono sbilanciamenti genomici e corrispondono a delezioni o duplicazioni cromosomiche. La capacità di risoluzione dell'array CGH è solitamente inferiore alle 100 kilobasi (100.000 paia di basi di DNA), mentre il miglior cariotipo non riesce mai ad evidenziare anomalie strutturali che abbiano una dimensione inferiore alle 5 Megabasi (5.000.000 di paia di basi di DNA). Di conseguenza, l'uso dell'array CGH come primo test genetico nei DNS ha permesso l'identificazione di nuove sindromi da microdelezione o microduplicazione, che non potevano essere individuate dall'analisi convenzionali del cariotipo. Inoltre, l'approccio "genotype first" consiste nell'identificare prima il genotipo e, poi, considerare il fenotipo dei pazienti che hanno lo stesso genotipo. In questa maniera sono state individuate SGR/DNS come la delezione 17q21.31(3), la delezione 15q13.3 (4), la delezione 1q21.1 (5), la delezione 2q23.1 (6), per elencare solo le prime SGR/DNS che sono state individuate con questo approccio. Ovviamente, se si utilizza l'array CGH o lo SNP array, si evidenzieranno solo sbilanciamenti genomici, cioè alterazioni quantitative del genoma e non si potranno individuare varianti di sequenza di singoli geni. Se si segue l'approccio "phenotype first" si ricercano variazioni di sequenza di singoli geni o di pochi geni di conosciuta associazione con il suddetto fenotipo. Se si utilizza l'approccio "genotype first" il fenotipo diventa il DNS ed il test genetico diventa il sequenziamento di tutto l'esoma (WES), cioè della parte codificante del genoma, o di tutto il genoma (WGS), cioè sia la parte codificante che quella non codificante.

Seguendo quest'ultimo approccio sono state individuate nuove SGR/DNS legate all'aploinsufficienza di geni. I primi esempi di queste nuove SGR/DNS sono stati la sindrome da aploinsufficienza del gene *ADNP* (7), quella da aploinsufficienza di *CHD8* (8) e quella da aploinsufficienza di *DYRK1A* (9). In ognuna di queste tre sindromi, il percorso che ha consentito il riconoscimento e l'individuazione delle stesse è stato sovrapponibile. Un numero considerevole di pazienti con DNS, spesso decine di migliaia di pazienti, sono stati paragonati ad un campione di controllo, sempre costituito da migliaia o decine di migliaia di individui. Nei due campioni si confrontava la presenza e la prevalenza di varianti patogenetiche di un determinato gene selezionato dopo un approccio esomico (WES) o genomico (WGS). La presenza in maniera esclusiva o statisticamente significativa nei pazienti rispetto ai controlli di varianti patogenetiche del suddetto gene faceva concludere che quel gene aveva un effetto causativo su quel fenotipo DNS. Nei tre lavori originali il numero dei pazienti individuati era limitato a una decina, proprio per la rarità della SGR/DNS in causa. Quella decina di pazienti permetteva di apprendere il fenotipo associato a quella SGR/DNS nell'attesa di ulteriori pazienti, che avrebbero potuto ampliare o restringere lo spettro fenotipico. In quei lavori veniva anche utilizzato il modello animale per dimostrare che il fenotipo da aploinsufficienza del gene riscontrato nell'animale era sovrapponibile a quello evidenziato nell'essere umano.

Se, oggi, si dovesse ragionare in termini ideali, si dovrebbe dire che il miglior approccio di test genetico nell'individuazione di nuove SGR/DNS è quindi quello di eseguire in ogni paziente con DNS un WGS. Questo ci permetterà in ogni caso di avere sempre a disposizione quel materiale che ci permetterà di riscontrare varianti patogenetiche codificanti o non codificanti in geni che successivamente potremo associare al fenotipo di pazienti con DNS. Ovviamente, le limitazioni sono economiche e di personale e questo approccio ideale è attualmente possibile solo in alcuni Centri nel mondo. Tuttavia, giorno dopo giorno, i costi scenderanno e la disponibilità di personale formato e competente aumenterà.

---

## Le prospettive terapeutiche

**D**opo avere dedicato gran parte del capitolo all'approccio diagnostico, è opportuno concludere con la terapia. Oggi, in queste SGR/DNS le prospettive terapeutiche sono basate sul cosiddetto genome editing (10), che si effettua con la tecnica del CRISPR/CAS9 (11). Queste tecnologie permettono già di sostituire la singola variante patogenetica con quella presente nella popolazione generale di controllo. Bisogna tuttavia essere molto

cauti, poiché i risultati ottenuti in alcune genodermatosi come l'epidermolisi bollosa (12) saranno resi molto più difficili dalle caratteristiche del sistema nervoso centrale. Se le prospettive future sono in questa direzione, il presente è fatto di conoscenza del fenotipo delle singole SGR/DNS, di terapie abilitative mediche e psicologiche e di competenza clinica.

***Conflitti di interesse.** L'autore Corrado Romano dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*

***Studi condotti su esseri umani e animali.** Per questo tipo di studio non è richiesto l'inserimento di alcuna dichiarazione relativa agli studi effettuati su esseri umani e animali.*

## **Bibliografia**

American Psychiatric Association. “Manuale Diagnostico e Statistico dei Disturbi Mentali”, Quinta Edizione, DSM-5, Raffaello Cortina Editore, 2014.

Antonella Costantino (2017). Epidemiologia dei Disturbi del Neurosviluppo in Età Evolutiva. Congresso SIDIN, 19-21 Aprile 2017, Parma.

Koolen DA, Vissers LE, Pfundt R, de Leeuw N, Knight SJ, Regan R, Kooy RF, Reyniers E, Romano C, Fichera M, Schinzel A, Baumer A, Anderlid BM, Schoumans J, Knoers NV, van Kessel AG, Sistermans EA, Veltman JA, Brunner HG, de Vries BB. A new chromosome 17q21.31 microdeletion syndrome associated with a common inversion polymorphism. *Nat Genet.* 2006 Sep; 38 (9):999-1001.

Sharp AJ, Mefford HC, Li K, Baker C, Skinner C, Stevenson RE, Schroer RJ, Novara F, De Gregori M, Ciccone R, Broomer A, Casuga I, Wang Y, Xiao C, Barbacioru C, Gimelli G, Bernardina BD, Torniero C, Giorda R, Regan R, Murday V, Mansour S, Fichera M, Castiglia L, Failla P, Ventura M, Jiang Z, Cooper GM, Knight SJ, Romano C, Zuffardi O, Chen C, Schwartz CE, Eichler EE. A recurrent 15q13.3 microdeletion syndrome associated with mental retardation and seizures. *Nat Genet.* 2008 Mar; 40 (3):322-8.

Mefford HC, Sharp AJ, Baker C, Itsara A, Jiang Z, Buysse K, Huang S, Maloney VK, Crolla JA, Baralle D, Collins A, Mercer C, Norga K, de Ravel T, Devriendt K, Bongers EM, de Leeuw N, Reardon W, Gimelli S, Bena F, Hennekam RC, Male A, Gaunt L, Clayton-Smith J, Simonic I, Park SM, Mehta SG, Nik-Zainal S, Woods CG, Firth HV, Parkin G, Fichera M, Reitano S, Lo Giudice M, Li KE, Casuga I, Broomer A, Conrad B, Schwerzmann M, Räber L, Gallati S, Striano P, Coppola A, Tolmie JL, Tobias ES, Lilley C, Armengol L, Spyschaert Y, Verloo P, De Coene A, Goossens L, Mortier G, Speleman F, van Binsbergen E, Nelen MR, Hochstenbach R, Poot M, Gallagher L, Gill M, McClellan J, King MC, Regan R, Skinner C, Stevenson RE, Antonarakis SE, Chen C, Estivill X, Menten B, Gimelli G, Gribble S, Schwartz S, Sutcliffe JS, Walsh T, Knight SJ, Sebat J, Romano C, Schwartz CE, Veltman JA, de Vries BB, Vermeesch JR, Barber JC, Willatt L, Tassabehji M, Eichler EE. Recurrent rearrangements of chromosome 1q21.1 and variable pediatric phenotypes. *N Engl J Med.* 2008 Oct 16; 359(16):1685-99.

van Bon BW, Koolen DA, Brueton L, McMullan D, Lichtenbelt KD, Adès LC, Peters G, Gibson K, Moloney S, Novara F, Pramparo T, Dalla Bernardina B, Zoccante L, Balottin U, Piazza F, Pecile V, Gasparini P, Guerci V, Kets M, Pfundt R, de Brouwer AP, Veltman JA, de Leeuw N, Wilson M, Antony J, Reitano S, Luciano D, Fichera M, Romano C, Brunner HG, Zuffardi O, de Vries BB. The 2q23.1 microdeletion syndrome: clinical and behavioural phenotype. *Eur J Hum Genet.* 2010 Feb; 18 (2):163-70.

Helsmoortel C, Vulto-van Silfhout AT, Coe BP, Vandeweyer G, Rooms L, van den Ende J, Schuurs-Hoeijmakers JH, Marcelis CL, Willemsen MH, Vissers LE, Yntema HG, Bakshi M, Wilson M, Witherspoon KT, Malmgren H, Nordgren A, Annerén G, Fichera M, Bosco P, Romano C, de Vries BB, Kleefstra T, Kooy RF, Eichler EE, Van der Aa N. A SWI/SNF-related autism syndrome caused by de novo mutations in ADNP. *Nat Genet.* 2014 Apr; 46 (4):380-4.

Bernier R, Golzio C, Xiong B, Stessman HA, Coe BP, Penn O, Witherspoon K, Gerdts J, Baker C, Vulto-van Silfhout AT, Schuurs-Hoeijmakers JH, Fichera M, Bosco P, Buono S, Alberti A, Failla P, Peeters H, Steyaert J, Vissers LELM, Francescato L, Mefford HC, Rosenfeld JA, Bakken T, O'Roak BJ, Pawlus M, Moon R, Shendure J, Amaral DG, Lein E, Rankin J, Romano C, de Vries BBA, Katsanis N, Eichler EE. Disruptive CHD8 mutations define a subtype of autism early in development. *Cell.* 2014 Jul 17; 158 (2):263-276.

van Bon BW, Coe BP, Bernier R, Green C, Gerdts J, Witherspoon K, Kleefstra T, Willemsen MH, Kumar R, Bosco P, Fichera M, Li D, Amaral D, Cristofoli F, Peeters H, Haan E, Romano C, Mefford HC, Scheffer I, Gecz J, de Vries BB, Eichler EE. Disruptive de novo mutations of DYRK1A lead to a syndromic form of autism and ID. *Mol Psychiatry.* 2016 Jan; 21 (1):126-32.

Urnov FD. Ctrl-Alt-inDel: genome editing to reprogram a cell in the clinic. *Curr Opin Genet Dev.* 2018 Jun 4; 52:48-56.

Maeder ML, Gersbach CA. Genome-editing Technologies for Gene and Cell Therapy. *Mol Ther.* 2016 Mar; 24 (3):430-46.

Hirsch T, Rothoef T, Teig N, Bauer JW, Pellegrini G, De Rosa L, Scaglione D, Reichelt J, Klausegger A, Kneisz D, Romano O, Secone Seconetti A, Contin R, Enzo E, Jurman I, Carulli S, Jacobsen F, Luecke T, Lehnhardt M, Fischer M, Kueckelhaus M, Quaglino D, Morgante M, Bicciato S, Bondanza S, De Luca M. Regeneration of the entire human epidermis using transgenic stem cells. *Nature.* 2017 Nov 16; 551 (7680) : 327-332.



## SINDROMI NEUROCUTANEE

Maria Chiara Battaglini, Maria Teresa Garozzo, Selene Mategna, Martino Ruggieri

**I**l termine “sindromi neurocutanee” indica un ampio spettro di disordini congeniti (circa 50) che presentano differente quadro genetico, clinico e patologico, ma condividono la presenza di lesioni dello sviluppo della cute e del sistema nervoso centrale (SNC) e periferico (SNP).

Le lesioni cutanee possono essere differenti in forma, dimensioni e numero; quelle ipopigmentarie, le iperpigmentarie e le lesioni vascolari rosse sono le più comuni. Molte sindromi neurocutanee si manifestano con aree di iper accrescimento, generalmente progressive. Le manifestazioni cliniche possono essere presenti alla nascita o svilupparsi successivamente. Il tessuto sottocutaneo è spesso interessato.

Da un punto di vista patogenetico le sindromi neurocutanee sembrano secondarie ad un’anomalia nella formazione, migrazione o differenziazione delle cellule della cresta neurale.

In molte di queste condizioni vi è la tendenza a sviluppare tumori di natura benigna o talvolta maligna. Da ciò consegue la necessità di un adeguato counseling genetico e di un attento follow-up nel probando e nei familiari.

---

### Introduzione

**C**on in termine di malattie neurocutanee si intende un gruppo eterogeneo di affezioni congenite, ereditarie e non, nel quale è presente un’associazione non casuale di anomalie cutanee e del sistema nervoso. In realtà lo spettro delle anomalie è più ampio, poiché spesso sono interessati svariati altri organi ed apparati differenti, anche embriologicamente, dalla cute e dal sistema nervoso (1,2).

Originariamente descritte da Vakovlev e Guthrie negli anni 30 con il termine di *ectodermatosi congenite* e nel 1923 da Van der Hoeve come *facomatosi*, le *sindromi neurocutanee* comprendono svariata malattie congenite caratterizzate dalla presenza di noduli ed eruzioni cutanee di vario tipo, associate o meno a convulsioni o segni neurologici (3).

Attualmente si preferisce raggruppare le *sindromi neurocutanee* sulla base del meccanismo patogenetico coinvolto. A questo proposito, le *sindromi neurocutanee* legate ad un’alterazione del complesso enzimatico RAS vengono indicate con il termine di *RASopatie*; la neurofibromatosi, la sindrome di Noonan, la sindrome di Costello e la sindrome cardio-facio-cutanea fanno parte di questo gruppo. Le *mTORpatie* sono invece le *sindromi neurocutanee* caratterizzate patogeneticamente da un’alterazione delle proteine del complesso mTOR; tra queste figurano la sclerosi tuberosa, la stessa neurofibromatosi,

la sindrome di Proteus, le sindromi da gene PTEN e la malattia di Lhermitte-Duclos (4).

## Neurofibromatosi

Con il termine neurofibromatosi (NF) si indica un gruppo di sindromi neurocutanee caratterizzate dalla combinazione variabile di macchie caffè latte e tumori del sistema nervoso centrale (SNC) e/o del sistema nervoso periferico.

La NF viene classificata, secondo i criteri del National Institute of Health (NIH) del 1987 in tipo 1 e tipo 2. Entità nosologiche distinte sono la NF1 e la NF2 segmentali e la Schwannomatosi (5).

### Neurofibromatosi tipo 1

La neurofibromatosi tipo 1 (NF1) è la forma più comune di neurofibromatosi; l'incidenza stimata è di 1/2.500 nati e la prevalenza di 1/4.000 (6).

La NF1 è una malattia a trasmissione autosomica dominante a penetranza età dipendente e variabile. La proporzione di persone con la mutazione che manifesta la malattia infatti cresce rapidamente con l'età; la variabilità è legata invece a diversi fattori tra cui il tipo di mutazione, fattori ambientali e l'eventuale presenza di mosaicismi (effetto anticipazione). Il 50% dei casi di NF1 è comunque sporadico. Il gene NF1 è localizzato nel braccio lungo del cromosoma 17 (17q11.2), ha ampie dimensioni (350 kb) e codifica per una proteina, la neurofibromina, che svolge una regolazione negativa sulla crescita cellulare (oncosoppressore), mediata dall'attivazione di ras (7).

La diagnosi di NF1 viene posta sulla base dell'esame clinico e dei dati anamnestici. La diagnosi molecolare conferma il sospetto clinico.

Secondo quanto stabilito dall'NIH nel 1987, la diagnosi di NF1 viene effettuata quando almeno due dei seguenti criteri sono presenti:

- almeno sei macchie caffè latte (di dimensioni > 5 mm in età prepuberale e >15 mm in età post-puberale)
- due o più neurofibromi o un neurofibroma plessiforme
- lentiginosi ascellare o inguinale
- glioma delle vie ottiche
- due o più noduli di Lish
- una lesione ossea tipica (displasia dello sfenoide, displasia o assottigliamento della corticale delle ossa lunghe, pseudoartrosi)
- parenti di primo grado (genitori, fratelli o figli) con NF1 diagnosticata secondo i criteri sopraelencati (8).

Recentemente è stato proposto l'inserimento delle alterazioni dello strato corneo della retina, visualizzate tramite tecnica confocale a infrarossi, tra i criteri diagnostici di NF1. L'identificazione di tali lesioni consentirebbe una diagnosi precoce di malattia (9).

Tra le manifestazioni cliniche maggiori di NF1, **le macchie caffè latte** sono lesioni maculari, piatte, a margini netti. Generalmente sono presenti alla nascita o compaiono entro il 1°-2° anno di vita, aumentano in numero fino al 5°-6° anno di età e tendono a depigmentarsi dopo i 20-30 anni. L'impiego della lampada di Wood è utile nel dirimere dubbi diagnostici sulla natura delle lesioni cutanee iperpigmentarie (**Fig. 1**) (8). La **lentiginosi ascellare o inguinale** (o freckling) consiste in lesioni simili alle macchie caffè latte ma di dimensioni notevolmente inferiori. Tali lesioni compaiono generalmente intorno ai 6-7 anni di età e aumentano in numero fino alla pubertà (**Fig. 1**). I **neurofibromi** possono essere cutanei o sottocutanei. I primi sono noduli leggermente rilevati, talvolta pedunculati, di consistenza molle, generalmente asintomatici o paucisintomatici (prurito o sintomatologia da sfregamento); compaiono solitamente dopo la pubertà. I neurofibromi sottocutanei, invece, appaiono come noduli duro-elastici a partenza dai tronchi nervosi periferici o dalle radici nervose; sono generalmente sintomatici (dolore alla pressione, deficit sensitivi o motori) (**Fig. 1**) (2).

Il **glioma del nervo ottico** determina una tortuosità del nervo ottico visibile alla RMN dell'encefalo. Generalmente asintomatico ed a crescita lenta, può manifestarsi con pubertà precoce o proptosi, o con sintomi oculari (alterazione del campo visivo, deficit dell'acuità visiva, disturbo della percezione di colori, strabismo). I **noduli di Lish** sono dei noduli di colore giallo-marrone dell'iride, visibili alla lampada a fessura a partire dalla pubertà (**Fig. 1**) (2). Le **manifestazioni minori** di NF1, presenti nel 30-40% dei casi, sono: macrocrania, ipostaturalismo, ipertelorismo, malformazioni toraciche e xantogramulomi cutanei (2).



**Fig. 1.** Manifestazioni cutanee ed oculari di NF1. Da sinistra verso destra, 1) lentiginosi ascellare+ macchia caffè latte; 2) neurofibromi cutanei; 3) noduli di Lish.

Da un punto di vista cognitivo, il bambino con NF1 generalmente ha un QI normale o lievemente inferiore al 50° percentile, non inquadrabile come ritardo mentale; il rendimento scolastico può tuttavia essere inferiore ai coetanei, per compromissione della lettura e della compitazione. In buona parte dei bambini affetti da NF1 viene osservata inoltre una difficoltà nella coordinazione motoria fine e grossolana (2,8).

La frequenza di neoplasie nella NF1 è superiore a quella della popolazione generale: tumori del SNC, neurofibrosarcoma, feocromocitoma e leucemia mielomonocitica giovanile sono i tumori che più frequentemente si associano alla NF1 (8).

### Diagnosi differenziale

- **Neurofibromatosi tipo 2.** Vedi trattazione specifica.
- **Sindrome da lentiggini multipli.** Ha in comune con la NF1 la presenza di lentiggini diffuse, mancano le macchie caffè latte e sono presenti altri segni clinici caratteristici (anomalie ECG, ipertelorismo oculare, anomalie dei genitali, sordità e stenosi della polmonare).
- **Sindrome di McCune Albright.** Ha in comune con la NF1 la presenza di macchie caffè latte che differiscono nella forma (più grandi e irregolari); a queste si associano displasie ossee multiple e pubertà precoce.
- **Sindromi da cromosomi ad anello.**
- **Constitutional mismatch repair deficiency (CMMD).** La CMMD può manifestarsi con segni tipici della NF1, quali macchie caffè latte multiple (in numero superiore a 2), aree di iperpigmentazione della cute, *freckling*, neurofibromi cutanei e/o plessiformi, glioma del nervo ottico e/o pseudoartrosi della tibia. Nella CMMD, diversamente dalla NF1, le macchie sono generalmente in numero inferiore a 6, hanno una forma peculiare e si possono alternare ad aree di ipopigmentazione cutanea; la distribuzione segmentale delle lesioni è comune. La diagnosi differenziale tra le due patologie deve essere tempestiva poiché implica un differente follow up: la CMMD si associa infatti ad un elevato rischio di patologie neoplastiche, prevalentemente tumori dell'intestino (adenomi o carcinomi) e tumori del SNC. L'analisi dell'instabilità dei microsatelliti e l'identificazione della mutazione germinale biallelica in uno dei quattro geni MMR (MSH1, MSH2, MSH6 o PMS2) sono diagnostici per CMMD (10).
- **Sindrome di Legius:** La sindrome di Legius si presenta clinicamente con macchie caffè latte simili a quelle della NF1, associate a lentiggini ascellare ed inguinale e, talvolta, a macrocefalia e lipomi. Nella sindrome, a differenza della NF1, mancano i neurofibromi e/o altre neoplasie del

SNC. L'identificazione di una alterazione del gene SPRED1 è diagnostica per sindrome di Legius (2).

## Trattamento

L'approccio al paziente con NF1 è multidisciplinare e coinvolge diversi specialisti: l'ortopedico (da consultare in caso di pseudoartrosi, scoliosi), il chirurgo plastico (in caso di neurofibroma cutaneo), il neurochirurgo (in caso di neurofibroma plessiforme), l'oncologo (in caso di glioma del nervo ottico e/o altri tumori), lo psicologo e/o il neuropsichiatra infantile (per il fenotipo comportamentale).

Attualmente sono stati avviati diversi trials clinici sul trattamento dei tumori nella NF1, che spesso sono eterogenei e complessi. Tra gli studi citati: l'impiego del **sorafenib** per il trattamento del neurofibroma plessiforme, il **bevacizumab** e l'**everolimus** nei tumori maligni dei nervi periferici, l'**everolimus** nel glioma del nervo ottico e gli **inibitori MEK** per i bambini con neurofibroma plessiforme inoperabile e nei pazienti con tumori attivati da ras, raf o MEK, inclusi quelli con mutazioni del gene NF1. I risultati preliminari sono promettenti (11).

## Neurofibromatosi tipo 2

La neurofibromatosi tipo 2 (NF2) è una malattia neurogenetica caratterizzata dalla presenza di schwannomi, meningiomi, ependimomi ed anomalie oculari. L'incidenza annua è di 1 su 24.844 nati, con prevalenza di 1,14 su 100.000 persone secondo uno studio britannico (12); altri autori stimano invece che l'incidenza di NF2 sia di 1 su 87.410 nati (13). La variabilità all'interno dei nuclei familiari è minore rispetto alla NF1.

Si tratta di una patologia a trasmissione autosomica dominante, causata da mutazioni del gene NF2, localizzato sul cromosoma 22q, il cui prodotto è la schwannomina o merlina, una proteina ad azione oncosoppressiva.

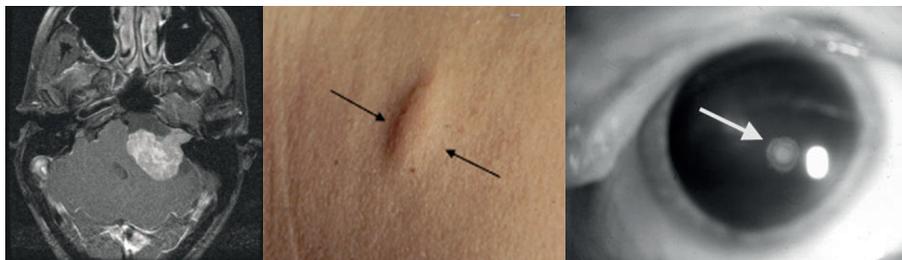
Tra le manifestazioni cliniche, gli schwannomi del nervo vestibolare (tumori benigni delle cellule di Schwann) sono presenti nell'85% dei casi; possono essere uni-bilaterali e si manifestano, quando sintomatici, con tinnito o segni di compressione e/o dislocamento di strutture cerebrali (**Fig. 2**).

Gli schwannomi a carico del sistema nervoso periferico e dei nervi cranici possono svilupparsi in qualsiasi nervo cranico; quelli a carico del V, VII e XII nervo cranico sono i più comuni.

I tumori del SNC descritti nella NF2 sono, in ordine di frequenza, meningiomi (cerebrali o spinali), astrocitomi ed ependimomi. Le anomalie oculari

descritte sono la cataratta (81% dei casi) e gli amartomi retinici (8,6%) (**Fig. 2**). Le lesioni cutanee tipiche di NF2 sono rappresentate da macchie caffè latte e da placche NF2. Le prime sono clinicamente distinguibili dalle macchie della NF1 per forma (più estesa ed irregolare) e per numero (raramente >6); le placche NF2 (shwannomi cutanei) invece sono visivamente simili ai neurofibromi della NF1, anche se in numero inferiore (**Fig. 2**) (14).

In età pediatrica la NF2 ha un quadro clinicamente differente e più aggressivo rispetto all'adulto. Nel bambino, infatti, raramente mancano le macchie caffè latte ed i neurofibromi sono numerosi; i tumori del sistema nervoso centrale compaiono prima degli schwannomi vestibolari. Per le ragioni sopracitate, la diagnosi differenziale tra NF1 ed NF2 in età pediatrica può essere difficoltosa (2).



**Fig. 2.** Neurofibromatosi di tipo 2. 1) Schwannoma del nervo vestibolare; 2) schwannoma cutaneo; 3) cataratta.

## Diagnosi differenziale

- **Masse bilaterali dell'angolo cerebello-pontino.** Il glioblastoma multiforme, le metastasi ed il granuloma colesterinico della base della rocca petrosa possono essere confusi con gli schwannomi del nervo vestibolare; l'anamnesi e l'attenta valutazione delle immagini RMN in genere consentono di differenziare le patologie.
- **Schwannoma unilaterale del nervo vestibolare.** Un paziente con schwannoma unilaterale del nervo vestibolare deve essere considerato, fino a prova contraria, affetto da NF2. La probabilità che si tratti di NF2 è inversamente proporzionale all'età d'insorgenza del tumore.
- **Meningiomi multipli.** La presenza di meningiomi multipli può essere legata, oltre che a NF2, alla metastatizzazione di un meningioma singolo o ad una meningiomatosi multipla familiare. La presenza di uno/due schwannomi del nervo acustico è diagnostica di NF2.

### Neurofibromatosi tipo 1 a mosaico (segmentale)

I soggetti con tale forma presentano uno o più segni della NF1 circoscritti a una o più regioni del corpo: 1) solo anomalie pigmentarie (macchie caffè latte grandi e piccole); 2) solo neurofibromi (cutanei e/o nodulari); 3) associazione di anomalie pigmentarie e neurofibromi; 4) neurofibromi plessiformi isolati (15).

### Neurofibromatosi tipo 2 a mosaico (segmentale)

Come per la NF1, tale forma si caratterizza per la presenza di manifestazioni di NF2 circoscritte a un emi lato o ad una regione del corpo: 1) schwannomi vestibolari + meningiomi e/o altri tumori del sistema nervoso; 2) l'associazione dei tumori indicati nel punto 1 con schwannomi periferici (15).

### Schwannomatosi

Si manifesta con schwannomi dei nervi periferici e/o delle radici gangliari, confermati istologicamente, in assenza di tumori del nervo vestibolare o di altri segni diagnostici di NF2. La malattia deriva da una doppia mutazione su entrambi gli alleli del gene NF2 (mutazione somatica) e del gene SMARCB1 (mutazione germinale) (2).

---

### Sclerosi tuberosa

**L**a sclerosi tuberosa, in passato definita come Malattia di Bourneville, viene oggi indicata con il termine di Complesso Sclerosi Tuberosa (TSC, dall'inglese Tuberous Sclerosis Complex), che enfatizza il coinvolgimento multisistemico e l'espressività variabile della patologia.

Si tratta della seconda sindrome neurocutanea per frequenza; la sua incidenza è di 1:5800 nati e la prevalenza di 1:12.900-30.000 individui nella popolazione generale e di 1:6800 nella popolazione di bambini compresa tra gli 11 e i 15 anni.

La sindrome è causata da mutazioni di due geni, definiti TSC: TSC1, localizzato sul cromosoma 9, e TSC2, sul cromosoma 16; tali geni codificano per due proteine, rispettivamente *amartina* e *tuberina*, implicate nella modulazione dell'accrescimento e moltiplicazione cellulare (complesso mTOR). In un terzo dei casi la mutazione viene ereditata con modalità autosomica dominante, nei restanti casi si verifica de novo. Le mutazioni del gene TSC2 generalmente si associano ad un fenotipo più grave (16).

Le manifestazioni cliniche di TSC sono di seguito elencate per apparati:

- **cute:** macchie ipomelanotiche, placche fibrotiche al volto, angiofibromi facciali, macchie cutanee zigrinate del dorso e fibromi delle unghie delle mani e dei piedi (**Fig. 3**);
- **cuore:** rabdomiomi cardiaci, aneurismi arteriosi;
- **sistema nervoso:** tuber corticali, noduli subependimali, displasie della sostanza bianca cerebrale, cisti cerebrali, astrocitoma subependimale a cellule giganti;
- **rene:** angiomiolipomi renali, cisti renali;
- **occhio:** amartomi retinici;
- **denti:** anomalie dello smalto dentario;
- **polmoni:** linfangioleiomiomatosi polmonare.



**Fig. 3.** Manifestazioni cutanee di TSC: da sinistra verso destra in alto, 1) macchia ipomelanotica; 2) placca fibrotica del volto; da sinistra verso destra in basso 3) angiofibroma facciale; 4) macchia zigrinata del dorso.

I criteri diagnostici attualmente utilizzati sono quelli elaborati da Gomez MR et al., nel 1999 (16). Nonostante l'elevato numero di manifestazioni cliniche elencate tra i criteri diagnostici, la diagnosi di TSC può essere difficoltosa nei primi anni di vita; le manifestazioni cliniche sono infatti età dipendenti.

La storia naturale della TSC è caratterizzata dalla comparsa precoce di rabdomiomi cardiaci, diagnosticati in epoca prenatale o in epoca neonatale; questi sono generalmente asintomatici. Nel 30% dei casi alla nascita possono essere presenti le macchie ipomelanotiche. L'epilessia rappresenta una delle manifestazioni precoci di TSC; si tratta di crisi parziali o spasmi infantili, spesso farmacoresistenti.

Lo studio RM dell'encefalo rappresenta l'esame più importante ai fini diagnostici in quanto i tuber corticali e/o i noduli subependimali sono sempre presenti nei soggetti con TSC, anche in assenza di altre lesioni. I tuber corticali sono infatti displasie a carico della sostanza grigia corticale e sottocorticale e possono rappresentare focolai epilettogeni; la loro identificazione allo studio RMN può essere difficoltosa nel primo anno di vita (a causa dell'incompleta mielinizzazione della sostanza bianca). I noduli subependimali sono noduli delle pareti dei ventricoli cerebrali che si sviluppano tipicamente durante la vita fetale; sono asintomatici a meno che ostacolano il deflusso del liquor cefalorachidiano.

Nella TSC, gli angiofibromi facciali vanno messi in diagnosi differenziale con l'acne vulgaris, le macchie ipomelanotiche con la vitiligo o con depigmentazioni cutanee isolate (non TSC). La presenza di cisti renali pone il dubbio diagnostico con sindrome del rene policistico.

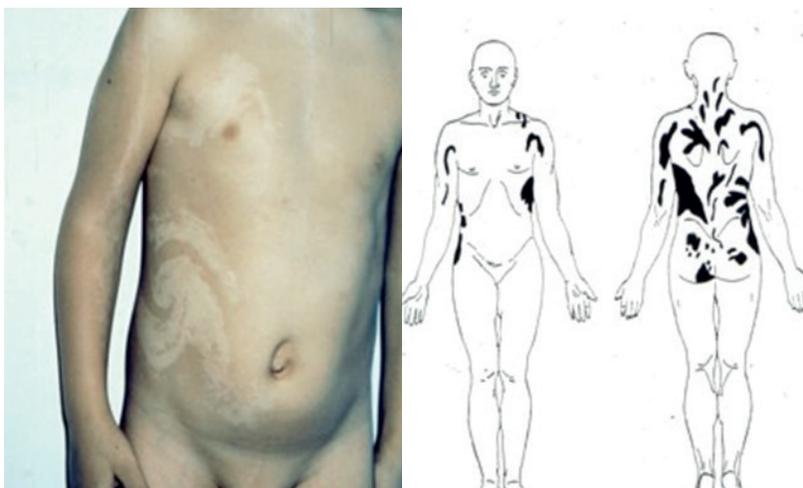
L'impiego dell'everolimus nel trattamento della TSC ha modificato notevolmente il decorso e la mortalità legati alla patologia (17).

---

## Ipomelanosi di Ito

**I**l termine Ipomelanosi di Ito è stato originariamente coniato per indicare i soggetti con ipopigmentazione cutanea disposta lungo le linee di Blaschko (ipotetiche linee di migrazione di cellule embrionarie della cute). L'osservazione successiva di un'associazione di tali anomalie cutanee con anomalie neurologiche e del sistema muscolo-scheletrico ha fatto inquadrare la patologia tra le sindromi neurocutanee.

Le lesioni cutanee maggiori sono delle macchie ipopigmentate, uni o bilaterali, con disposizione "a spirale" o "a vortice" sul tronco e a forma di "V" o "a fontana" sulla schiena e sul volto; queste generalmente si interrompono lungo la linea mediana anteriore e posteriore. Nella metà dei casi sono presenti alla nascita, nell'80% dei casi compaiono entro il primo anno di vita (**Fig. 4**). Manifestazioni cutanee minori sono le macchie caffè latte, la cutis marmorata, il nevo angiomatico, il nevo di Ota, l'ittiosi e la morphea. Tra le manifestazioni minori anche le anomalie dentarie, quelle del capello e quelle ungueali e delle ghiandole sudoripare.



**Fig. 4.** *Manifestazioni cutanee di Ipomelanosi di Ito: la figura sulla sinistra mostra le manifestazioni cutanee ipopigmentarie tipiche di ipomelanosi di Ito. La figura sulla destra mostra la disposizione delle linee di Blaschko.*

Le manifestazioni ossee descritte sono macrocrania, *pectus escavatum* o *carinatum*, scoliosi, ginocchio valgo, piede valgo e varo, asimmetria del volto, brachidattilia, polidattilia, sindattilia, dismetria degli arti inferiori e dislocazione congenita dell'anca.

Le anomalie neurologiche possibili sono: ritardo psicomotorio, ritardo del linguaggio, ritardo mentale, epilessia, alterazione del comportamento ed epilessia. Le anomalie neuroradiologiche più comunemente descritte sono le lesioni della sostanza bianca periventricolare dei trigoni posteriori e/o le lesioni sottocorticali diffusi. La diagnosi di Ipomelanosi di Ito è principalmente clinica; si tratta di una forma sporadica il cui rischio di ricorrenza è basso (18).

## Incontinentia pigmenti

**L'**incontinentia pigmenti è una rara displasia ectodermica, causata da una mutazione di tipo X-linked dominante: si manifesta nelle femmine, mentre nei maschi è letale in utero. La patologia causa anomalie congenite, clinicamente variabili, di cute, annessi cutanei, occhio e SNC. Le anomalie muscoloscheletriche sono rare.

I segni cutanei classici si presentano in quattro stadi: 1) fase vescicolare, 2) fase verrucosa, 3) fase di iperpigmentazione, 4) fase di ipopigmentazione.

Le lesioni cutanee compaiono alla nascita o nelle prime due settimane di vita come lesioni vescicolari o bollose eritematose distribuite lungo le linee di Blaschko, sul tronco, sul cuoio capelluto e alle estremità. La seconda fase segue la fase vescicolare e si protrae fino alla VI settimana di vita. Le lesioni iperpigmentarie compaiono alla terza-sesta settimana di vita e generalmente si protraggono fino al 2°-3°anno di vita. In adolescenza si verifica una ipopigmentazione delle lesioni disposte lungo alcune delle aree colpite nelle fasi precedenti, con anidrosi e atrofia follicolare (**Fig. 5**).

Le anomalie oculari descritte sono: strabismo, cataratta, atrofia ottica, proliferazione vascolare retinica, persistenza di residui embriologici e fibrodiploplasia retrolentale.

Le anomalie neurologiche riportate in letteratura sono ritardo di sviluppo psicomotorio, ritardo mentale di grado variabile, convulsioni, diplegia o tetraplegia spastica o flaccida (19).

Il gene dell'incontinentia pigmenti è localizzato sul cromosoma Xq28 e si chiama NEMO (NF-kappaB essential modulator) /IKK gamma (IkappaB kinase-gamma); esso regola l'espressione dell'immunità durante le prime settimane di vita (20).



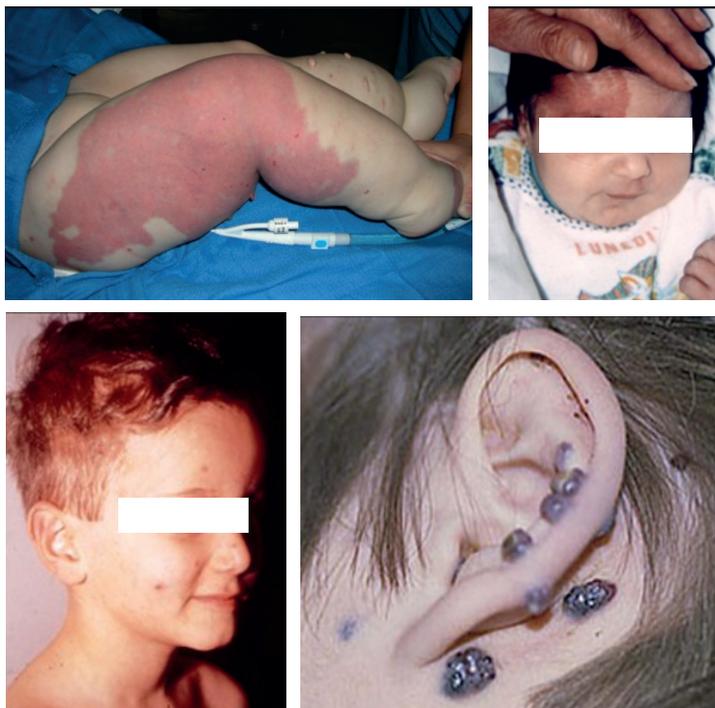
**Fig. 5.** Manifestazioni cutanee di *Incontinentia pigmenti*.

## Sindromi neurocutanee con malformazioni vascolari

**L**e malformazioni vascolari sono lesioni vascolari semplici o combinate di capillari, vasi linfatici e vasi di più grosse dimensioni (arterie e/o vene). In queste forme, a differenza dei tumori vascolari, la lesione vascolare aumenta di dimensioni proporzionalmente alla crescita postnatale, senza involuzione; l'endotelio vascolare inoltre è piatto. Di seguito vengono brevemente trattate le principali sindromi incluse in questo gruppo.

### Sindrome di Klippel-Trenaunaunay

Tale sindrome è caratterizzata da una complessa costellazione di anomalie che includono: 1) malformazioni vascolari combinate (capillari, vene, vasi linfatici) generalmente a carico degli arti, visibili come macule di colore rosso porpora; 2) varici venose a distribuzione inusuale, venose laterali, ad esordio generalmente in età pediatrica; 3) iperaccrescimento dell'area interessata dalla malformazione vascolare cutanea (solitamente l'arto) (**Fig. 6**).



**Fig. 6.** Sindromi con malformazioni vascolari: da sinistra verso destra in alto, 1) Sindrome di Klippel-Trenaunaunay, 2) Sindrome di Sturge-Weber; da sinistra verso destra in basso, 3) Sindrome di Wyburn Mason, 4) Sindrome del nevo blu.

Le complicanze sono correlate all'anomala vascolarizzazione e includono: trombosi, coagulopatie, embolismo polmonare con ipertensione polmonare secondaria, insufficienza cardiaca e sanguinamento nei vasi anomali a livello intestinale, renale o genitale. La sindrome sembra correlata all'iperpressione del gene che codifica per fattore angiogenico VG5Q (cromosoma 5q13.3) (21).

### **Sindrome di Sturge-Weber**

La sindrome di Sturge-Weber, anche nota come angiomatosi encefalofaciale o encefalotrigeminale o angiomatosi meningofaciale è caratterizzata da una malformazione capillare a carico dell'encefalo, delle meningi, associata talvolta ad un coinvolgimento della coroide e della cute nel territorio di innervazione del trigemino (Fig. 6). Il fenotipo è molto variabile e sono descritti casi solo con interessamento cutaneo senza anomalie del sistema nervoso e con o senza coinvolgimento oculare e casi con malformazione capillare leptomeningea senza (o con minimo) interessamento cutaneo.

Le complicanze della Sindrome di Sturge-Weber sono correlate all'anomala vascolarizzazione nei territori interessati ed includono: convulsioni (con esordio nei primi 2 anni di vita o in età successive e varia espressione clinica), emiplegia (controlaterale alla sede della malformazione vascolare), emianopsia, deficit cognitivo e/o regressione psicomotoria (21).

### **Sindrome di Dyke-Davidoff-Masson**

In questa sindrome si hanno malformazioni vascolari di tipo capillare nei seguenti organi ed apparati: 1) cute (nevo vascolare misto), 2) sistema nervoso (ipoplasia di segmenti vascolari cerebrali, emiatrofia cerebrale con ipertrofia delle ossa della volta cranica e pneumatizzazione dei seni ossei omolaterali alla malformazione cerebrale) 3) altri organi (2).

### **Sindrome di Wyburn Mason**

La Sindrome di Wyburn Mason è un raro disordine neuro-cutaneo caratterizzato principalmente da: 1) malformazioni atero-venose dell'encefalo (mesencefalo), generalmente unilaterali, 2) anomalie vascolari della retina, del nervo ottico, dell'orbita, del tratto e del chiasma ottico, 3) multipli nevi vascolari cutanei facciali (Fig. 6). Le malformazioni vascolari cerebrali possono estendersi a mandibola, naso e regione orofaringea, con rischio di grave sanguinamento in corso di estrazione dentaria (22).

## Sindrome del nevo blu

La sindrome del nevo blu (blue rubber bleb nevus) è un disordine congenito raro caratterizzato da malformazioni venose multifocali prevalentemente a carico della cute, dei tessuti molli e del tratto gastrointestinale. Anche il sistema nervoso centrale può essere interessato (Fig. 6) (23).

## Sindrome neurocutanea da aploinsufficienza dei geni MEF2C e RASA1

Questo gruppo racchiude una serie di sindromi caratterizzate dall'associazione di manifestazioni neurologiche e cutanee, conseguenza di malformazioni capillari, malformazioni atero-venose e/o fistole atero-venose a carico di cute e SNC.

Da un punto di vista patogenetico possono essere causate da: 1) mutazione del gene RASA1 (codificante per una proteina con funzione regolatoria negativa sulla via metabolica RAS/MAPK); 2) microdelezione del cromosoma 15q13.4q15 (con aploinsufficienza del gene MEF2C, che aumenta la funzione dei fattori miocitici); delezione 5q14.3 (con aploinsufficienza dei geni contigui, RASA1 e MEF2C) (4).

---

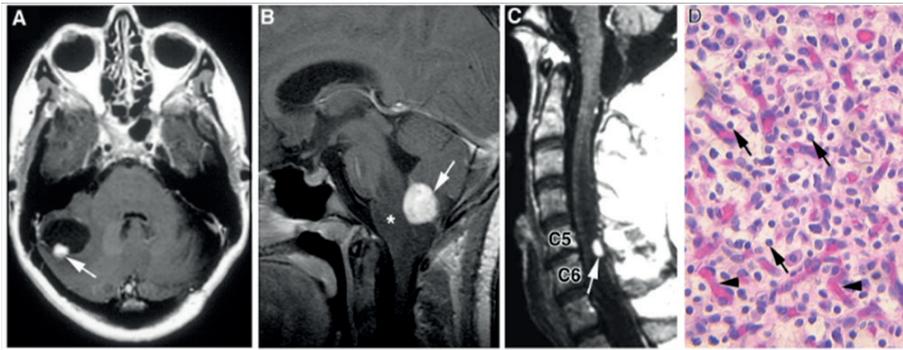
## Sindromi neurocutanee con tumori vascolari

**I**tumori vascolari sono neoformazioni causate dall'iperplasia dell'endotelio vascolare. La storia naturale dei tumori vascolari prevede una rapida crescita in epoca postnatale, seguita da una lenta involuzione e scomparsa nel corso dell'accrescimento.

Di seguito viene brevemente trattata la principale sindrome neurocutanea con tumori vascolari.

## Malattia di Von Hippel-Lindau

La malattia di Von Hippel-Lindau è una sindrome tumorale a trasmissione autosomica dominante che deriva da una mutazione germinale del gene VHL, localizzato sul braccio corto del cromosoma 3. Essa è caratterizzata dallo sviluppo di lesioni del SNC e viscerali (mancano le lesioni cutanee). Le lesioni del SNC includono emangioblastomi della retina, cerebellari, del midollo allungato e di quello spinale e tumori del sacco endolinfatico. Le lesioni viscerali comprendono carcinomi a cellule renali, cisti renali, feocromocitomi, cisti pancreatiche e tumori neuroendocrini (Fig. 7) (24).



**Fig. 7. Sindrome di Von Hippel-Lindau:** da sinistra verso destra, 1) emangioblastoma dell'emisfero cerebrale sinistro; 2) emangioblastoma del midollo allungato; 3) emangioblastoma spinale; 4) quadro istologico della neoplasia.

## Sindromi del nevo epidermico

Con il termine di sindrome del nevo epidermico si intende un'associazione di lesioni cutanee amartomatose e manifestazioni extracutanee. Le prime possono essere a differenziazione principalmente epidermica (nevo epidermico), sebacea (nevo sebaceo) o degli annessi (nevo degli annessi). Le manifestazioni extra cutanee includono lesioni a carico del SNC, dell'apparato muscolo-scheletrico e dell'occhio.

Tale gruppo di sindromi comprende **la Sindrome di Shimmelpenning-Feuerstein-Milns**, la Sindrome di Proteo, la sindrome CHILD, la sindrome del nevo comedonico e i fenomeni di twin spotting (**Fig. 8**).

La Sindrome di Shimmelpenning-Feuerstein-Milns, anche definita con il termine di Sindrome del nevo sebaceo, è caratterizzata dalla presenza di nevo/i sebaceo/i nelle zone cutanee in cui le ghiandole sebacee sono maggiormente distribuite: cuoio capelluto, fronte, regioni oculari e palpebrali; le altre regioni possono essere interessate, anche se meno frequentemente. Le lesioni cutanee possono attraversare 3 stadi evolutivi: 1) nevo sebaceo piatto (infanzia); 2) nevo sebaceo rilevato (adolescenza); evoluzione neoplastica (età adulta). Anomalie ossee, del SNC e dell'occhio si associano alle manifestazioni cutanee (25).

**La sindrome di Proteo** è una rara sindrome caratterizzata da iper accrescimento di uno o più tessuti corporei con tipica distribuzione a mosaico, decorso progressivo e mancanza di familiarità. La tipica lesione cutanea, diagnostica di patologia, è l'iperplasia del tessuto connettivo palmo-plantare con aspetto della pianta del piede ad acciottolato (26).

**La Sindrome CHILD** (Congenital Hemidysplasia with Ichthyosiform nevus and Limb Defects) è caratterizzata dalla presenza di placche eritematose congenite unilaterali (che generalmente regrediscono spontaneamente durante l'infanzia), iperplasia psoriasiforme dell'epidermide e ipoplasia ipsilaterale dell'arto e/o di altri organi. Tra le manifestazioni extra cutanee rientrano i deficit neurologici e quelli cardiovascolari (27).

**La sindrome del nevo comedonico** è caratterizzata da dilatazione localizzata dei follicoli piliferi con aumento del contenuto di cheratina al volto, nel tronco o nelle estremità superiori (28).

Per **twin spotting** si intende la presenza di nevi cutanei di varietà differenti posti nelle immediate vicinanze gli uni agli altri (appaiati). Fanno parte dei fenomeni di twin spotting: la facomatosi pigmento-vascolare (nevo telangettastico + nevo pigmentario), facomatosi pigmento-cheratotica (nevo lentiginoso papulare + nevo epidermico non-epidermolitico) e cutis tricolor (macchie iperpigmentare + macchie ipopigmentate) (29,30).



**Fig. 8. Sindromi del nevo epidermico:** da sinistra verso destra in alto, 1) nevo epidermico della Sindrome di Shimmelpenning-Feuerstein-Milns; 2) iperplasia plantare della Sindrome di Proteo; da sinistra verso destra in basso, 3) Sindrome CHILD; 4) Sindrome del nevo comedonico.

**Altre sindromi neurocutanee**

Il capitolo delle Sindromi neurocutanee comprende anche altre patologie, quali la Sindrome di Gorlin (30) e la Lipomatosi encefalo-cranio-cutanea (o Sindrome di Haberland) (31). In questo contesto, non potendo effettuare una descrizione dettagliata di ciascuna sindrome, si forniscono i riferimenti bibliografici.

## **Bibliografia**

Gomez MR. Neurocutaneous Diseases. A Practical Approach. Boston: Butterworths, 1987. RUIZ

Pavone L, Ruggieri M. Neurologia pediatrica. Elsevier srl. (2006).

Huson SM, Rosser E. The phakomatoses. In: RIMOIN DL, CONNOR JM, PYERITZ RE, eds. Emery and Rimoin's Principles and Practice of Medical Genetics. 3rd ed. New York: Lippincott, 2269-2302 (1998).

Ruggieri M, Franzoni E. Neurologia e psichiatria dello sviluppo. Elsevier editore. (2012).

Ruggieri M. The different forms of neurofibromatosis. Child's Nerv Syst. 15, 295-308 (1999).

Huson SM, Hughes RAC. The Neurofibromatoses. Pathogenetic and Clinical Overview. London: Chapman & Hall (1994).

John AM, Ruggieri M, Ferner R, Upadhyaya M. A search for evidence of somatic mutations in the Nf1 gene. J Med Genet. 37, 44-49 (2000).

Friedman JM, Gutmann DH, Maccollin M, Riccardi M. Neurofibromatosis. Penotype, Natural History, and Pathogenesis. 3rd ed. Baltimore: The Johns Hopkins University Press (1999).

Parrozzani R, Clementi M, Frizziero L, Miglionico G, Perrini P, Cavarzeran F, Kotsafti O, Comacchio F, Trevisson E, Convento E, Fusetti S, Midena E. In Vivo Detection of Choroidal Abnormalities Related to NF1: Feasibility and Comparison With Standard NIH Diagnostic Criteria in Pediatric Patients. Invest Ophthalmol Vis Sci. 56, 6036-6042 (2015).

Wimmer K, Kratz CP, Vasen HFA, Caron O, Colas C, Entz-Werle N, Gerdes AM, Goldberg Y, Ilencikova D, Muleris M, Duval A, Lavoine N, Ruiz-Ponte C, Slavc I, Burkhardt B, Brugieres L, on behalf of the EU-Consortium Care for CMMRD (C4CMMRD). Diagnostic criteria for constitutional mismatch repair deficiency syndrome: suggestions of the European consortium 'Care for CMMRD' (C4CMMRD). J Med Genet. 51,355-365 (2014).

Angela C Hirbe, David H Gutmann. Neurofibromatosis type 1: a multidisciplinary approach to care Lancet Neurol. 13, 834-43 (2014).

Evans DG, Moran A, King A, Saeed S, Gurusinghe N, Ramsden R. Incidence of vestibular schwannoma and neurofibromatosis 2 in the North West of England over a 10-year period: higher incidence than previously thought. Otol Neurotol. 26, 93-97 (2005).

Antinheimo J, Sankila R, Carpen O, Pukkala E, Sainio M, Jaaskelainen J. Population-based analysis of sporadic and type 2 neurofibromatosis-associated meningiomas and schwannomas. *Neurology*. 54, 71 (2000).

Harper JI, Oranje AP, Prose NS. *Textbook of Paediatric Dermatology*. Oxford: Blackwell Science (2000).

Ruggieri M, Polizzi A. Segmental neurofibromatosis. *J Neurosurg*. 93, 530-532 (2000).

Gomez MR, Sampson JR, Whittemore VW. *Tuberous Sclerosis Complex*. 3rd ed. Oxford: Oxford University Press (1999).

Tran LH, Zupanc ML. Long-Term Everolimus Treatment in Individuals With Tuberous Sclerosis Complex: A Review of the Current Literature *Pediatr Neurol*. 53, 23-30 (2015).

Ruggieri M, Pavone L. Hypomelanosis of Ito: clinical syndrome or just phenotype? *J Child Neurol*. 15, 635-644 (2000).

Adamson HG. Congenital pigmentation with atrophic scarring associated with other congenital abnormalities. *Proc R Soc Med*. 1, 9-10 (1908)

The International Incontinentia Pigmenti (IP) Consortium Genomic rearrangement in NEMO impairs NF- $\kappa$ B activation and is a cause of incontinentia pigmenti. *Nature* 405, 466-472 (2000).

Gorlin RJ, Cohen MM Jr, Hennekam RCM. Klippel-Trenaunay syndrome, Parkes Weber syndrome, and Sturge-Weber syndrome. In: Gorlin RJ, Cohen MM Jr, Hennekam M. *Syndromes of the Head and Neck*, 4th ed, Oxford University Press, New York, pp. 453-460 (2001)

Younge BR Wyburn-Mason syndrome. In: Gomez (ed.) *Neurocutaneous Disorders: A Practical Approach*. Boston: Butterworths: 376-380 (1987).

Paules S, Baack B, Levisohn D. Tender bluish papules on the trunk and extremities. Blue rubber-bleb nevus syndrome. *Arch Dermatol*. 129, 1505-1506, 1508-1509 (1993).

Richard S, Graff J, Lindau J, Resche F. Von Hippel-Lindau disease. *Lancet*. 363, 1231-4 (2004).

Eichler C, Flowers FP, Ross J. Epidermal nevus syndrome: case report and review of clinical manifestations. *Pediatr Dermatol*. 6, 316-320 (1989).

Biesecker L, Happle R, Mulliken JB, et al. Proteus syndrome: diagnostic criteria, differential diagnosis, and patient evaluation. *Am J Med Genet*. 84, 389-395 (1999).

Happle R, Koch H, Lenz W. The CHILD syndrome: Congenital hemidysplasia with ichthyosiform erythroderma and limb defects. *Eur J Pediatr* 134, 27-33 (1980).

Dudley, K., W. G. Barr, et al. Nevus comedonicus in association with widespread, well-differentiated follicular tumors. *J Am Acad Dermatol* 15(5 Pt 2). 1123-7 (1986).

Torrelo A. Non-allelic twin spotting under attack. *Eur J Dermatol.* 14, 75 (2004).

Ruggieri M. "Cutis tricolor": congenital hyper- and hypopigmented lesions in a background of normal skin, with and without associated systemic features: further expansion of the phenotype. *Eur J Pediatr.* 159, 745-749 (2000).

Amlashi SFA, Riffaud L, Brassier G, Morandi X Nevoid basal cell carcinoma syndrome: Relation with desmoplastic medulloblastoma in infancy. *Cancer* 98:618-624 (2003).

Haberland C, Perou M. Encephalocraniocutaneous lipomatosis. A new example of ectomesodermal dysgenesis. *Arch Neurol.* 22 (2), 144-155 (1970).

## LE ENCEFALOPATIE EPILETTICHE NEL NEONATO

*Marco Andrea Nicola Saporito, Laura Mauceri*

**L**e encefalopatie epilettiche ad esordio precoce (EEEP) sono sindromi elettrocliniche ad esordio neonatale e infantile precoce caratterizzate da:

- Convulsioni cliniche ricorrenti
- Anomalie del tracciato elettroencefalografico sia durante le crisi sia nell'intervallo tra le crisi
- Mancata risposta al trattamento antiepilettico
- Gravi alterazioni cognitive, sensoriali e motorie spesso conseguenza dell'attività epilettica (1)

Hanno una incidenza variabile di circa 0,1-300/100.000 nati vivi.

L'ILAE classifica le EEEP su base eziologica in:

- EEEP da cause genetiche
- EEEP da cause strutturali/metaboliche
- EEEP da cause sconosciute (1/3 dei casi) (2)

Nel 40% dei casi è stata identificata una causa genetica. Sono stati identificati più di 100 geni coinvolti nell'eziologia delle EEEP. Più frequentemente si tratta di mutazioni de novo autosomiche dominanti in geni codificanti proteine neuronali, meno frequentemente mutazioni autosomiche recessive e mutazioni X-linked (3). La maggior parte sono mutazioni sporadiche.

I meccanismi patogenetici alla base delle EEEP sono alterazioni della sinaptogenesi, della differenziazione neuronale, del rilascio e sintesi di neurotrasmettitori, di attività enzimatiche e di recettori/trasportatori di membrana che determinano anomalie di migrazione neuronale, anomalie di scarica neuronale e alterazioni di segnali intercellulari (4).

Clinicamente (5) le EEEP si classificano in:

- EE che presentano convulsioni come segno unico o principale
- EE che presentano convulsioni associate a:
  - fenotipo sindromico con caratteristiche cliniche peculiari
  - coinvolgimento acuto di vari organi ed apparati
  - coinvolgimento cronico di vari organi ed apparati
  - disordini del movimento

Non si ha una chiara correlazione genotipo-fenotipo; più geni possono presentare un quadro epilettologico analogo in associazione o meno a segni e sintomi distintivi sia a carico del sistema nervoso centrale e non (6); diverse mutazioni nello stesso gene possono causare epilessie meno catastrofiche o non causare epilessie, ma esprimersi con altri disturbi a carico del SNC (disabilità mentale, sindrome da deficit d'attenzione/iperattività, disturbi comportamentali) (7)

Le principali encefalopatie epilettiche ad esordio precoce sono:

- la sindrome di Ohtahara
- l'encefalopatia mioclonica precoce
- le encefalopatie epilettiche vitamino-responsive (8)

### **Sindrome di Ohtahara**

La sindrome di Ohtahara è una rara forma di epilessia caratterizzata da convulsioni intrattabili ad esordio nelle prime settimane di vita. Le crisi convulsive sono caratterizzate da spasmi tonici lateralizzati o acuti generalizzati. Le crisi sono brevi (10 secondi circa), isolate o in clusters, indipendenti dal sonno. Possono comparire circa 10-300 spasmi al giorno in 10-20 accessi convulsivi. È possibile la comparsa di convulsioni già in utero. La sindrome ha un'elevata mortalità soprattutto nelle prime fasi. Nei sopravvissuti residua un grave ritardo psicomotorio. La prognosi è scadente. L'evoluzione della patologia è nella sindrome di West (SW) e successivamente nella sindrome di Lennox-Gastaut (SLG) (9). I principali geni coinvolti sono geni implicati nelle funzioni neuronali e interneuronali:

- STXBP1: regola il rilascio delle vescicole sinaptiche
- ARX: regolatore della proliferazione e differenziazione dei progenitori neuronali
- SLC25A22: trasportatore mitocondriale del glutammato
- KCNQ2: canale voltaggio-dipendente del potassio coinvolto nella capacità cellulare di generare e trasmettere segnali elettrici (9)

Da un punto di vista elettroencefalografico la SO è caratterizzata da un pattern tipo "Burst suppression" caratterizzato da "scoppi" di onde lente ad alto voltaggio e punte multifocali alternati a fasi di soppressione isoelettrica, sia durante il sonno che la veglia (10).

### **Epilessia mioclonica precoce**

L'epilessia mioclonica precoce esordisce in epoca neonatale o nei primi mesi di vita ed è caratterizzata da:

- Mioclonie erratiche
- Convulsioni parziali refrattarie
- Stato neurologico patologico: grave ritardo psicomotorio, ipotonia, alterazioni della coscienza, neuropatia periferica.

Non esiste una terapia farmacologica efficace a controllare le crisi.

La prognosi è scadente (11). Può essere sintomo di esordio di errori congeniti del metabolismo (12) quali ad esempio:

- Iperglicinemia non chetotica
- Aminoacidemie organiche (acidemia metilmalonica, acidemia propionica)
- Sindrome di Zellweger
- Deficit del cofattore molibdeno

I possibili geni coinvolti sono: SLC25A22, PNPO, ALDH7A1, TBC1D24 (12).

L'EEG è caratterizzato da un pattern tipo "burst suppression" durante il sonno e polipunte, punte e scariche di onde lente in coincidenza delle crisi miocloniche (13)

### **Le encefalopatie epilettiche vitamino-responsive**

Le encefalopatie epilettiche vitamino-responsive (EVR) sono caratterizzate da convulsioni refrattarie, non responsive alla terapia antiepilettica convenzionale, ma responsive alla somministrazione vitaminica specifica. La prognosi dipende dalla precocità di diagnosi e dal timing della terapia corretta. Se la somministrazione vitaminica corretta viene ritardata si possono avere gravi disabilità motorie e intellettive.

L'EEG può essere normale o caratterizzato da attività multifocale con complessi punta-onda o pattern tipo "burst suppression" (3). Le principali EVR sono:

- l'epilessia piridossino-dipendente
- l'epilessia piridossal-5-fosfato-dipendente

- le convulsioni responsive all'acido folinico
- il deficit di biotinidasi
- il deficit di vitamina B12.

Le epilessie piridossino-dipendenti (EPD) sono rari disordini autosomici recessivi caratterizzati da convulsioni ad esordio neonatale non responsive alla terapia antiepilettica convenzionale, che cessano dopo somministrazione parenterale di piridossina. Le EPD, descritte per la prima volta da Hunt Ad Jr et al nel 1954, sono state tra le prime convulsioni geneticamente determinate ad essere riconosciute. L'incidenza delle EPD è sottostimata e variabile: in base ai vari studi 1/20.000 – 1/396.000 – 1/783.000 (14)

Distinguiamo forme tipiche o atipiche a seconda dell'esordio tardivo o della ritardata risposta alla piridossina.

### Inquadramento diagnostico delle Encefalopatie epilettiche

L'EEEP va sospettata in presenza di sintomi e segni tali da definire una specifica sindrome epilettica, quali convulsioni resistenti al trattamento, dismorfismi facciali o somatici, anomalie congenite, arresto/regressione o ritardo di sviluppo psicomotorio.

La diagnosi delle EEEP parte da una accurata anamnesi familiare, gravidica (convulsioni fetali), perinatale, e notizie inerenti al parto. Esami ematochimici di routine devono essere eseguiti subito per escludere infezioni, ipoglicemia ed alterazioni elettrolitiche. È necessario approfondire con esami metabolici su sangue ed urine (aminoacidi plasmatici, acidi organici urinari, dosaggio PLP, AP, SAAA), e analisi del liquido cefalo-rachidiano

Gli esami strumentali da eseguire sono i seguenti:

- Ecografia e RMN encefalo
- Video-EEG ictale ed interictale

Le indagini genetiche da eseguire sono (15):

- Cariotipo
- ibridazione genomica comparativa su microarray (CGH-array) (se presenti note dismorfiche o malformazioni SNC)
- Test genetici mirati in presenza di fenotipo clinico suggestivo
- "Next Generation Sequencing (NGS) panels" per encefalopatie epilettiche in presenza di fenotipo clinico dubbio

Numerosi studi dimostrano che grazie alla NGS si ha un incremento di diagnosi di EEEP da meno del 10% ad oltre il 25% (16).

## Terapia

La terapia farmacologica tradizionale è spesso inefficace nel controllo della sintomatologia convulsiva di queste crisi. Una epilessia si definisce farmaco-resistente quando 3 o 4 farmaci anticonvulsivanti sono stati introdotti in terapia e non sono riusciti a controllare la sintomatologia convulsiva.

Terapie alternative ai farmaci possono essere prese in considerazione nei casi più gravi.

Nell'epilessia focale laddove possa essere circoscritto il focolaio epilettogeno, si potrebbe considerare la terapia chirurgica. I pazienti candidati dovranno affrontare un iter pre-chirurgico che possa individuare con precisione l'area epilettogena con l'ausilio di sofisticati e prolungati esami video-EEG. Nei casi in cui l'asportazione dell'area epilettogena non causerà al paziente deficit neurologici, si potrà procedere all'intervento neurochirurgico con probabilità di successo molto elevate. Purtroppo solo il 10-15% delle epilessie farmacoresistenti può essere trattato chirurgicamente.

Nei casi non trattabili chirurgicamente, si può ricorrere all'impianto dello stimolatore del nervo vago, una specie di pace-maker che viene applicato sottocute in sede sternale e collegato con un sottilissimo cavo al nervo vago all'altezza del collo. La stimolazione del nervo provocherà una diminuzione della ipereccitabilità cerebrale e quindi farà diminuire la tendenza ad avere crisi. Questo approccio non farmacologico è particolarmente interessante e potrebbe aprire in futuro nuovi orizzonti. Le percentuali di successo sono intorno al 30-40% dei casi.

Nei pazienti pediatrici farmacoresistenti si può infine **ricorrere alla dieta chetogenica**, una dieta basata su una alta percentuale di grassi a scapito di carboidrati e proteine. I comuni regimi alimentari abitualmente sono costituiti da una percentuale di circa il 50% di carboidrati, 30% di grassi e 20% di proteine. Nella dieta chetogenica la percentuale di grassi può arrivare fino al 90% ed il resto essere diviso tra proteine e carboidrati. La dieta chetogenica, ha dato risultati molto incoraggianti con percentuali di successo, cioè di significativa riduzione del numero delle crisi intorno al 60% dei casi, e con alcuni pazienti completamente liberi da crisi. Non è ancora molto frequente l'utilizzo di tale dieta nei neonati e nei lattanti.

---

## Gestione del bambino con epilessia farmaco resistente

**I**l bambino affetto da epilessia farmaco-resistente viene preso in carico da un'equipe multidisciplinare composta da neonatologo-pediatra, neuro-pediatra epilettologo, neurofisiologo, neuropsichiatra infantile, fisiatra, oculista, neuro psicomotricista. Il follow up di questi bambini prevede controlli clinici periodici, esami elettroencefalografici ripetuti. Fondamentale per una corretta gestione di tali patologie è la continua interazione tra famiglia, pediatra di famiglia, centro di cura di terzo livello, importante anche per valutare l'appropriatezza delle terapie in corso e l'eventuale ricorso ad altri livelli di terapia.

## **Bibliografia**

Gursoy S, Ercal D. Diagnostic approach to genetic causes of early-onset epileptic encephalopathy. *J Child Neurol*. 2016; 31(4):523-32.

Berg AT et al. Revised terminology and concepts for organization of seizures and epilepsies: report of the ILAE Commission on classification and terminology, 2005-2009. *Epilepsia* 2010; 51:676-85.

Hwang SK, Kwon S, Early-onset epileptic encephalopathies and the diagnostic approach to underlying causes. *Korean J Pediatr*. 2015; 58 (11):407-414.

Prasad AN, Hoffmann GF. Early onset epilepsy and inherited metabolic disorders: diagnosis and management. *Can J Neurol Sci* 2010. May 37 (3):350-8.

Mastrangelo M, Celato A, Leuzzi V. A diagnostic algorithm for the evaluation of early onset genetic-metabolic epileptic encephalopathies. *Eur J Paediatr Neurol*. 2012 Mar; 16(2):179-91.

Mastrangelo M, Leuzzi V. Genes of early-onset epileptic encephalopathies: from genotype to phenotype. *Pediatr Neurol*. 2012 Jan; 46 (1):24-31.

Olson HE, Poduri A, Pearl PL. genetic forms of epilepsies and other paroxysmal disorders. *Semin Neurol* 2014 Jul; 34 (3):266-79.

Sharma S, Prasad AN. Genetic testing of epileptic encephalopathies of infancy: an approach. *Can J Neurol Sci*. 2013; 40:10-16

Beal JC, Cherian K, Moshe SL. Early-onset epileptic encephalopathies: Ohtahara syndrome and early myoclonic encephalopathy. *Pediatr Neurol*. 2012; 47:317-323

Kato M, Yamagata T, Kubota M et al. Clinical spectrum of early onset epileptic encephalopathies caused by KCNQ2 mutation. *Epilepsia* 2013 Jul; 54 (7):1282-7.

Mastrangelo M, Celato A, Leuzzi V. Diagnostic algorithm for the evaluation of early onset genetic-metabolic epileptic encephalopathies. *Eur J Paediatr Neurol*. 2012; 16:179-191

Ohtahara S, Yamatogi Y. Epileptic encephalopathies in early infancy with suppression-burst. *J Clin Neurophysiol*. 2003; 20 (6):398-407

Ishii A, Kang JQ, Schornak CC, et al. A de novo missense mutation of GABRB2 causes early myoclonic encephalopathy

Baxter P. Pyridoxine-dependent and Pyridoxine-responsive seizures. *Dev Med Child Neurol*. 2001;43:416-20.

Gursoy S, Ercal D. Diagnostic approach to genetic causes of early-onset epileptic encephalopathy. *J Child Neurol*. 2016; 31 (4):523-32

Mercimek-Mahmutoglu S, Patel J, Cordeiro D et al. Diagnostic Yield of genetic testing in epileptic encephalopathy in childhood. *Epilepsia* 2015 May; 56 (5):707-16.



# EPILESSIE RARE AD ESORDIO NELL'INFANZIA E NELL'ADOLESCENZA: DIAGNOSI, PRESA IN CARICO, POSSIBILITÀ TERAPEUTICHE

Piero Pavone, Silvia Marino, Luca Sabino

**L**e epilessie rare nel bambino e nell'adolescente possono essere distinte in rapporto alla età di insorgenza in epilessie del periodo neonatale, del primo anno di vita, dell'infanzia e dell'adolescenza

## Sindromi epilettiche rare ad insorgenza nell'età neonatale

### *a) Epilessie Neonatali Familiari Benigne (ENFB).*

Il quadro clinico di questo disordine è caratteristico: i sintomi convulsivi si presentano nei primi giorni di vita in un neonato che non mostra evidenti segni anomali all'esame clinico e neurologico. Da una dettagliata anamnesi si può evincere che simili episodi sono stati segnalati nell'ambito familiare. I neonati affetti nel corso dei mesi mostrano una graduale riduzione delle crisi fino alla totale scomparsa. Il decorso clinico è benigno. Il disturbo si manifesta in forma autosomica dominante, colpisce ugualmente entrambi i sessi ed è stato associato a una mutazione genetica interessante il gene KCN, localizzato sul cromosoma 20. Con il termine epilessie KCNQ2 -correlate vengono indicate oltre le ENFB, crisi convulsive benigne che si manifestano sia in epoca neonatale che nell'infanzia indicate con l'acronimo (BFNIS) e crisi convulsive che compaiono nel lattante (BFIS). Sempre lo stesso gene è implicato in forme gravi di epilessia che rientrano nel gruppo delle encefalopatie epilettiche [1-2].

### *b) Encefalopatia mioclonica precoce (EME)*

Le crisi si possono manifestare sin dal primo giorno di vita con manifestazioni miocloniche o con crisi erratiche sia di tipo mioclonico che di tipo parziale erratiche con tracciato EEGrafico di tipo "burst suppression". Mutazioni del gene SLC25A22 sono state chiamate in causa per questa patologia, così come disordini metabolici possono manifestarsi con questo aspetto clinico ed elettroencefalografico [3].

### *c) Sindrome di Ohtahara (encefalopatia epilettica precoce dell'infanzia)*

Tende a manifestarsi nei primi giorni di vita, prevalentemente nei primi 10, con spasmi tonici generalizzati, simmetrici o lateralizzati. Crisi focali e/o

miocloniche possono essere presenti. Il quadro EEG intercritico è caratterizzato da scariche di onde lente ad alto voltaggio frammisto a punte multifocali con fasi di soppressione dell'attività elettrica. Geni implicati in questo disordine comprendono principalmente ARX, STBP1, KCNQ2, SLC25A22, CDKL5. La distribuzione di queste due sindromi epilettiche è piuttosto vaga e molti esperti ritengono che le due sindromi siano parte di un unico disordine [4-5].

La diagnosi è clinica ed EEGrafica. Il trattamento è basato sull'impiego di corticosteroidi, sulla dieta chetogenica e sulla farmacoterapia. La prognosi è spesso riservata e le crisi sono spesso resistenti al trattamento [4-5].

---

## **Sindromi epilettiche ad insorgenza nel lattante.**

### ***a) Epilessia dell'infanzia con crisi focali migranti***

Viene indicata anche con il termine di "crisi maligne parziali migranti nell'infanzia" [6-7]. Le crisi si manifestano nei primi 6 mesi di vita con crisi polimorfe migranti focali con andamento quasi continuo. Le crisi coinvolgono più spesso un emilato e presentano un quadro EEGrafico con scariche multifocali. Un coinvolgimento del gene KCNT1 è stato segnalato in alcuni di questi casi [8].

### ***b) Sindrome di West***

È caratterizzata dalla triade spasmi infantili, quadro EEG di ipsaritmia e ritardo dello sviluppo psicomotorio. Negli ultimi anni questa sindrome ha subito notevoli variazioni in rapporto alla tipologia delle crisi, alle cause genetiche che sono in continuo aumento, la variabilità del quadro elettroencefalografico e alla possibilità di trattamento. Gli spasmi si manifestano con una brusca contrazione seguita da una fase tonica della durata di pochi secondi che interessano i muscoli del collo, del tronco, degli arti in abduzione o adduzione. Accanto alle forme classiche, quadri atipici relativi alle crisi convulsive e alle registrazioni EEGrafiche sono stati di recente evidenziati.

Questi aspetti clinici atipici sono stati collegati all'età del bambino affetto e alla etiologia che ha causato il danno cerebrale.

### ***c) La sindrome di Dravet***

Il quadro clinico è caratterizzato da crisi epilettiche miocloniche con insorgenza nel lattante con crisi multiple di variabile fenomenologia, con crisi di

lunga durata che si complicano con alta frequenza, o episodi di stato epilettico. Il decorso clinico si manifesta con graduale progressività.

Le prime crisi si manifestano nel primo anno di vita sotto forma di convulsioni febbrili complesse. Le crisi sono caratterizzate da alta frequenza, anche con temperatura non particolarmente elevata, con crisi prolungate e ripetute nell'arco dello stesso episodio febbrile e spesso focalizzate.

Successivamente, le crisi assumono un aspetto diverso, avvengono spontaneamente senza associarsi a temperatura febbrile, le crisi assumono aspetto mioclonico, o del tipo assenze atipiche e possono manifestarsi come convulsioni parziali complesse. In una fase successiva il decorso diventa più stabile, le crisi si mantengono frequenti mentre tende a comparire un graduale deterioramento cognitivo. Lo stesso andamento progressivo clinico avviene anche per l'EEG che appare inizialmente di aspetto normale ma dopo assumono le caratteristiche di scariche parossistiche generalizzate con punta-onda e polipunta-onda di 1-2 Hz rilevate sul tracciato di base e accentuate dalla foto-stimolazione e dal sonno. Il gene SCN1A, così come altri geni, sono frequentemente coinvolti nell'etiologia della sindrome [11-13].

#### ***d) Stato mioclonico in encefalopatia non progressiva***

Questa affezione viene anche indicata con il termine "Encefalopatia mioclonica in disordini non progressivi". Vengono distinti tre sottogruppi a seconda delle cause etiologiche, dell'aspetto clinico, l'EEG e l'evoluzione [14-15]. Di questo gruppo fanno parte le epilessie benigne del lattante.

La presa in carico per questo gruppo di malattie appare diversificato: Come precedentemente riportato le crisi benigne facenti parte di questo gruppo non necessitano di trattamento farmacologico. Bisogna solo valutare l'aspetto clinico ed elettroencefalografico e valutarne il decorso. Per contro, un lattante con crisi epilettiche atipiche o complesse necessita di particolare attenzione e risulta utile come prima istanza un'indagine genetica in particolare con la ricerca del gene SCN1A. Il trattamento farmacologico va iniziato precocemente. Nell'epilessia del lattante con crisi focali migranti, nelle encefalopatie miocloniche in disordini non progressivi e nella sindrome di West la prognosi è di solito grave sia per quanto riguarda la frequenza e l'evoluzione delle crisi che per l'arresto o la regressione cognitiva. Il trattamento comprende i corticosteroidi, la dieta chetogenica e la terapia farmacologica. Nel trattamento della sindrome di Dravet buoni risultati sono stati ottenuti con l'impiego di terapia anticonvulsivante e in particolare con lo stiripentolo un farmaco anticonvulsivante di recente impiego. La prognosi resta tuttavia seria sia per il controllo delle crisi convulsive che per il ritardo psicomotorio.

## **Epilessie rare nel bambino**

### ***a) Epilessia con crisi miocloniche atoniche***

Conosciute anche come epilessie miocloniche astatiche o sindrome di Doose. I soggetti affetti presentano uno sviluppo cognitivo normale, fino alla comparsa dei primi episodi convulsivi che sono di tipo astatico, mioclono-astatico, tonico-clonico generalizzato con fasi frequenti di stato di male epilettico. L'EEG è inizialmente normale ma successivamente risulta caratterizzato da punte, punte multiple e onde lente generalizzate. Caratteristicamente le crisi appaiono di tipo clonico bilaterali seguite da caduta improvvisa per perdita del tono muscolare. Le crisi atoniche si associano spesso ad assenze ma possono non essere accompagnate da altre crisi convulsive [16].

### ***b) Epilessia notturna del lobo frontale autosomica dominante***

Si manifesta con crisi motorie notturne che avvengono a grappolo e di breve durata (5 sec. – 10 min.) spesso stereotipate. Le crisi si presentano eclatanti, spesso con eventi ipercinetici bizzarri con quadri tonici e distonici. L'età media di comparsa della patologia è attorno ai 10 anni. L'aspetto cognitivo è in buona parte dei casi buono e col tempo gli attacchi possono diventare più lievi e meno frequenti [17]. Diversi geni sono stati coinvolti, compresi i geni CHRNA4, CHRNAB2, CHRNA2, KCNT1, DEPDC5 e CR12.

### ***c) Sindrome di Lennox-Gastaut***

È caratterizzata dalla triade, farmaco resistenza, crisi epilettiche di vario tipo e deterioramento intellettivo. Le crisi si presentano in tipo atonico ed assenze atipiche di giorno mentre le crisi miocloniche sono prevalentemente notturne. Le crisi si presentano tra il primo anno e molto spesso fanno seguito alla Sindrome di West. L'EEG mostra scariche di generalizzate punte-onde lente di 1,5-2,5 Hz e attività parossistica rapida generalizzata. La sindrome è nel 70% sintomatica e criptogenetica nel 30%. La risposta alla terapia è scarsa. I geni coinvolti sono GABRD3, ALG13, SCN8A, STXP1, DNMI, FOXG1, CHD2 [18].

### ***d) Encefalopatia epilettica con onde lente continue nel sonno (CSWS)***

Con CSWS si definisce un quadro elettroencefalografico che si manifesta con punte e onde continue presenti durante il sonno lento. Le anomalie possono essere bilaterali o unilaterali o focali, in associazione a progressivo deterioramento.

ramento delle funzioni cognitive. Il danno cognitivo seppur correlato prevalentemente alla precocità della sintomatologia, risulta meno compromesso allorchè le condizioni cliniche appaiono più tardivamente [19].

### ***e) Sindrome di Landau-Kleffner***

Encefalopatia epilettica che si manifesta con afasia auditoria verbale acquisita e convulsioni associate a continue scariche di punte-onde nella fase di sonno lento. Le crisi possono manifestarsi come parziali complesse (motorie focali, assenze atipiche) o in forma generalizzata (tonico-cloniche, atoniche), con possibilità di complicarsi in stato epilettico convulsivo o non convulsivo. L'EEG presenta punte e punte-onde lente di alto voltaggio unilaterali, bilaterali o multifocali in varie regioni con attivazione parossistica all'inizio della fase lenta del sonno [20].

Questo gruppo di affezioni si associano a compromissione cognitiva e a crisi con farmacoresistenza. Nella Doose il trattamento con corticosteroidi, Eto-succinimide e Sodio Valproato hanno dato risultati parzialmente efficaci. Trattamento con nuovi farmaci, Levetiracetam e Zonisamide si sono dimostrati utili nel controllo delle crisi. Per epilessie notturne del lobo frontale autosomiche dominanti la Carbamazepina si è dimostrata utile nel 70% dei casi. La prognosi per i pazienti affetti da sindrome di Lennox-Gastaut, malgrado i vari tentativi terapeutici, rimane spesso insoddisfacente sia nel controllo delle crisi che nel funzionamento cognitivo. Nella sindrome encefalopatia epilettica con punte e onde continue durante il sonno lento, il deterioramento cognitivo è spesso osservato. Nella Landau-Kleffner il trattamento con Clobazepam, Etosuccinamide, Sultiame e steroidi ad alto dosaggio, con un precoce trattamento sembra essere associato a migliore prognosi.

---

## **Epilessie rare nell'adolescente.**

### ***a) Epilessie Miocloniche giovanili***

Le crisi si manifestano prevalentemente in età fra gli 8 e i 24 anni. Le crisi si manifestano subito al risveglio con crisi di tipo mioclonico e di tipo generalizzato tonico clonico, stimulate dalla privazione di sonno e dall'assunzione di alcol. Lo sviluppo cognitivo è normale. L'EEG presenta un tracciato di base normale con complessi di punta e polipunta-onda generalizzato a 3, 5-6 Hz.

### ***b) Epilessia autosomica dominante con quadri auditori***

L'affezione è caratterizzata clinicamente da convulsioni focali con aura au-

ditoria o afasia in assenza di anomalie cerebrali strutturali. Mutazioni del gene LGI1 e RELN si presentano nel 50% degli adolescenti affette. Il disturbo è stato associata al gene LNTNAP2.

Nelle crisi miocloniche giovanili il trattamento con Sodio Valproato risulta più efficace in soggetti con anomalie EEGrafiche simmetriche.

Il problema della diagnosi, presa in carico, e possibilità terapeutiche riguardano un po' tutte le malattie rare ma questi problemi risultano particolarmente gravi nei bambini affetti da queste patologie. In queste affezioni infatti, spesso alle crisi convulsive si associano una serie di altri fattori che riguardano il ritardo dell'organizzazione psicomotoria, il ritardo cognitivo. Inoltre il trattamento farmacologico risulta talvolta insufficiente. Tuttavia di recente l'uso di nuovi farmaci, lo sviluppo della farmacogenetica, le possibilità in qualche caso di trattamento chirurgico mirato, ci fanno ben sperare in un miglioramento delle condizioni dei bambini affetti e aprono enormi prospettive per il futuro.

## **Bibliografia**

Pavone L, Mazzone D, La Rosa M, Li Volti S, Mollica F. Le convulsioni familiari benigne. Studio di una famiglia. *Pediatrics* Oggi 1982; 11: 375-378.

Maljevic S, Vejzovic S, Bernhard MK, Bertsche A, Weise S, Döcker M, Lerche H, Lemke JR, Merckenschlager A, Syrbe S. Novel KCNQ3 Mutation in a Large Family with Benign Familial Neonatal Epilepsy: A Rare Cause of Neonatal Seizures. *Mol Syndromol*. 2016; 7:189-196.

Yamatogi Y, Ohtahara S. Early-infantile epileptic encephalopathy with suppression-bursts, Ohtahara syndrome; its overview referring to our 16 cases. *Brain Dev*. 2002; 24:13-23.

Pavone P, Spalice A, Polizzi A, Parisi P, Ruggieri M. Ohtahara syndrome with emphasis on recent genetic discovery. *Brain Dev*. 2012; 34:459-68.

Deprez L, Jansen A, De Jonghe P. Genetics of epilepsy syndromes starting in the first year of life. *Neurology*. 2009; 72:273-81.

Coppola G, Plouin P, Chiron C, Robain O, Dulac O. Migrating partial seizures in infancy: a malignant disorder with developmental arrest. *Epilepsia*. 1995; 36:1017-24.

Coppola G. Malignant migrating partial seizures in infancy. *Handb Clin Neurol*. 2013; 111:605-9.

McTague A, Appleton R, Avula S, Cross JH, King MD, Jacques TS, Bhate S, Cronin A, Curran A, Desurkar A, Farrell MA. Migrating partial seizures of infancy: expansion of the electroclinical, radiological and pathological disease spectrum. *Brain*. 2013; 136:1578-91.

Lux AL, Osborne JP. A proposal for case definitions and outcome measures in studies of infantile spasms and West syndrome: consensus statement of the West Delphi group. *Epilepsia*. 2004; 45:1416-28.

Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, Hirsch E, Jain S, Mathern GW, Moshé SL, Nordli DR, Perucca E, Tomson T, Wiebe S, Zhang YH, Zuberi SM. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017; 58:512-521.

Dravet C, Bureau M, Oguni H, Fukuyama Y, Cokar O. Severe myoclonic epilepsy in infancy: Dravet syndrome. *Adv Neurol*. 2005; 95:71-102.

Dravet C. The core Dravet syndrome phenotype. *Epilepsia*. 2011;52 Suppl 2:3-9.

Hurst DL. Epidemiology of severe myoclonic epilepsy of infancy. *Epilepsia*. 1990; 31:397-400.

Caraballo RH, Cersósimo RO, Espeche A, Arroyo HA, Fejerman N. Myoclonic status in nonprogressive encephalopathies: study of 29 cases. *Epilepsia*. 2007; 48:107-13.

Pavone P, Corsello G, Ruggieri M, Marino S, Marino S, Falsaperla R. Benign and severe early-life seizures: a round in the first year of life. *Ital J Pediatr*. 2018; 44:54.

Kelley SA, Kossoff EH. Doose syndrome (myoclonic-astatic epilepsy): 40 years of progress. *Dev Med Child Neurol*. 2010; 52:988-93.

Kurahashi H, Hirose S. Autosomal Dominant Nocturnal Frontal Lobe Epilepsy. EditorsIn: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA, Wallace SE, Bean LJH, Stephens K, Amemiya A, editors. *SourceGeneReviews*® [Internet]. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2018. 2002 May 16 [updated 2018 Mar 15].

Mastrangelo M. Lennox-Gastaut Syndrome: A State of the Art Review. *Neuropediatrics*. 2017; 48:143-151.

De Giorgis V, Filippini M, Macasaet JA, Masnada S, Veggiotti P. Neurobehavioral consequences of continuous spike and waves during slow sleep (CSWS) in a pediatric population: A pattern of developmental hindrance. *Epilepsy Behav*. 2017; 74:1-9.

Caraballo RH, Cejas N, Chamorro N, Kaltenmeier MC, Fortini S, Soprano AM. Landau-Kleffner syndrome: a study of 29 patients. *Seizure*. 2014; 23:98-104.

Sezikli S, Pulat TA, Tekin B, Ak PD, Keskinçilic C, Ataklı D. Frontal lobe cognitive functions and electroencephalographic features in juvenile myoclonic epilepsy. *Epilepsy Behav*. 2018; 86:102-107.

Leonardi E, Dazzo E, Aspromonte MC, Tabaro F, Pascarelli S, Tosatto SCE, Michelucci R, Murgia A, Nobile C. CNTNAP2 mutations and autosomal dominant epilepsy with auditory features. *Epilepsy Res*. 2018; 139:51-53.

## LE SINDROMI AUTOINFIAMMATORIE

*Alberto Fischer*

**L**e sindromi infiammatorie costituiscono un gruppo di malattie, rare per la maggior parte dei casi, in cui una o più mutazioni genetiche determinano anomalie nei meccanismi che regolano la produzione di chinine proinfiammatorie nell'ambito dell'immunità innata. Quasi tutte esordiscono in età pediatrica, ed alcune anche in epoca neonatale, con sintomi e/o segni che coinvolgono diversi tessuti. Le più moderne tecniche di sequenziamento genico hanno permesso l'individuazione delle mutazioni specifiche, migliorando le conoscenze sulla patogenesi e permettendo un approccio terapeutico più mirato e razionale.

### Glossario

(Nel testo vengono utilizzati gli acronimi anglosassoni) AID=Autoinflammatory Diseases; FMF= Familial Mediterranean Fever; HIDS= Hyper IgD Syndrome; MKD= Mevalonate Kinase Deficiency; TRAPS= Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Periodic Syndrome; PFAPA= Periodic Fever Aphthous Stomatitis Pharyngitis And Adenopathy; FCAS= Familial Cold Autoinflammatory Syndrome; MWS= Muckle Wells Syndrome; CINCA= Chronic Infantile Neurological Cutaneous and Articular; NOMID= Neonatal Onset Multisystem Inflammatory Disease; CAPS= Cryopyrin Associated Periodic Fever Syndrome; DIRA= Deficiency of Interleukin-1 Receptor Antagonist; PAPA= Pyogenic Sterile Arthritis Pyoderma Gangrenosum and Acne; DITRA= Deficiency of IL36 Receptor Antagonist; CRMO= Chronic Recurrent Multifocal Osteomyelitis; SAPHO= Synovitis Acne Pustulosis Hyperostosis Syndrome; SAA= serum Amiloid A; CANDLE= Chronic Atypical Neutrophilic Dermatosi with Lipodystrophy and Elevated Temperature; SAVI= Sting Associated Vasculitis of Infancy; EOIBD= Early Onset Inflammatory Bowel Disease; EOS= Early Onset Sarcoidosis

---

### Introduzione

**C**ol termine di “sindromi autoinfiammatorie” (AID) viene identificato un gruppo di malattie nelle quali mutazioni genetiche inducono uno squilibrio nei meccanismi che regolano l'attività infiammatoria nell'ambito dell'immunità innata. La maggior parte di esse sono molto rare e sintomi e segni che le caratterizzano sono condivise da altre patologie in cui vengono attivati i meccanismi della flogosi. Dopo la identificazione negli

anni '90 delle mutazioni geniche che condizionano le prime AID descritte, la FMF (Febbre Mediterranea Familiare) e la TRAPS (Sindrome periodica associata al recettore per il TNF $\alpha$ ) lo sviluppo delle nuove tecniche di sequenziamento genico (Next Generation Sequencing, NGS) e lo studio dell'esoma (WES, whole exome sequencing) ha permesso la individuazione di tutti i geni coinvolti nelle malattie autoinfiammatorie, oggi definite anche come monogeniche, incrementandone anche il numero con la scoperta di nuove malattie ed offrendo la possibilità di una diagnosi precoce tale da permettere per molte di esse un approccio terapeutico valido con il ricorso a farmaci biologici selettivi.

Quasi tutte queste sindromi hanno un esordio nell'età pediatrica ed alcune anche nel corso del primo mese di vita e si caratterizzano per sintomi e segni che condividono con altre malattie in cui predomina la componente flogistica (febbre, artralgie, rash cutanei, indici di flogosi elevati, ecc.), tanto da render difficile la diagnosi. In questo lavoro si è preferito adottare una classificazione in gruppi facendo riferimento al dato clinico più evidente e costante.

1. Febbri periodiche
2. Criopirinopatie
3. AID con prevalenti lesioni cutanee
4. AID con prevalenti lesioni ossee
5. AID di recente individuazione

---

### Le febbri periodiche (Tab.1)

**I**l segno più eclatante ed evocativo è la febbre che si presenta in maniera periodica, con intervalli costanti, in cui è assente ogni sintomo o segno. Gli intervalli liberi sono regolari ed hanno una durata media che va da una settimana a mesi, o, in alcuni casi, superano anche l'anno. Alla febbre si associano sintomi che coinvolgono tessuti o organi, ma che scompaiono nei periodi intercritici. Durante gli attacchi febbrili sono elevati gli indici di flogosi.

**1. La Febbre Mediterranea Familiare** è la più comune e frequente delle AID e quella più conosciuta, descritta nelle sue caratteristiche cliniche sin dal 1949. La sua incidenza a livello mondiale è di 1 a 100.000, con una prevalenza da 1:500 a 1:1000 nel bacino del mediterraneo (Ebrei Sefarditi, Arabi, Turchi, Armeni). Non è rara in Grecia e nel Sud di Italia. Nel 1997 fu identificata la mutazione genetica (1) che interessa il gene MEFV, trasmessa in maniera autosomica recessiva. il gene MEFV codifica per una

proteina, la pirina o marenostrina, la quale interviene nei meccanismi regolatori della produzione di Il-1B. È stato ipotizzato che la pirina avrebbe un'azione inibitoria sulla produzione di Il-1B mediante legami competitivi con la caspasi 1 e la proteina ASC, impedendo a quest'ultima di intervenire nella formazione dell'inflammosoma NLP3 (2). Una peculiarità della malattia è che si può avere un fenotipo classico con riscontro di una mutazione in eterozigosi. Le più comuni mutazioni missense riscontrate nei soggetti affetti da FMF sono M694V, M608I, M694T. Clinicamente la malattia, che nella maggior parte dei casi esordisce prima dei 20 anni, si presenta con febbre elevata, associata a dolore addominale acuto, artrite o artralgia, e lesioni cutanee. La febbre è presente in quasi tutti i casi, dura da 1 a 3 giorni, è elevata e si accompagna a profonda astenia (3). La periodicità, tipica della malattia e supporto al sospetto diagnostico, può ricorrere da una volta la settimana ad una volta l'anno, con intervalli in cui è assente ogni sintomo. I dolori addominali possono essere lievi o anche violenti e spesso accompagnati da distensione addominale tanto da simulare un addome acuto (4). Un coinvolgimento articolare interessa tre quarti dei pazienti, prevalentemente con omozigosi per M694V, ed è con maggior frequenza rappresentato da una monoartrite a livello degli arti inferiori. Ad essa può anche associarsi una sindrome mialgica che si accentua con l'attività fisica e può durare a lungo. Spesso sono segnalate sierositi, come peritoniti, pericarditi e pleuriti con una frequenza che oscilla dal 4 al 30%. La manifestazione cutanea più frequente è una placca eritematosa, simile all'erisipela, localizzata sul dorso del piede, sulle caviglie o sulle gambe. Una grave complicanza della FMF è rappresentata dall'amiloidosi, ovvero la deposizione di una proteina della fase acuta, la SSA, a livello dei tessuti, soprattutto renale, che porta ad insufficienza renale e morte. (5) Sembra che tra i vari fattori di rischio, comprese le aree dove più frequente è la malattia (Turchia, Armenia, Israele), sia l'omozigosi per la mutazione M694I. Il trattamento di elezione è la colchicina che risulta efficace nell'90% dei casi e riduce notevolmente il rischio di amiloidosi. Laddove la risposta alla colchicina è insufficiente si è fatto ricorso ai farmaci inibitori dell'IL-1 come il rilonacept (6).

**2. Deficit di mevalonatochinasi/Sindrome da IperIgD (HIDS).** È una malattia autosomica recessiva causata da una mutazione del gene della mevalonato chinasi (MVK)(7). La mevalonato chinasi catalizza la conversione dell'acido mevalonico ad acido 5-fosfomevalonico, intermedio nella sintesi del colesterolo, della vit. D, degli acidi biliari e degli ormoni steroidei. Sono state isolate ben 100 varianti di MVK, ma solo un terzo di

essi sono responsabile della malattia. Il fenotipo classico si associa con maggiore frequenza alle mutazioni V310M e A334T (8). Alcune mutazioni di MVK sono responsabili di una grave e rara forma ad insorgenza molto precoce, la Mevalonico Aciduria (MA) in cui la residua attività dell'enzima è ridotta al di sotto dell'1%, mentre nella sindrome da IperIgD la residua attività dell'enzima è tra 1 e 10% (9) La MA è caratterizzata da febbri periodiche, ritardo della crescita, gravi danni neurologici, miopia e progressione verso la morte. La HIDS si caratterizza per episodi di febbre elevata che durano dai 3 ai 7 giorni e ricorrono ogni 4-6 settimane. Il 78% dei bambini ha il primo attacco entro i 12 mesi, ed il 94% prima dei 4 anni. Gli episodi febbrili durano per molti anni e sono più frequenti durante l'età scolare e l'adolescenza. Possono essere scatenati da vaccinazione, traumi, interventi chirurgici e stress. Sono frequenti durante gli attacchi i dolori addominali, la linfadenopatia, una poliartralgia e lesioni cutanee papulari, urticarioidi, nodulari o purpuriche. Rare sierositi mialgia e ulcere orali e genitali. Durante gli attacchi sono elevati le proteine della fase acuta (PCR, VES, SAA) e vi è leucocitosi neutrofila. In più del 90% dei pazienti si riscontra una marcata elevazione delle IgD (> 100U/ml), cosa che dà il nome alla sindrome, e nella gran parte di essi possono essere elevate anche le IgA (10). L'aumento delle IgD non è specifico per l'HIDS potendosi riscontrare anche in altre malattie autoinfiammatorie, quali la TRAPS e la FMF, dove tuttavia non raggiungono i valori segnalati per il deficit di mevalonatochinasi. Elevati livelli urinari di acido mevalonico, durante gli attacchi, erano utilizzati nella diagnosi, insieme all'aumento delle IgD, prima dell'identificazione della mutazione genica. La HIDS ha nella maggior parte di casi una evoluzione benigna e la sintomatologia tende a ridursi nel corso della vita adulta. Pochi casi hanno un'evoluzione verso la amiloidosi (11). Il trattamento con la maggior parte dei farmaci utilizzati nelle forme infiammatorie, come FANS, steroidi, colchicina e talidomide sono risultati inefficaci. Anche la terapia con simvastatina che ha come razionale il ruolo esercitato dalla mevalonatochinasi nella produzione di colesterolo ed isoprenoidi, si è dimostrata poco efficace nella maggior parte dei casi trattati. Incoraggianti risultati si hanno col recente ricorso a farmaci anti-IL-1 come l'anakinra ed il canakinumab. (12)

### **3. Sindrome periodica associata al recettore per il TNF $\alpha$ . (TRAPS).**

E' la seconda più comune AID, autosomica dominante, per una mutazione del gene localizzato sul braccio corto del cromosoma 12, che codifica per il recettore 55kDa del TNF $\alpha$  (TNFR1). Il TNFR1 è un recettore tran-

smembrana che possiede quattro domini ricchi di cisteina, e un dominio intracellulare. In condizioni normali solo una piccola parte di TNFR1 viene espressa sulla superficie cellulare, mentre la maggior parte rimane immagazinata all'interno dell'apparato di Golgi. In seguito al legame di questo recettore con il TNF $\alpha$  si verifica attivazione del NF-Kb (13) altro complesso di proteine che a livello intracellulare condiziona la produzione di citochine pro-infiammatorie. Esistono più di 100 mutazioni e le varianti che interessano i residui di cisteina determinano forme di malattia più severa e amiloidosi. La malattia esordisce molto precocemente, in genere prima dei 10 anni, ma l'arco di esordio è molto ampio potendo oscillare da un anno a 60. La febbre è elemento sempre presente, è elevata e dura più a lungo delle altre AID potendo superare le due settimane. I dolori addominali sono frequenti (70%) e in molti casi simulano l'addome acuto come nella FMF. Il 14% di TRAPS si complica con l'amiloidosi. Nella TRAPS sono state segnalate manifestazioni oculari, come congiuntivite e uveite anteriore. La mialgia è presente in più della metà dei casi, con un dolore tipicamente migrante e spesso associato ad un rash eritematoso. Il difetto genetico che è alla base della malattia ha suggerito che il trattamento d'elezione è quello dei farmaci inibitori del TNF. L'etanercept in numerosi studi riduce ma non normalizza completamente gli attacchi. In molti centri si sono dimostrati efficaci i farmaci inibitori dell'IL-1, come l'anakinra e il canakinumab. Tuttavia anche con questi due farmaci sono stati segnalati insuccessi (14).

**4. PFAPA.** Nel gruppo delle febbri periodiche va considerata la sindrome definita come PFAPA (Periodic Fever Aphthous Stomatitis Pharyngitis and Adenitis), che benchè non sia una malattia monogenica è comunque la più comune forma di febbre periodica nel bambino. La sindrome ha il suo esordio prima dei 5 anni e si manifesta con una febbre elevata della durata di 4-7 gg, associata a faringite e adenite e nell'80% dei casi ad afte al cavo orale, senza infezioni alle vie aeree (15). L'attacco febbrile ricorre con intervalli che variano dalle due alle otto settimane e nell'intervallo il bambino mantiene una buona salute. La parziale somiglianza clinica con le altre febbri periodiche ha fatto ricercare anomalie genetiche in causa ma senza successo tanto che oggi si pensa sia una malattia poligenica, multifattoriale (16). Dalla presenza inoltre dell'attivazione di Th1 e differenziazione in CD4+ essa sembra possa essere espressione di un coinvolgimento dell'immunità adattativa. Durante l'attacco febbrile aumentano le proteine della fase acuta compresa la SAA, ma la diagnosi è prevalentemente

clinica. Un gruppo di studio presso l'Istituto G.Gaslini ha messo a punto uno score diagnostico utilizzando sei parametri con la realizzazione di un algoritmo che offre un supporto diagnostico con buona specificità e sensibilità nell'ambito della diagnostica delle febbri periodiche (17).

Malattia	Gene	Febbre	Cute	Occhio	Muscolo scheletrico	Intestino	Peculiarità	Terapia
<b>FMF</b>	MEFV AR	< 3gg	Eritema similierisipela	ND	Artrite Artralgie	Peritonite asettica	Peritonite Pleurite Dolore scrotale	Colchicina
<b>HIDS</b>	MKD AR	< 7 gg	Es. maculopapulare	Uveite (rara) Cataratta nella MA	Artralgia/Artrite Poliartrite non invasiva	Dolore addominale Vomito Diarrea	Incremento IgD Linfoadenopatia Ac. Mevalonico urinario	FANS Simvastatina Anti IL-1
<b>TRAPS</b>	TNFRSF1A AD	>7 gg	Eritema erisipeloide	Edema periorbitale Congiuntivite Uveite	Mialgie migranti	Dolore addominale Vomito Diarrea	Febbre durata > 7gg	Anti IL-1
<b>PFAPA</b>	Poligenica	<7 gg	Raramente Rash cutaneo	ND	Raramente dolori	ND	Linfoadenite Faringite Afte orali (60%)	CS Tonsillectomia

**Tab. 1. Gruppo delle sindromi delle febbri periodiche**

Legenda: ND= non documentato La PFAPA è l'unica forma di febbre periodica a genesi multifattoriale. CS=Steroidi; MA=Mevalonico Aciduria; AR=Autosomica Recessiva; AD= Autosomica Dominante.

## Le Criopirinopatie (tab.2)

Vengono definite così tre sindromi che hanno in comune mutazioni del gene NLRP3/CIAS1, che codifica per la criopirina: la Sindrome Familiare Autoinfiammatoria da Freddo, la Muckle Wells e la CINCA (Cronica Infantile, Neurologica Cutanea e Articolare Sindrome), chiamata anche NOMID (Sindrome infiammatoria Multisistemica ad esordio neonatale). Le sindromi vengono anche chiamate con l'acronimo CAPS (Cryopyrin Associated Periodic Syndromes). La mutazione NLRP3/CIAS1 determina una alterata struttura della criopirina, con anomala attività dell'inflammasoma, di cui la criopirina fa parte, e conseguente aumento dell'IL-1B (18). La FCAS e la Muckle Wells hanno un carattere familiare e si caratterizzano principalmente per crisi orticarioidi dopo esposizione al freddo, mentre la CINCA esordisce in epoca neonatale con sintomi che coinvolgono la cute, le articolazioni e il sistema nervoso. Pur essendo in causa le stesse mutazioni hanno un crescendo di gravità che va dalla FCAS, più lieve, alle altre due sindromi.

### **Sindrome familiare autoinfiammatoria da freddo (FCAS)**

È la forma più lieve, ad esordio nella prima infanzia, con episodi ricorrenti di febbre elevata, della durata inferiore alle 24h, che inizia dopo due ore dall'esposizione al freddo. Alla febbre, durante gli attacchi si associa nella totalità dei casi un rash orticariode urente (100%), polimialgia (96%), congiuntivite (84%), cefalea (58%) e congiuntivite (84%). Rarissima la complicità di amiloidosi.

### **Sindrome di Muckle Wells (MWS):**

Rispetto alla FCAS ha attacchi più frequenti e lunghi, che possono o no esser correlati a modificazione della temperatura ambientale. Alla febbre si associa dolore articolare, congiuntivite e rash cutaneo orticariode. In molti casi sono descritti episodi ricorrenti di sola artrite e congiuntivite. Descritti casi di meningite asettica e cefalea. Il danno più grave è rappresentato da una sordità neurosensoriale per danno dell'organo del Corti, come grave è la frequente complicità in amiloidosi.

### **Sindrome Infiammatoria ad esordio neonatale (NOMID)**

Sindrome cronica infantile neurologica, cutanea, articolare (CINCA): È la più severa delle criopirinopatie. È rara e sporadica. Si definisce per criteri clinici: orticaria neutrofila nella totalità dei pazienti, associata a febbre di basso grado, meningite asettica, artropatia, sintomi insorgenti nel corso della prima settimana di vita. Se non trattata evolve verso gravi danni. La meningite asettica porta ad un aumento della pressione del liquido spinale con idrocefalo, atrofia del cervello e papilledema cronico con danno del nervo ottico (19). Anche questa sindrome da una sordità neurosensoriale. Il paziente si presenta con una facies tipica dove la fronte è molto prominente. La maggior parte dei pazienti affetti, tre quarti circa, presenta un'artropatia deformante. In molti si osserva un'ossificazione patellare con iperacrescimento, segno patognomonico della NOMID. In considerazione dei meccanismi patogenetici alla base delle tre sindromi il trattamento con inibitori dell'IL-1 rappresenta lo standard (20). Mentre nella FCAS tale trattamento può portare ad una risoluzione della sintomatologia freddo-dipendente, nella Muckle Wells e nella NOMID può prevenire la progressione dei danni sui quali la terapia non può far nulla. Per tali malattie sono stati approvati i farmaci anti-IL-1 long acting, come il rilonacept e il canakinumab, e gli short acting, come

l'anakinra. Le dosi utilizzate per la FCAS sono inferiori a quelle utilizzate per MWS e NOMID (20, 21).

Malattia	Gene	Patogenesi	Febbre	Cute	Occhio	Muscolo scheletrico	Intestino	SN	Terapia
<b>FCAS</b>	NLRP3 AD	↑ IL-1B	Ricorrente	Esantema Urticarioide da freddo	Congiuntivite	Mialgia, artralgia	Nausea	Cefalea	Anti IL-1
<b>MWS</b>	NLRP3 AD	↑ IL-1B	Ricorrente	Esantema urticarioide da freddo	Congiuntivite, episclerite, papilledema	Monoartrite Mialgia Artralgie	Dolore addominale	Sordità neurosensoriale	Anti IL-1
<b>NOMID/ CINCA</b>	NLRP3 AD	↑ IL-1B	Intermittente	Esantema orticarioide	Congiuntivite Uveite Papilledema Amaurosi progressiva	Periostite Artropatia cronica Ingrossamento Patella Bassa statura	Epatosplenomegalia Durante attacchi	Ritardo mentale Cefalea Meningite asettica Sordità neurosensoriale Cecità	Anti il-1

**Tab. 2. Gruppo delle sindromi autoinfiammatorie da freddo (Criopirinopatie/CAPS)**

Legenda: AD=Autosomica Dominante; AR=Autosomica Recessiva; CAPS= Cryopyrin Associated Periodic Syndromes

### Sindromi autoinfiammatorie con prevalenti lesioni cutanee. (tab.3)

**S**ono AID che si manifestano con prevalenti lesioni cutanee. Queste hanno caratteristiche morfologiche ed istologiche che possono essere diverse da sindrome a sindrome. Sono lesioni granulomatose, o pustolose, o erisipeloidi, o ittiosiformi o psoriasiche o piogeniche.

**La sindrome di Blau**, inserita in questo gruppo, è una rara AID familiare in cui una mutazione del gene NOD2/CARD15, trasmessa con modalità autosomica dominante, determina un'attivazione del sistema NT-kB con conseguente aumento della produzione di IL-1B (22). Sono conosciute anche alcune forme sporadiche della mutazione che danno un fenotipo ad esordio molto precoce definito EOS (Early Onset Sarcoidosis). Clinicamente la sindrome si manifesta con artrite nella totalità dei pazienti. Nell'80% dei pazienti è descritto un esantema ittiosiforme, mentre quasi tutti presentano una poliartrite. Cronici e persistenti sono le patologie oculari, come la uveite, spesso panuveite, cataratta e glaucoma, La uveite non trattata può condurre a cecità. Non è stata definita una terapia ottimale e in genere il ricorso ad immunosoppressori (metotrexate, ciclosporina) o farmaci biologici mirati ad inattivare TNF o IL-1 hanno dato qualche risultato, soprattutto nel trattamento dell'uveite.

### **DITRA (Deficit di IL36 recettore antagonista)**

La mutazione in omozigosi del gene IL36RN da luogo ad una AID che nel 75% dei casi esordisce in età pediatrica, in un periodo che può oscillare dalla prima settimana di vita all'età di 11 anni. Clinicamente si manifesta con episodi ricorrenti di pustolosi generalizzata, o palmo-plantare accompagnati spesso a febbre e segni sistemici di infiammazione. (23) Fattori scatenanti possono essere infezioni virali o batteriche. Non vi è una terapia definitiva ed in diversi casi si è fatto ricorso ad acitretina, o regimi terapeutici con steroidi, ciclosporina, metotrexate.

### **CAMPS (Psoriasi pustolosa CARD14 mediata).**

La mutazione interessa il gene CARD14 che codifica per la caspasi e si trova prevalentemente nelle cellule della cute, soprattutto nei cheratinociti. La forma autosomica dominante si manifesta con una pitiriasi rubra pilaris, una psoriasi pustolosa o forme di artrite psoriasica (24).

### **PAPA (Piogenica Artrite, Pioderma Gangrenoso e Acne).**

Una mutazione autosomica dominante del gene PSTPIP1 è alla base di tale AID che si presenta con diverse varianti cliniche. La febbre è rara, mentre sono frequenti gli attacchi dolorosi di artrite deformante e ulcere cutanee. La PAPA persiste nell'età adulta e le deformità articolari che ne conseguono alterano di molto la qualità di vita. Segnalazione di casi isolati con osteomielite, otite ricorrente, linfadenopatia, anemia emolitica e trombocitopenia. Il trattamento con FANS, ciclosporina, talidomide, IVG endovena ha dato risposte individuali incostanti. Qualche risultato con antiTNF o anti IL-1, più efficaci comunque nel trattamento delle lesioni cutanee (25).

### **CANDLE (Cronica Atipica Neutrofilica Dermatosi con Lipodistrofia e Elevata Temperatura)**

Sindrome autoinfiammatoria molto rara dovuta ad una anomalia del funzionamento del sistema proteasoma, per mutazione di subunità del gene PSMB8. Ciò porta ad un malfunzionamento nella secrezione di interferon  $\alpha$  con sua elevata produzione che realizza sintomi quali una atipica dermatosi neutrofila con tendenza alla lipodistrofia, contrattura ed atrofia muscolare, febbre elevata ricorrente con rash cutaneo violaceo, anemia microcitica. La malattia viene anche considerata tra le interferonopatie. Nessun trattamento è risultato efficace. Utile sembra essere un inibitore della JAK, il baricitinib (26).

Malattia	Gene	Patogenesi	Febbre	Cute	Occhio	Muscolo scheletrico	Peculiarità	Terapia
<b>BLAU</b>	NOD2/CARD15 AD	Attivazione NF-KB	Occasionale	Esantema Ittiosiforme Lesioni granulomatose	Uveite cronica Cataratta Glaucoma Amaurosi	Poliartrite Tenosinovite ipertrofica	Artrite Uveite	CS, MTX, AZA, anti-TNF
<b>DITRA</b>	IL36RN AR	IL-36+ IL 17	Attacchi con febbre	Pustolosi generalizzata	ND	ND	Febbre elevata	CS, CSA, retinoidi Anti TNF
<b>CAMPS</b>	CARD14 AD	IL17/IL 23	Occasionale	Psoriasi pustolosa	ND	ND	Psoriasi pustolosa Psoriasi a placche	Anti-IL1
<b>CANDLE/PRAAS</b>	PSMB8 (AR)/PSMA3/ PSMB4/PMSB10 AD/AR	Mediato IFN	Spesso continua	Esantema nodulare Pannicolite Lipodistrofia	Edema palpebrale	Miosite, artrite, Artralgie	Lipodistrofia	

Tab. 3. *Sindromi autoinfiammatorie con prevalenti lesioni cutanee.*

#### Sindromi autoinfiammatorie con prevalente lesioni ossee (tab. 4)

**S**ono sindromi autoinfiammatorie che si contraddistinguono per un esordio con manifestazioni osteomielitiche di natura non batterica, tanto da esser definite anche come NBO (Non Batterica Osteomielite). Rappresentano anche esse difetti dell'immunità innata, in assenza di segni di autoimmunità, con ricorrenti episodi di attacchi dolorosi alle ossa lunghe o assiali, con o senza febbre, dovute alla presenza di irregolari foci osteolitici con sclerosi in differenti momenti di sviluppo, ben evidenziabili con la diagnostica per immagini.

#### CRMO

Studi genetici hanno evidenziato mutazioni a carico di diversi geni (LPIN2, Pstpip2, IL1RN e FBLIM1) coinvolti nell'assemblaggio del NLRP3 che porta alla formazione di IL-1B. I segni clinici si sovrappongono a quelli della SAPHO, che ha le medesime mutazioni ed oggi alcuni ritengono che la CRMO è la forma ad insorgenza pediatrica della stessa SAPHO più tipica dopo l'adolescenza. La malattia esordisce con un dolore insidioso e acuto, in genere afebrile, nella zona interessata che può presentarsi tumefatta. L'età media di esordio è i 10 anni, ma il range di esordio varia dai 4 ai 55 anni, con un tempo medio per la diagnosi di 18 mesi. Le lesioni ossee, evidenziabili alla TC o alla RM non sono distinguibili dalla osteomielite batterica, con lesioni osteolitico/sclerotiche. Dal 20 all'80% dei casi possono esser presenti lesioni cutanee come psoriasi, pustolosi palmoplantare, e nel 10% è stato descritto un morbo di Crohn. I sintomi sono sovrapponibili a quelli della SAPHO, in cui le manifestazioni cutanee (psoriasi, pustolosi, acne, pioderma gangrenoso-

so) sono più evidenti e gravi (27). Nella ricerca diagnostica importante TC e RM, la ricerca di ANA e HLB27 (positivo in alcuni casi) e la biopsia ossea con coltura. Utile il T test per la tubercolosi.

### Deficit di antagonista recettore IL-1 (DIRA)

Autosomica recessiva determinata da una mutazione del gene IL1RN che codifica per il recettore antagonista IL-1 (IL-1RA). Si caratterizza per il precoce esordio di una dermatite pustolosa e/o di una osteomielite multifocale con periostite. Questa, radiologicamente, si caratterizza per un allargamento delle costole e delle clavicole, con zone di osteolisi che colpiscono le ossa lunghe. La dermatite ha un carattere ittiosiforme e può essere generalizzata. La febbre può essere assente, ma se presente è lieve e spesso associata ad infezione delle manifestazioni cutanee. La terapia con anakinra si è dimostrata molto efficace, portando a rapida risoluzione dei sintomi prevenendo sia la ricorrenza delle lesioni ossee che cutanee. (28, 29).

### Sindrome Majeed

Malattia piogenica autoinfiammatoria, autosomica recessiva per mutazioni del gene LPIN2. Si caratterizza fondamentalmente per una osteomielite multifocale ad esordio neonatale (clavicole, sterno e ossa lunghe), associata spesso a dermatosi neutrofila e anemia diseritropoietica. Discreta risposta a cortisonici, fans, interferon gamma e farmaci anti-TNF. L'efficacia di mostrata in alcuni casi con anti-IL1 (anakinra) fa pensare che la via biomolecolare coinvolta è quella che porta all'IL-1B (30).

Malattia	Gene	Patogenesi	Febbre	Cute	Articolazioni Osso	Intestino	Peculiarità	Terapia
CRMO	Sporadica	?	Lieve	Pustolosi palmoplantare Acne	Osteomielite Artrite	IBD nel 20%	Crohn nel 20%	FANS, CS, AntiTNF- AntiIL1
SAPHO	Sporadica	?	Incostante	Pustolosi Acne Psoriasi	Osteomielite Artrite	IBD nel 10%	Crohn nel 10%	FANS, CS, AntiTNF, Anti IL1
MAJEED	LPIN2	Attivazione NLRP3	Periodica per 3-4 gg	Dermatosi neutrofilica	Osteomielite multifocale ad insorgenza neonatale		Febbre periodica Anemia diseritropoietica	Anti IL1
DIRA	IL1RN	Deficit il-1 recettore antagonista	Assente	Rash pustoloso	Osteomielite multifocale neonatale		Esordisce prime due settimane di vita	Anti-IL1 Anakinra

**Tab. 4.** Sindromi autoinfiammatorie con prevalente lesione ossea (NBO)

Legenda: NBO= Non Bacterial Osteomyelitis; IBD=Inflammatory Bowel Disease; CS=Steroidei

## Sindromi autoinfiammatorie di recente individuazione (tab.5)

**N**ell tabella 5 sono inserite una serie di malattie autoinfiammatorie con indicate sinteticamente le loro caratteristiche. La loro identificazione è avvenuta nell'arco degli ultimi anni grazie alle tecniche di sequenziamento genico applicate a quei fenotipi che avevano similitudine con le AID descritte in precedenza, a volte per una sovrapposizione di sintomi clinici, a volte per un quadro clinico che non era spiegato da conoscenze già stabilizzate. Così sintomi quali lesioni cicatriziali cutanee, pneumopatie interstiziali, vasculopatie, afte oro-genitali, psoriasi pustolosa, artrite sono state le basi cliniche per la identificazione di tutta una nuova serie di malattie molto rare e di difficile diagnosi.

Malattia	Gene	Caratteristiche principali
EO-IBD	IL-10, IL10RA	Deficit di IL-10. Grave forma di Crohn ad esordio neonatale. Artrite
FCAS2	NLRP12	Rash orticarioide, artrite e febbre dopo esposizione al freddo
Deficit di ADA2	CECR1	Febbre ricorrente, stroke ad esordio precoce, ipogammaglobulinemia, vasculopatia
SAVI	TMEM173	Vasculopatia con poliartrite, pneumopatia interstiziale
COPA	COP $\alpha$	Poliartrite ad esordio precoce, pneumopatia interstiziale, glomerulonefrite
PLAID	PLC $\gamma$ 2	Orticaria da freddo, allergia, rash granulomatoso, tiroidite autoimmune, infezioni polmonari
APLAID	PLC $\gamma$ 2	Lesioni cutanee cicatriziali, epidermolisi bollosa infantile, cellulite, pneumopatia interstiziale aspecifica, uveite, malattia di Crohn
NAIAD	NLRP1	Febbre ricorrente con indici infiammatori elevati, artrite e manifestazioni autoimmuni
ORAS	FAM105B	Episodi febbrili ad esordio neonatale, diarrea, dermatite/panniculite, ritardo di crescita

Tab. 5. Sindromi autoinfiammatorie di recente individuazione

## Diagnosi

**L**a rarità della gran parte delle malattie autoinfiammatorie (alcune descritte in pochissimi casi), la sovrapposizione di segni e sintomi clinici tra queste e patologie più conosciute in cui dominano i sintomi infiammatori, come la difficoltà ad attivare indagini biomolecolari in determinate sedi, rendono la diagnosi molto difficile, e in molti casi ci si arriva dopo anni dall'esordio della malattia, cosa che può rendere problematico modificare il decorso anche con terapia appropriata. Mentre per le classiche febbri periodiche si ha oggi maggiore contezza e conoscenza, anche perché meno

rare delle altre e conosciute da più tempo (FMF, TRAPS, PFAPA, CAPS), per altre il percorso diagnostico è più irto di ostacoli. L'anamnesi deve evidenziare familiarità e provenienza geografica. L'epoca di esordio della malattia può essere di aiuto. Alcune malattie esordiscono già in epoca neonatale (CINCA/NOMID, Sindrome di Majeed, la CANDLE, la Aicardi -Gutierrez, la DIRA). Altre nei primi 5 anni, come la TRAPS, la MKD, la PFAPA. Altre nella preadolescenza come la CRMO. Le indagini ematologiche evidenziano spesso un incremento degli indici di flogosi, elemento questo che non è molto di aiuto in quanto aspecifico. Qualche sindrome ha delle peculiarità che possono venire in aiuto, come nella HIDS, dove nel corso dell'episodio febbrile si riscontrano alti livelli di IgD e presenza di ac. mevalonico nelle urine. Sono quindi diagnosi basate inizialmente sulla esclusione di altre patologie, che nella tab.6 vengono prese in considerazione. In alcuni casi, come nelle febbri periodiche, è possibile far ricorso ad algoritmi (fig.1) o a score come quello ideato dal gruppo di studio dell'ist. Gaslini, o all'associazione di criteri clinici, maggiori e minori, come nel modello del Tel Hashomer (31) per la FMF (tab.7), o quello per la CRMO (tab.8). La diagnosi definitiva comunque è riposta nell'individuazione della mutazione genica responsabile. Nella Tab. 9 vengono riportate le più evidenti manifestazioni cliniche e le AID relative, con le indagini che ne definiscono in termini oggettivi la diagnosi.

Malattie infettive	Infezioni ricorrenti vie aeree Infezioni ricorrenti vie urinarie Infezioni batteriche (TBC, Brucellosi, Borrelia) Malattie Parassitarie (Malaria, toxoplasmosi) Infezioni virali (EBV) Osteomieliti batteriche Ascessi Endocarditi
Deficit immunitari congeniti	Immunodeficienze primitive Neutropenia ciclica
Malattie infiammatorie multifattoriali	Malattia di Behcet Lupus Eritematoso Sistemico Malattia di Crohn
Malattie neoplastiche	Leucemia linfoblastica acuta Leucemia mieloide acuta Linfoma Tumori ossei

**Tab. 6.** Cause di febbre ricorrente del bambino in diagnosi differenziale con le sindromi autoinfiammatorie..

<b>Criteri Maggiori</b>	1) Accessi febbrili ricorrenti + peritonite asettica o sinovite o pleurite
	2) Amiloidosi di tipo AA in assenza di fattori o malattie predisponenti
	3) Buona risposta al trattamento con colchicina
<b>Criteri Minori</b>	a) Episodi ricorrenti febbrili
	b) Lesioni simil erisipeloidi
	c) Familiarità FMF
Diagnosi: 2 criteri maggiori o 1 maggiore e 2 minori (alta probabilità), 1 maggiore e 1 minore (bassa probabilità)	

**Tab. 7.** Criteri del gruppo di Tel Hashomer (31) per la diagnosi clinica di FMF.

<b>Criteri Maggiori</b>	Lesioni osteolitico-sclerotiche a TC e /o RM
	Lesioni ossee multifocali
	Pustolosi palmoplantare o dermatosi neutrofilica
	Osso sterile a biopsia e sclerosi istologica
<b>Criteri Minori</b>	Normale emocromo
	PCR e VES elevate
	Condizioni generali buone
	Sintomi che durano più di 6 mesi
	Iperostosi
<b>Diagnosi sospetta</b> : più di 2 segni maior o uno maior e più di 3 minor	

**Tab. 8.** Criteri clinico-radiologici per la diagnosi di CRMO.

<b>Clinica</b>	<b>AID</b>	<b>Indagini</b>
Episodi ricorrenti di infiammazione e febbre	FMF(MEFV,AR)	Score Gattorno
	TRAPS (TNFRSF1A,AD)	Indagine genetica
	MVK (MVK,AR)	
Infiammazione sistemica con rash urticarioide	CINCA/NOMID (NLRP3,AD)	Indagine genetica
	Muckle-Wells/FCAS (NLRP3,AD)	
Infiammazione sterile di pelle/ossa/articolazioni	PAPA (CD2BP1, AD)	Indagine genetica
	DIRA (IL1RN, AR)	RM
	Majeed Syndrome (LPIN2,AR)	Biopsia ossea
	CAMPS (CARD14,AD)	Biopsia cutanea
	Blau's syndrome (CARD15,AD)	
Pannicolite/lipodistrofia	CANDLE syndrome (PSMB8,AR)	Biopsia cutanea
		Indagine genetica
Malattia di Chron	IBD precoce (IL10,IL10RA,IL10RB)	RM
		Endoscopia digestiva

**Tab. 9.** Presentazione clinica AID e indagini diagnostiche consigliate

Legenda= vedi glossario. AD=Autosomica Dominante AR= Autosomica Recessiva Quasi tutte le malattie presentano nelle fasi critiche livelli elevati di Leucociti neutrofili, CRP, VES, SAA. SAA particolarmente elevate nella FMF, nella TRAPS.

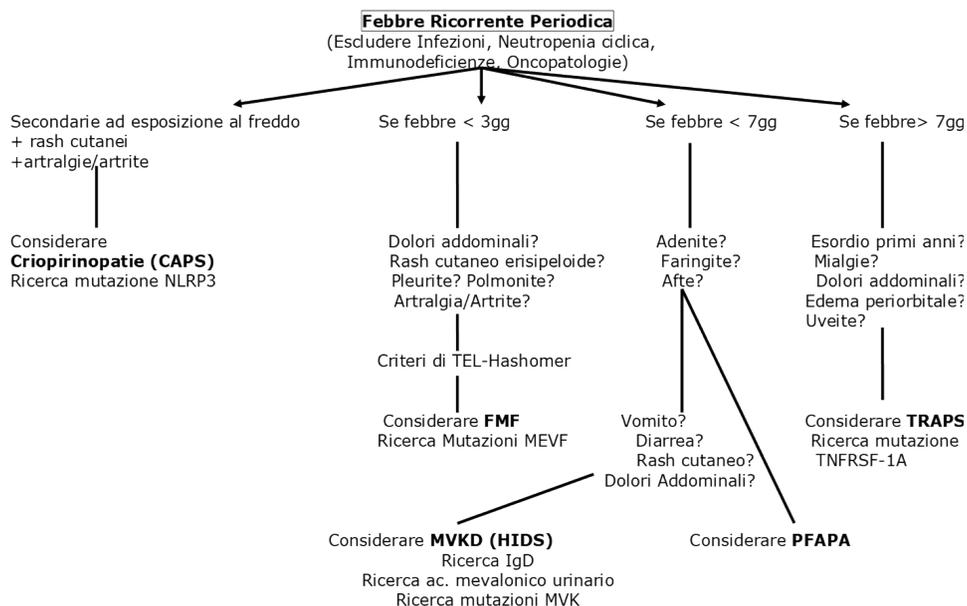


Fig. 1. Algoritmo diagnostico.

Farmaco	Nome commerciale	Meccanismo	Posologia	Efficacia Massima	Poca efficacia	Effetti collaterali
<b>Etanercept</b>	Embrel	Ipedisce il legame di TNF con i recettori di membrana	0,8 mg/Kg/sett sc	AIG non sistemica	FMF non responsiva colchicina	Suscettibilità infezioni Reazioni locali Dubbi su tumori
<b>Infliximab</b>	Remicade	Si lega al TNF circolante e a quello di membrana	3-6 mg/kg ogni 8 settimane e.v.	M. di Crohn No AIG	Blau PAPA CAMPS	Reazioni allergiche Shock
<b>Adalimumab</b>	Humira	Simile ad Infliximab	24 mg/mq ogni 2 settimane sc	AIG poliarticolare	Blau	Reazioni allergiche
<b>Anakinra</b>	Kineret	Antagonista ricombinante	1 mg/kg/die	AIG sistemica CAPS DIRA	MVK Blau Majeed	Reazioni locali
<b>Canakinumab</b>	Ilaris	Blocca selettivamente Il-1B	2 mg/Kg ogni 8 settimane	CAPS	TRAPS MVK	Infezioni Citopenie Reazioni allergiche

Tab. 9. Farmaci biologici nel trattamento delle sindromi autoinfiammatorie.

---

## Conclusioni

**L**e sindromi autoinfiammatorie sono patologie monogeniche rare, in cui vengono coinvolte diverse vie che nel citosol delle cellule dell'immunità innata presiedono al controllo delle interleuchine pro-infiammatorie. Sono malattie la cui origine genetica è stata quasi in tutte dimostrata in anni relativamente recenti mediante le più moderne e sofisticate tecniche di analisi genetica, la quale permettono di arricchire sempre più il bagaglio di conoscenze come di scoprire nuove malattie. Le AID sono malattie che si esprimono classicamente con il coinvolgimento di molti organi e tessuti per cui la loro gestione non può prescindere da un coinvolgimento multidisciplinare (genetista, cardiologo, dermatologo, neurologo, reumatologo, nefrologo, ecc.) e da una organizzazione assistenziale dedicata. Un grande supporto nell'approccio terapeutico oggi viene offerto dai farmaci biologici, soprattutto quelli che agiscono nel blocco del TNF o dell'IL-1, con risultati stupefacenti per molte delle AID. La tab.10 riporta i farmaci biologici più utilizzati nella terapia con brevi cenni sulle loro caratteristiche e sulle AID in cui hanno dato maggiori risultati. È tuttavia anche vero che medesimi risultati non si hanno in tutti i casi, anche con la medesima sindrome autoinfiammatoria, facendo presupporre che ancora molto abbiamo da scoprire nei meccanismi endocellulari che regolano l'immunità innata.

## **Bibliografia**

Booth Dr., Gillmore JD, Lachmann HJ, Both SE, Bybee A., Soyuturk M.: The genetic basis of autosomal dominant familial Mediterranean fever. *QJM* (2000)93(4):217-21

Chae JJ, Wood G, Masters SL, Richard K, Park G, Smith BJ, et al. The B30.2 domain of pyrin, the familial Mediterranean fever protein, interacts directly with caspase-1 to modulate IL-1beta production. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2006; 103(26):9982-7

Fonnesu C, Cerquaglia C, Giovinale M, Curigliano V, Verrecchia E, de Socio G, et al. Familial Mediterranean Fever: a review for clinical management. *Joint, bone, spine: revue du rhumatisme*. 2009; 76(3):227-33.

Simon A, van der Meer JW, Drenth JP. Familial Mediterranean fever--a not so unusual cause of abdominal pain. *Best practice & research Clinical gastroenterology*. 2005; 19(2):199-213.

Touitou I, Sarkisian T, Medlej-Hashim M, Tunca M, Livneh A, Cattan D, et al. Country as the primary risk factor for renal amyloidosis in familial Mediterranean fever. *Arthritis and rheumatism*. 2007; 56(5):1706-12.

Hashkes PJ, Spalding SJ, Giannini EH, Huang B, Johnson A, Park G, et al. Riloncept for colchicine-resistant or -intolerant familial Mediterranean fever: a randomized trial. *Annals of internal medicine*. 2012; 157(8):533-41.

Houten SM, Kuis W, Duran M, de Koning TJ, van Royen-Kerkhof A, Romeijn GJ, et al. Mutations in MVK, encoding mevalonate kinase, cause hyperimmunoglobulinaemia D and periodic fever syndrome. *Nature genetics*. 1999; 22(2):175-7.

Vuch J., Marcuzzi A., Bianco AM., Tommasini A., Zanin V., Crovella S.: Evolutionary hypothesis of the mevalonate kinase deficiency. *Med. Hypotheses* 2013, 80(1):67-9

Haas D, Hoffmann GF. Mevalonate kinase deficiencies: from mevalonic aciduria to hyperimmunoglobulinemia D syndrome. *Orphanet journal of rare diseases*. 2006:1-13.

Saulsbury FT. Hyperimmunoglobulinemia D and periodic fever syndrome (HIDS) in a child with normal serum IgD, but increased serum IgA concentration. *The Journal of pediatrics*. 2003; 143(1):127-9.

van der Hilst JC, Bodar EJ, Barron KS, Frenkel J, Drenth JP, van der Meer JW, et al. Long-term follow-up, clinical features, and quality of life in a series of 103 patients with hyperimmunoglobulinemia D syndrome. *Medicine*. 2008; 87(6):301-10

Galeotti C, Meinzer U, Quartier P, Rossi-Semerano L, Bader-Meunier B, Pillet P, et al. Efficacy of interleukin-1-targeting drugs in mevalonate kinase deficiency.

Rheumatology (Oxford). 2012; 51(10):1855–9.

Aksentijvich I, Galon J., Soares M., Mansfield E. hull K., Oh HH.: The Tumor Necrosis Factor receptor associated Periodic syndrome: new mutation in TNFRSF1A, ancestral origins, genotype-phenotype studies and evidence for further genetic heterogeneity of periodic fevers. *Am J Med Gen* 2001, 69:301-14

Glaser RL, Goldbach-Mansky R. The spectrum of monogenic autoinflammatory syndromes: understanding disease mechanisms and use of targeted therapies. *Current allergy and asthma reports*. 2008; 8(4):288–98.

Marshall GS. Prolonged and recurrent fevers in children. *J Infect* 2014; 68(Suppl. 1): S83–93.

Stojanov S, Lapidus S, Chitkara P, Feder H, Salazar JC, Fleisher TA, et al. Periodic fever, aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis (PFAPA) is a disorder of innate immunity and Th1 activation responsive to IL-1 blockade. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108: 7148–53.

Gattorno M, SormaniMP, D’Osualdo A, Pelagatti MA, et al: A diagnostic score for molecular analysis of hereditary autoinflammatory syndromes with periodic fever in children. *Arthritis Rheumat*. 2008; 58(6):1823-32

Feldmann J., Prieur AM, Quartier P., Berquin P., Certain S, Cortis E.: Chronic infantile neurological cutaneous and articular syndrome is caused by mutations in CIAS1, a gene highly expressed in polymorphonuclear cells and chondrocytes. *Am. J Human Genet*. (2002) 71(1):198-203

Hawkins PN, Lachmann HJ, Aganna E, McDermott MF. Spectrum of clinical features in Muckle- Wells syndrome and response to anakinra. *Arthritis and rheumatism*. 2004; 50(2):607–12.

Sibley CH, Plass N, Snow J, Wiggs EA, Brewer CC, King KA, et al. Sustained response and prevention of damage progression in patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease treated with anakinra: a cohort study to determine three- and five-year outcomes. *Arthritis and rheumatism*. 2012; 64(7):2375–86.

Neven B, Marvillet I, Terrada C, Ferster A, Boddaert N, Couloignier V, et al. Long-term efficacy of the interleukin-1 receptor antagonist anakinra in ten patients with neonatal-onset multisystem inflammatory disease/chronic infantile neurologic, cutaneous, articular syndrome. *Arthritis and rheumatism*. 2010; 62(1):258–67.

Alonso D, Elgart GW, Schachner LA. Blau syndrome: a new kindred. *Journal of the American Academy of Dermatology*. 2003; 49(2):299–302.

Marrakchi S, Guigue P, Renshaw BR, Puel A, Pei XY, Fraitag S, et al. Interleukin-36-receptor antagonist deficiency and generalized pustular psoriasis. *The New England journal of medicine*. 2011; 365(7):620–8.

Jordan CT, Cao L, Roberson ED, Duan S, Helms CA, Nair RP, et al. Rare and common

variants in CARD14, encoding an epidermal regulator of NF-kappaB, in psoriasis. *American journal of human genetics*. 2012; 90(5):796–808.

Smith EJ, Allantaz F, Bennett L, Zhang D, Gao X, Wood G, et al. Clinical Molecular, and Genetic Characteristics of PAPA Syndrome: A Review. *Current genomics*. 2010; 11(7):519–27.

Liu Y, Ramot Y, Torrelo A, Paller AS, Si N, Babay S, et al. Mutations in proteasome subunit beta type 8 cause chronic atypical neutrophilic dermatosis with lipodystrophy and elevated temperature with evidence of genetic and phenotypic heterogeneity. *Arthritis and rheumatism*. 2012; 64(3):895–907.

Wipff J, Adamsbaum C., Kahan A., Job-Deslandre C.: Chronic recurrent multifocal osteomyelitis. *Joint Bone Spine* 2011 78(6):555-60

Aksentjevich I, Masters SL, Ferguson PJ, Dancey P, Frenkel J, van Royen-Kerkhoff A, et al. An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist. *The New England journal of medicine*. 2009; 360(23):2426–37.

Reddy S, Jia S, Geoffrey R, Lorier R, Suchi M, Broeckel U, et al. An autoinflammatory disease due to homozygous deletion of the IL1RN locus. *The New England journal of medicine*. 2009; 360(23):2438–44

Ferguson PJ, Chen S., Tayeh MK, Ochoa L., Pelet A.: Homozygous mutations in LPIN2 are responsible for the syndrome of chronic multifocal osteomyelitis and congenital dyserythropoietic anaemia (Majeed syndrome). *J. Med. Genet*. 2005 (42) 551

Livneh A., Langevitz p., Zemer D. et al. Criteria for the diagnosis of Familial Mediterranean Fever. *Arthritis Rheum*. 1997 40(10):1879-85



## MALATTIE RARE IN GASTROENTEROLOGIA PEDIATRICA

*Annarita Bongiovanni e Claudio Romano*

**L**e malattie rare sono definite patologie ampiamente eterogenee cronicamente debilitanti o che comportano un pericolo di vita (1). L'epidemiologia varia da 1 caso / 1.000.000 di persone fino a 150 casi / 100.000 (2). Nell'ambito delle malattie rare, si riscontrano numerose patologie di tipo gastroenterologico, quali: la colangite primitiva sclerosante, l'acalasia esofagea, la gastroenterite eosinofila, la linfangiectasia intestinale, la sindrome da pseudo-ostruzione intestinale, la celiachia, le colangiopatie genetiche eredo/familiari, la malattia policistica epatica, le atologie epatiche da accumulo (Malattie di Wilson, Emocromatosi) e le poliendocrinopatie autoimmuni (Gastrite autoimmune).

### La celiachia

**L**a celiachia colpisce gli individui geneticamente predisposti, portatori dell'HLA DQ2, +/- DQ8 con una prevalenza di circa l'1% della popolazione generale (3). La prevalenza è globalmente aumentata, infatti da patologia rara ormai si classifica come patologia cronica molto diffusa. È una patologia sistemica autoimmune dovuto a una disregolazione della risposta immune verso il glutine e le prolamine correlate, caratterizzata da un rimodellamento della mucosa del piccolo intestino fino all'atrofia dei villi (4). I sintomi gastrointestinali più comuni sono perdita di peso, diarrea, distensione addominale e dolore addominale. I sintomi gastrointestinali della presentazione non classica includono vomito, anoressia, stipsi, alternanza dell'alvo. Le manifestazioni extra intestinali rappresentano la sintomatologia d'esordio più comune. La bassa statura, interessa circa il 10-40% dei pazienti pediatrici al momento della diagnosi (5). Altre manifestazioni extra-intestinali sono pubertà ritardata, anemia, ipertransaminasemia, osteopenia e osteoporosi, cefalea, stomatite aftosa, alopecia, dermatite erpetiforme.

### Diagnosi

Il dosaggio delle IgA totali e degli anticorpi anticorpi antitransglutaminasi (tTG IgA) rappresentano le indagini da eseguire nel sospetto di celiachia. Il test delle anti-tTG è altamente sensibile e specifico. La diagnosi può essere posta senza la biopsia intestinale secondo il protocollo ESPGHAN 2012 nei bambini al di sotto dei 3 anni con livelli di IgA anti-tTG ad alto titolo ( $>10\times$  del valore di normalità), sieropositività per gli anticorpi antiendomio e con la presenza di HLA predisponente HLA-DQ2 or HLA-DQ8 (6).

L'esclusione del glutine dalla dieta è in atto l'unica terapia efficace. Non esiste alcuna alternativa farmacologica capace di sostituire la dieta priva di glutine (7).

## Patologie del tratto gastroenterico superiore

### Esofagite eosinofila

L'esofagite eosinofila (EoE) è una patologia cronica infiammatoria, isolata all'esofago, e caratterizzata dai sintomi di disfunzione esofagea quali disfagia, bolo alimentare a livello esofageo e riscontro di infiltrazione prevalentemente eosinofila alla biopsia esofagea 8. È importante che altre cause sistemiche o locali di ipereosinofilia esofagea dovrebbero essere escluse. L'esofagite eosinofila si può manifestare a qualunque età, con un picco di incidenza nei bambini, adolescenti e adulti con età inferiore ai 50 anni.

### Epidemiologia

L'incidenza dell'esofagite eosinofila è in costante incremento e varia ampiamente da 1 ai 20 nuovi casi per 100.000 abitanti per anno. La prevalenza si aggira tra i 13-49 casi per 100.000 abitanti. È più frequente nei maschi che nelle femmine (3:1) (9). L'età media al momento della diagnosi varia tra i 5,4-9,6 anni nei bambini (10).

### Sintomatologia

La sintomatologia varia in base all'età di insorgenza del paziente. Alcuni pazienti presentano sintomi cronici, altri in modo intermittente, rimanendo asintomatici per lunghi periodi (9). Il ritardo di diagnosi può raggiungere i 3-5 anni in particolare se la patologia si manifesta progressivamente (11-12). Nei bambini in età prescolare, il rifiuto del cibo è frequente ed insieme con vomito, irritabilità, e dolore addominale può determinare perdita di peso e scarsa crescita. Nei bambini in età scolare, si evidenzia il rifiuto del cibo, difficoltà ad introdurre nuovi alimenti nella dieta, la preferenza per diete liquide e cibi di consistenza morbida, e la tendenza a essere "slow eaters".

Nei pazienti adolescenti, come nei pazienti adulti, la disfagia e l'impatto del cibo costituiscono i segni d'allarme. Altri sintomi associati sono dolore toracico, rigurgiti ed epigastralgia. Anche questi pazienti mantengono una preferenza per cibi di consistenza morbida e introito di liquidi, tendendo ad avere una dieta poco varia, e possono mostrare paura ed ansia al momento dei pasti (13-14).

## Diagnosi

La diagnosi è basata sulla presenza dei seguenti criteri:

1. Sintomi di disfunzione esofagea;
2. Presenza di  $\geq 15$  eosinofili in almeno un campo ad alto ingrandimento (HPF) riscontrato in uno o più prelievi di mucosa esofagea;
3. Escludere altre cause di eosinofilia esofagea.

L'endoscopia superiore con biopsie esofagee multiple deve essere il primo step nell'approccio diagnostico ai pazienti con sospetta esofagite eosinofila così come nei pazienti affetti da disfagia. L'endoscopia dei pazienti con sospetta EoE può evidenziare aspetti estremamente eterogenei. È possibile osservare un'endoscopia completamente normale oppure segni di infiammazione attiva come edema della mucosa (pallore a causa della ridotta trama vascolare), presenza di essudati (placche biancastre), solchi o segni di infiammazione cronica con rimodellamento tissutale con l'aspetto ad esofago "trachealizzato", stenosi o mucosa "crêpe-paper" (fragilità della mucosa).

Talvolta questi modelli differenti possono anche coesistere nello stesso paziente. Il 16-24% dei pazienti con disfagia possono presentare un quadro endoscopico completamente normale. La distribuzione dell'ipereosinofilia esofagea può essere discontinua o "a carta geografica", per cui è indispensabile eseguire biopsie multiple in differenti parti dell'esofago per la diagnosi. È necessario eseguire almeno 2-4 biopsie a livello dell'esofago distale e 2-4 biopsie a livello dell'esofago prossimale per confermare la diagnosi EoE nel 97% dei pazienti (15). Lo studio allergologico è raccomandato a tutti i pazienti, poiché esiste una stretta associazione tra l'esofagite eosinofila e l'atopia. L'associazione con rinite, asma, eczema, o allergia alimentare IgE-mediata è presente rispettivamente nel 70, 40, 30, e 50% dei casi.

## Trattamento

Il trattamento di prima linea è costituito sugli inibitori di pompa protonica, steroidi topici e il trattamento dietetico.

Il primo step nel trattamento dovrebbe essere costituito dagli inibitori di pompa protonica (PPI). Nei pazienti che falliscono la risposta con i PPI, il secondo step dovrebbe essere la dieta di eliminazione o i corticosteroidi topici. I più comunemente usati solo il fluticasone propionato per via inalatoria e la budesonide. La somministrazione viscosa orale di budesonide presenta una migliore remissione istologica piuttosto che la formulazione inalatoria,

poiché aumenta il tempo di contatto con la mucosa esofagea. L'obiettivo del trattamento dietetico è di indurre la remissione dell'esofagite eosinofila. Le tre possibili strategie per il trattamento dietetico sono: la dieta elementare, la dieta di eliminazione basata sui test allergici, e l'eliminazione empirica di antigeni dietetici più comuni che include l'eliminazione di sei, di quattro o di due alimenti. Inizialmente sarà stabilita una dieta di eliminazione per sei settimane. L'eliminazione empirica è basata sull'eliminazione di un gruppo di sei alimenti (latte, grano, soia/legumi, uova, nocciole, pesce/crostacei). L'efficacia del trattamento dovrebbe essere confermata dopo 6-12 settimane con un follow-up endoscopico. La dilatazione endoscopica è usata per i pazienti con severa disfagia/ impatto del cibo con inadeguata risposta al trattamento antiinfiammatorio.

### Nuove terapie

La terapia biologica (anticorpi monoclonali) non ha mostrato efficacia clinica significativa nel trattamento dell'esofagite eosinofila. Il trattamento con l'anticorpo Reslizumab, anti IL-5, ha indotto un miglioramento istologico ma non clinico (16). Il Mepolizumab, anticorpo anti-IL5, non ha eradicato gli eosinofili né nei bambini né negli adulti(17). Il Dupilumab (anti-IL-4), è ancora sotto sperimentazione. L'Omalizumab (l'anticorpo monoclonale umanizzato anti-IgE) è efficace nelle gastriti e duodeniti eosinofiliache, ma non nelle esofagiti eosinofile severe. In atto, ricerche su anticorpi anti-IL13 stanno mostrando promettente risultati sugli adulti, che dovranno essere confermati presto in età pediatrica.

---

## Le malattie infiammatorie croniche intestinali

**L**a malattia di Crohn (MC) e la colite ulcerosa (CU) rappresentano le più comuni malattie infiammatorie croniche intestinali: la malattia di Crohn coinvolge l'intero tratto gastrointestinale dalla bocca all'ano, mentre la colite ulcerosa interessa esclusivamente il colon. La MC è caratterizzata da lesioni discontinue attraverso il tratto gastrointestinale, granulomi, fistole e ulcere profonde e coinvolge l'ileo e la regione perianale, nei quadri più severi. La CU(18) coinvolge esclusivamente il colon, l'ulcerazione è continua e l'infiammazione è limitata alla mucosa sottomucosa. Esiste una terza categoria di M.I.C.I., la colite indeterminata, che presenta caratteri intermedi tra CU e MC.

## Epidemiologia

L'incidenza e la prevalenza delle malattie infiammatorie croniche intestinali è in aumento, e il 20-30% dei casi esordisce in un'età inferiore ai 20 anni. La patologia che esordisce in età pediatrica è associata ad una maggiore estensione, una più elevata attività ed un decorso più complicato rispetto all'esordio in età adulta.

## Sintomatologia

Le M.I.C.I. si presentano con una vasta gamma di sintomi, sia gastrointestinali che extraintestinali. La presentazione iniziale della colite ulcerosa è comunemente rappresentata dal dolore addominale ed ematochezia/rettorragia. La MC, invece, può presentarsi in modo più subdolo. Il bambino con la MC può avere una sintomatologia caratterizzata da dolore addominale ed ematochezia/rettorragia associati o meno perdita di peso, scarsa crescita, astenia, anemia o febbre. Le manifestazioni extra intestinali sono più comuni nella MC ed includono l'eritema nodoso, il granuloma piogenico, l'uveite, episclerite, artrite, e la colangite sclerosante(19).

## Diagnosi

Gli esami di routine includono l'emocromo, la funzionalità epatica, l'albumina, gli indici di flogosi (PCR e VES). La sensibilità e specificità dell'anemia e dell'aumento della VES come predittori delle M.I.C.I. sono rispettivamente del 83% e del 94%. (). La calprotectina fecale, markers infiammatorio fecale, può aiutare nella diagnosi differenziale; poiché la sua negatività correla con mucosal healing; mentre può essere elevata in altre svariate condizioni. Anche la sierologia ha un ruolo importante per giungere alla diagnosi. La positività degli anticorpi ASCA (anticorpi anti-Saccharomyces cerevisiae) IgA/IgG ha un'elevata prevalenza di malattia a livello ileale terminale o ileocecale; mentre i pazienti con positività per pANCA (anticorpi anti-citoplasma dei polimorfonucleati diretti contro la mieloperossidasi), presentano una pancolite o patologia a sinistra, risparmiando il coinvolgimento dell'ileo terminale. L'esecuzione di una colonscopia con ileoscopia retrograda ed esofagogastroduodenoscopia con esecuzione di biopsie multiple sono gli esami gold standard per porre la diagnosi.

## Trattamento

L'approccio per il trattamento delle M.I.C.I. può essere definito come "top down" o "step up." L'approccio "step-up" utilizza come farmaci gli amminosalicilati, antibiotici, o terapia nutrizionale e immunomodulatori, biologici o intervento chirurgico se sono presenti complicanze (stenosi). L'approccio "top-down" invece prevede utilizzo di farmaci biologici ed immunosoppressori alla diagnosi.

### Terapia di induzione

La terapia nutrizionale con utilizzo di formule per via orale in maniera esclusiva può essere utilizzata per 6-8 settimane per indurre la remissione, nei pazienti all'esordio con una recidiva di malattia.

Gli steroidi sistemici dovrebbero usati solo per indurre la remissione. Quando infatti i pazienti necessitano di steroidi per un tempo più prolungato per giungere alla remissione (> 6-8 settimane) o, quando vi è steroido-dipendenza, è da considerare uno step-up alla terapia, o valutare l'intervento chirurgico.

Gli amminosalicilati (mesalazia e salazopirina) possono essere usati per indurre la remissione nelle forme lievi-moderate della colite ulcerosa.

Il trattamento con farmaci biologici come gli inibitori del anti-TNF alpha (infliximab e adalimumab) è raccomandato per l'induzione della terapia in quadri severi. È preferita come prima scelta per i pazienti con malattia perianale fistolizzante, scarsa crescita, o manifestazioni extra-intestinali.

### Nuove terapie biologiche

Certolizumab, vedolizumab, and ustekinumab vengono utilizzati off-label o in trial clinici nei pazienti pediatrici affetti. Il Certolizumab, un anticorpo monoclonale anti- TNF- $\alpha$ , è usato come prima linea di trattamento o dopo il fallimento di altri anti-TNF, nei pazienti adulti con patologia di Crohn moderato-severo il Vedolizumab, un integrina umanizzata, è un'altra opzione terapeutica per indurre e mantenere la remissione nei pazienti adulti che non rispondono ad altri trattamenti.

### M.I.C.I. ad esordio precoce

Circa il 25% dei casi di M.I.C.I. si verificano durante l'infanzia, più comunemente diagnosticati durante i primi dieci anni di età. In circa il 15% dei pazienti, la diagnosi è posta prima dei 6 anni di età, con circa il 6% diagnosticati

ad un'età inferiore ai 3 anni(20). Questo sottogruppo di pazienti è definito M.I.C.I. ad esordio molto precoce e presenta delle differenze significative dal punto di vista clinico e del fenotipo. Hanno infatti patologia più severa non responsiva alle terapie convenzionali e talvolta si associa ad una immunodeficienza primitiva (forme monogeniche). Tra queste le principali sono:

- Le immunodeficienze combinate (SCID e CID) (21), il difetto immunitario interessa la funzione dei linfociti T e, direttamente o indirettamente, altre funzioni immunitarie. Si distinguono dalle M.I.C.I. classiche per la presenza di sintomi infiammatori cutanei e infezioni inusuali o gravi. La gravità del quadro è rilevata dall'arresto di crescita o dalla perdita di peso.
- La sindrome di Wiskott Aldrich (WAS) (22), malattia X linked-recessiva caratterizzata dalla classica triade di piastrinopenia con micropiastrine, eczema e infezioni ricorrenti più o meno gravi. In presenza di un lattante maschio con colite infiammatoria associata a piastrinopenia, indipendentemente dalla presenza di altre possibili spiegazioni del reperto ematologico (piastrinopenie alloimmuni), tale sindrome deve essere sempre sospettata.
- La Malattia Granulomatosa Cronica (23), è caratterizzata da infezioni gravi causate da germi intracellulari, come stafilococchi. A livello intestinale, la malattia riproduce le caratteristiche anatomopatologiche tipiche della malattia di Crohn da cui può essere distinta con molta difficoltà.
- IPEX, sindrome a trasmissione X-linked, caratterizzata da Immunodisregolazione (anemia emolitica autoimmune, piastrinopenia), poliendocrinopatia (diabete di tipo 1, tiroidite, alopecia), enteropatia autoimmune ed è per lo più secondaria a mutazioni del gene FOXP3 (24).
- Difetto di XIAP (25), sindrome causate da mutazioni a carico del gene BIRC4, caratterizzato da episodi ricorrenti di linfocitocitosi, con febbre elevata, linfoproliferazione e in un quinto dei casi con manifestazioni infiammatorie intestinali.
- Difetti a carico dell'IL-10 e dei suoi recettori, sono associati ad un'infiammazione severa intestinale, particolarmente una forma infantile o neonatale, con un fenotipo di enterocolite severa e malattia perianale.

Varie patologie autoimmuni/autoinfiammatorie sono state associate ad infiammazione intestinale nei bambini con M.I.C.I. ad esordio precoce. Queste includono la sindrome da deficit di mevalonato-kinasi, febbre Mediterranea familiare, la sindrome di Hermansky-Pudlak e la sindrome X-linked lymphoproliferativa (tipo 1 e tipo 2).

## Diarree intrattabili

**L**a diarrea è tipicamente definita come acuta, se presenta una durata fino alle 2 settimane, o cronica quando la diarrea persiste per un periodo maggiore delle 2 settimane. Storicamente, il termine di diarrea cronica dell'infanzia, indicava una diarrea della durata superiore alle 2 settimane con età di esordio inferiore ai 2 anni di vita, ed includeva i termini quali "diarrea intrattabile o protratta dell'infanzia". Le conoscenze e classificazioni delle diarree croniche si sono evolute e la patologia può essere più facilmente suddivisa in diarrea acquisita e Diarrea Congenita (CODEs) (26). La diarrea acquisita si può sviluppare, durante la prima infanzia, è relativamente comune, generalmente lieve, ed autolimitante. Molto frequentemente questa forma di diarrea è di origine allergica o infettiva; e di solito non è associata ad alcuna sequela a lungo termine; ma vi sono anche forme acquisite secondarie ad anomalie anatomiche come la gastroschisi, il volvolo, l'enterocolite necrotizzante (NEC) che possono esitare nella sindrome da intestino corto, e necessitare della nutrizione parenterale. La CODEs, invece, è una classe di diarrea severa e persistente, che si presenta nei primi mesi di vita, ed origina da disordini monogenici, definita con il termine di "Diarrea congenita e Enteropatie" (CODEs). Le CODEs sono tipicamente associate ad intolleranza all'alimentazione e malassorbimento. Tali forme richiedono importanti interventi terapeutici e dietetici incluso l'utilizzo di nutrizione con formule speciali o parenterale per sostenere una crescita appropriata, ed un adeguato bilancio idro-elettrolitico.

### Epidemiologia

Nel 2002 l'organizzazione mondiale della sanità ha stimato che il 13,2% di tutti i decessi infantili a livello mondiale sia stato causato da malattie diarroiche, il 50% delle quali è secondario ad alcune forme di diarrea intrattabile. Studi pubblicati negli ultimi anni indicano che l'incidenza globale in tutto il mondo è di circa 3,2 episodi per bambino per anno, nonostante si sia verificata una riduzione della mortalità. In accordo con i dati della WHO, la prevalenza di diarrea cronica in età pediatrica in tutto il mondo oscilla tra il 3 e il 20%.

Le cause di diarree croniche possono essere suddivise in due gruppi sulla base dell'architettura dei villi:

- Diarrea con normale architettura dei villi,
- Difetti di trasporto
  - Diarrea con perdita di cloro;

- Diarrea congenita con perdita di sodio;
- Difetto recettoriale degli acidi biliari;
- Malassorbimento glucosio-galattosio;
- Deficit di micronutrienti
  - Acrodermatite enteropatica (deficit di zinco);
- Deficit enzimatico
  - Deficit di enterochinasi;
  - Sindrome dell'intestino corto congenito;
  
- Diarrea con atrofia dei villi;
- Patologia da inclusione di microvilli;
- Enteropatia Tufting;
- Enteropatia autoimmune;
- Sindrome di IPEX;
- Enteropatia infettiva;
- Enteropatia post-infettiva;
- Enteropatia allergica;
- Idiopatica.

La malattia da inclusione di microvilli (27) è una severa enteropatia con diarrea secretoria, che spesso insorge nei primi giorni di vita, ed è caratterizzata da inclusioni di microvilli negli enterociti. È un'enteropatia grave, che richiede la nutrizione parenterale per assicurare l'introito calorico e dei fluidi e tale condizione è inevitabilmente fatale senza una continua nutrizione endovenosa o il trapianto intestinale.

L'enteropatia a ciuffi (28), anche definita displasia epiteliale intestinale, si presenta nei primi mesi di vita con una diarrea acquosa cronica e scarsa crescita. La maggior parte dei pazienti affetti necessitano di nutrizione parenterale.

L'enteropatia autoimmune (24) è caratterizzata da una marcata infiltrazione di linfociti T attivati nella lamina propria sia della lamina propria del piccolo che del grande intestino. L'istopatologia è simile alla malattia celiaca, eccetto che c'è una paucità dei linfociti intraepiteliali.

## Diagnosi

Un completo studio diagnostico di questi bambini richiede una valutazione morfologica e funzionale della mucosa intestinale, compresa la biopsia intestinale. Il gold standard per la diagnosi è un'analisi combinata istopatologica e con microscopia elettronica delle biopsie del piccolo intestino.

## Trattamento

Per i pazienti affetti, la nutrizione totale parenterale deve essere avviata precocemente. Il trapianto isolato del piccolo intestino, e quello combinato intestino-fegato, sono stati entrambi usati con successo nel management dei bambini con enteropatia da microvilli.

## Disordini della motilità intestinale

I disordini della motilità intestinali sono comuni in età pediatrica, e possono essere il risultato di patologie che colpiscono primariamente i muscoli e l'innervazione del tratto gastrointestinale (acalasia, gastroparesi, pseudo-ostruzione, la malattia di Hirschsprung, malformazioni congenite che sono associate ad alterazioni della motilità (fistola tracheoesofagea, gastroschisi); patologie comuni pediatriche che presentano disturbi della motilità come parte della loro patofisiologia (malattia da reflusso e costipazione) o processi non strettamente gastroenterologici che colpiscono secondariamente la motilità gastrointestinale (patologie sistemiche, problemi iatrogeni) (29-30).

### Disordini della motilità

#### PRIMARI

- Colpiscono l'innervazione intrinseca/estrinseca del tratto Gastrointestinale;
- Acalasia;
- Gastroparesi;
- Pseudoostruzione;
- Comuni disordini in cui è presente un'alterata motilità sottostante;
- Reflusso gastroesofageo;
- Stipsi;
- Malformazioni che interessano il tratto Gastrointestinale;
- Fistola tracheoesofagea;
- Malformazioni anorettali;
- Malformazioni congenite (ernia diaframmatica, onfalocele, gastroschisi);
- Altro.

#### SECONDARI

- Patologie sistemiche;

- Patologie neuromuscolari (sclerodermia, problemi neurologici);
- Patologie metaboliche/endocrine (patologie tiroidee, patologie mitocondriali);
- Farmaci;
- Latrogeni;
- Chirurgia.

Poiché i disordini della motilità possono avere origini svariate, la sintomatologia varia a seconda della sede del tratto gastrointestinale interessato (**Tab. 1**).

#### **Tabella 1.**

##### **Sintomatologia dei disordini della motilità intestinale in base alla sede coinvolta**

- Esofago

**Disfagia, odinofagia, disfagia orofaringea, rigurgito/vomito, dolore toracico, problemi respiratori, perdita di peso, microaspirazioni.**

- Stomaco

**Sazietà precoce, distensione addominale, vomito, dolore, dispepsia, nausea, perdita di peso.**

- Piccolo intestino

**Distensione addominale/bloating, dolore, vomito, diarrea, nausea, perdita di peso crescita batterica**

- Colon

**Distensione addominale, costipazione, incontinenza, dolore.**

La sintomatologia non è specifica per tali disordini, pertanto il primo step dopo un'attenta anamnesi ed esame obiettivo è escludere le cause anatomiche (**Tab. 2**).

#### **Tabella 2.**

##### **Approccio al paziente con un sospetto disordine della motilità intestinale**

- Escludere ostruzioni anatomiche
- Esame obiettivo
- Studio di imaging

**Studio contrastografico****TC/RMN**

- Endoscopia
- Cercare l'eziologia
- Extraintestinale

**Vescica, pancreas****Renale****Sistema nervoso centrale**

- Mucosale

**Malattia celiaca, esofagite eosinofila**

- Metabolica/endocrina

**Alterazioni elettrolitiche****Disfunzioni tiroidee**

- Patologie sistemiche

**Malattie del connettivo****Malattie muscoloscleritiche****Patologie mitocondriali****Fibrosi cistica**

- Farmaci

**Anticolinergici****Oppiacei**

- Problemi psicologici
- Valutare il transito

**Rx transito esofageo, Clisma opaco**

- Esami per valutare la motilità

**Manometria: esofagea, antroduodenale, colonica e anorettale.****Sindrome da pseudo-ostruzione intestinale**

**L**a sindrome da pseudo-ostruzione intestinale è un raro disordine della motilità intestinale. La sua prevalenza è di 1 ogni 270000 nati vivi (31). Nella popolazione pediatrica, si presenta nel 75% dei casi entro il primo

anno di vita, di cui il 67% entro il primo mese. È una patologia severa caratterizzata da ripetuti episodi o continui segni e sintomi di ostruzione intestinale, con documentate immagini radiografiche di livelli idro-aerei, e anse dilatate, in assenza di lesioni che occludono il lume intestinale. Le alterazioni motorie portano ad un'impossibilità ad avere un normale transito lungo il tratto gastrointestinale. Tale sindrome può essere primaria, secondaria a diverse patologie quali patologie neurologiche, metaboliche, autoimmuni o familiare, dovuta a mutazioni a carico di specifici geni (SOX 10, RAD21, SGOL1, TYMP, POLG, FLNA o L1CAM). Le forme più comuni sono quelle primarie e spontanee.

### Sintomatologia

In tutte le età, il quadro clinico è dominato dal dolore e dalla distensione addominale, particolarmente severi durante gli episodi acuti di pseudo-ostruzione (32). I sintomi associati includono la nausea, il vomito, la costipazione e la diarrea. Ogni segmento del tratto gastrointestinale ne può essere affetto. La dilatazione intestinale ed un lento transito predispongono il paziente ad un overgrowth batterico, che può esitare nel malassorbimento, diarrea e malnutrizione. Tra gli episodi acuti, i pazienti possono essere minimamente sintomatici, o possono continuare a presentare i sintomi. La prevalenza e la severità degli episodi acuti, ricorre ad intervalli irregolari e varia da paziente a paziente.

### Diagnosi

La diagnosi è clinica. L'approccio diagnostico nel sospetto di sindrome da pseudo-ostruzione deve essere il seguente:

- Escludere cause meccaniche di ostruzione intestinale, utilizzando la tomografia computerizzata addominale (TC) o radiografia semplice;
- Identificare qualsiasi malattia sottostante con un accurato profilo di test di laboratorio;
- Valutare la possibilità di una presentazione simil-CIPO indotta da farmaci (ad es. oppiacei, antidepressivi triciclici, agenti anti-colinergici, anti-Parkinson agenti, fenotiazine).

### Terapia

Il management dei pazienti affetti è rivolto a ripristinare il bilancio elettrolitico, mantenere un adeguato introito calorico, e trattare le complicanze quali sepsi, SIBO e i sintomi associati. Il caposaldo della terapia farmacologica è

promuovere l'attività propulsiva del tratto gastrointestinale, migliorando l'alimentazione per via orale, riducendo la severità dei sintomi e minimizzando la sindrome da iperproliferazione intestinale (32). È una patologia ad elevata mortalità e morbilità. Nonostante la nutrizione parenterale sia stata capace di salvare i pazienti con insufficiente nutrizione enterale, è associata con numerose complicanze di sepsi, eventi tromboembolici, e patologie epatiche. Queste complicanze sono responsabili della mortalità dei pazienti affetti da tale patologia. Il trapianto intestinale è un'alternativa terapeutica per i pazienti con una patologia severa.

---

## Conclusioni

**L**e malattie rare del sistema gastrointestinale presentano alcune analogie con altre malattie rare e alcune peculiarità dovute all'enorme variabilità dell'espressione clinica e la significativa sovrapposizione tra diverse patologie. In questo breve capitolo, non è stato possibile analizzare tutte le patologie rare in ambito gastroenterologico, né avrebbe avuto senso cercare di sintetizzarle in ampi paragrafi. Abbiamo quindi deciso di descrivere alcune patologie che ne mostrano l'estrema complessità e le correlazioni tra di loro. Le malattie rare, sono patologie estremamente complesse, il cui obiettivo non è solo una migliore comprensione dei meccanismi patogenetici alla base, ma anche una migliore possibilità di terapia per i pazienti.

## **Bibliografia**

Baldovino S, Menegatti E, Roccatello D, Sciascia S. Immunological Rare Diseases. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1031:497-509.

Richter T, Nestler-Parr S, Babela R et al (2015) Rare disease terminology and definitions-a systematic global review: report of the ISPOR rare disease special interest group. *Value Heal* 18:906-914.

Green, P. H. & Cellier, C. Celiac disease. *N. Engl. J. Med.* 357, 1731-1743 (2007).

Lundin KE, Qiao SW, Snir O, Sollid LM. Coeliac disease-from genetic and immunological studies to clinical applications. *Scand J Gastroenterol.* (2015) 50:708-17.

Gokce S, Arslantas E. Changing face and clinical features of celiac disease in children. *Pediatr Int.* (2015)

Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, et al. ESPGHAN Working Group on Coeliac Disease Diagnosis. ESPGHAN Gastroenterology Committee. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guidelines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012;54:136-60. doi:10.1097/MPG.0b013e31821a23d0 22197856

Lebwohl B, Ludvigsson JF, Green PH. Celiac disease and non-celiac gluten sensitivity. *BMJ.* (2015)

Lucendo AJ, Molina-Infante J, Arias Á, et al. Guidelines on eosinophilic esophagitis: evidence-based statements and recommendations for diagnosis and management in children and adults. *United European Gastroenterol J* 2017;5:335-58.

Hruz P. Epidemiology of eosinophilic esophagitis. *Dig Dis.* (2014)32:40-47. doi: 10.1159/000357008

Soon IS, Butzner JD, Kaplan GG, deBruyn JCC. Incidence and prevalence of eosinophilic esophagitis in children. *Gastroenterology* (2013) 57:72-80. doi: 10.1097/MPG.0b013e318291fee2

Liacouras CA, Furuta GT, Hirano I, Atkins D, Attwood SE, Bonis PA, et al. Eosinophilic esophagitis: updated consensus recommendations for children and adults. *J Allergy Clin Immunol.* (2011) 128:3-20. doi: 10.1016/j.jaci.2011.02.040

Schoepfer AM, Safroneeva E, Bussmann C, Kuchen T, Portmann S, Simon HU, Straumann A. Delay in diagnosis of eosinophilic esophagitis increases risk for stricture formation in a time-dependent manner. *Gastroenterology* (2013)145:1230-6. doi: 10.1053/j.gastro.2013.08.015

Menard-Katcher C, Henry M, Furuta GT, Atkins D, Maune NC, Haas AM. Significance of feeding dysfunction in eosinophilic esophagitis. *World J Gastroenterol.* (2014) 20:11019–22. doi: 10.3748/wjg.v20.i31. 11019

Papadopoulou A and Amil Dias J. Eosinophilic esophagitis: an emerging disease in childhood-review of diagnostic and management strategies. *Front Pediatr.* (2014) 2:129. doi: 10.3389/fped.2014.00129.

Nielsen JA, Lager DJ, Lewin M, et al. The optimal number of biopsy fragments to establish a morphologic diagnosis of eosinophilic esophagitis. *The American journal of gastroenterology.* 2014;109:515-20.

Spergel JM, Rothenberg ME, Collins MH, et al. Reslizumab in children and adolescents with eosinophilic esophagitis: results of a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Allergy Clin Immunol* 2012;129:456–63. 463.e1-3.

Assa'ad AH, Gupta SK, Collins MH, et al. An antibody against IL-5 reduces numbers of esophageal intraepithelial eosinophils in children with eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2011;141:1593–604

Turner D, Ruemmele FM, Orlanski-Meyer E, Griffiths AM, de Carpi JM, Bronsky J, Veres G, Aloï M, Strisciuglio C, Braegger CP, Assa A, Romano C, Hussey S, Stanton M, Pakarinen M, de Ridder L, Katsanos K, Croft N, Navas-López V, Wilson DC, Lawrence S, Russell RK.

Management of Paediatric Ulcerative Colitis, Part 1: Ambulatory Care—An Evidence-based Guideline From European Crohn's and Colitis Organization and European Society of Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2018 Aug;67(2):257-291

Castro M, Papadatou B, Baldassare M, et al. Inflammatory bowel disease in children and adolescents in Italy: data from the pediatric national IBD register (1996-2003). *Inflamm Bowel Dis* 2008;14:1246-52. doi:10.1002/ibd.20470 pmid:18521916

Avery GB, Villavicencio O, Lilly JR, et al. Intractable diarrhea in early infancy. *Pediatrics* 1968;41:712–722.

Chinn IK1, Shearer WT2. Severe Combined Immunodeficiency Disorders. *Immunol Allergy Clin North Am.* 2015 Nov;35(4):671-94. doi: 10.1016/j.iac.2015.07.002.

Malik MA, Masab M. Wiskott-Aldrich Syndrome. *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2019 Jan-.2019 Apr 3.

Obayashi N, Arai K, Nakano N, Mizukami T, Kawai T, Yamamoto S, Shimizu H, Nunoi H, Shimizu T, Tang J, Onodera M. Leopard Skin-Like Colonic Mucosa: A Novel Endoscopic Finding of Chronic Granulomatous Disease-Associated Colitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016 Jan;62(1):56-9. doi: 10.1097/MPG.0000000000000905.

Bennett CL, Christie J, Ramsdell F, et al. The immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome (IPEX) is caused by mutations of FOXP3. *Nat Genet* 2001;27:20–21.

Girardelli M, Arrigo S, Barabino A, Loganes C, Morreale G, Crovella S, Tommasini A, Bianco AM The diagnostic challenge of very early-onset enterocolitis in an infant with XIAP deficiency. *BMC Pediatr*. 2015 Dec 15;15:208. doi: 10.1186/s12887-015-0522-5.

Thiagarajah JR1, Kamin DS1, Acra S2, Goldsmith JD3, Roland JT2, Lencer WI1, Muise AM4, Goldenring JR2, Avitzur Y5, Martín MG6; PediCODE Consortium. Advances in Evaluation of Chronic Diarrhea in Infants. *Gastroenterology*. 2018 Jun;154(8):2045-2059.e6. doi: 10.1053/j.gastro.2018.03.067. Epub 2018 Apr 12.

Cutz E, Rhoads JM, Drumm B, et al. Microvillus inclusion disease: an inherited defect of brush-border assembly and differentiation. *N Engl J Med* 1989;320:646–651  
28. Salomon J, Goulet O, Canioni D, et al. Genetic characterization of congenital tufting enteropathy: epcam associated phenotype and involvement of SPINT2 in the syndromic form. *Hum Genet* 2014;133:299–310

Rodriguez L, Sood M, Di Lorenzo C, et al. An ANMS-NASPGHAN consensus document on anorectal and colonic manometry in children. *Neurogastroenterol Motil* 2017. [Epub ahead of print].

Mann SD, Debinski HS, Kamm MA. Clinical characteristics of chronic idiopathic intestinal pseudo-obstruction in adults. *Gut*. 1997;41:675–681. 2008;4(2):140–8.

De Giorgio R, Cogliandro RF, Barbara G, Corinaldesi R, Stanghellini V. Chronic intestinal pseudo-obstruction: clinical features, diagnosis, and therapy. *Gastroenterol Clin North Am*. 2011;40:787–807.

Di Nardo G, Di Lorenzo C, Lauro A, Stanghellini V, Thapar N, Karunaratne TB, Volta U, De Giorgio R. Chronic intestinal pseudo-obstruction in children and adults: diagnosis and therapeutic options. *Neurogastroenterol Motil*. 2017 Jan;29(1). Epub 2016 Sep 29.



# MALATTIE NEUROMUSCOLARI NEONATALI

*Raffaele Falsaperla, Carla Cimino, Catia Romano*

## Introduzione

**L**e malattie neuromuscolari (MNM) rappresentano un argomento della neurologia pediatrica in continua evoluzione grazie essenzialmente all'avvento delle nuove tecniche di genetica molecolare, nuova frontiera diagnostica per la definizione di tali patologie.

Un primo approccio allo studio delle MNM, prevede una loro classificazione in relazione all'unità motoria anatomica interessata. Distinguiamo infatti patologie che coinvolgono:

- il muscolo (Distrofia muscolare e Miopatia congenita);
- la giunzione neuromuscolare (Sindromi miastenica congenita);
- il nervo periferico (Neuropatie);
- il II motoneurone (Atrofia muscolo spinale).

Un danno di qualsiasi natura (traumatica, infettiva, genetica o metabolica) che colpisce l'unità motoria in una delle sue componenti, determinerà l'insorgere di una MNM.

Le malattie neuromuscolari neonatali rientrano nel gruppo delle patologie genetiche rare, tuttavia se prese nel loro insieme possono essere considerate patologie frequenti che costituiscono una importante causa di disabilità e mortalità infantile e che pongono notevoli difficoltà diagnostiche e di management clinico in quanto la gravità ed il profilo evolutivo varia molto da una malattia all'altra.

## Approccio diagnostico alle malattie neuromuscolari neonatali

**L**o studio delle malattie neuromuscolari mediante la genetica molecolare ha permesso una identificazione più corretta della loro eziologia e fisiopatologia, consentendo in molti casi l'isolamento del gene specifico e l'identificazione della proteina da questo codificata. Ciò ha quindi determinato la possibilità di andare a ricercare specifiche mutazioni geniche, modificando l'approccio diagnostico verso alcune di queste patologie che prima venivano considerate come entità clinica unica poiché accomunate dallo stesso quadro sintomatologico.

Un'accurata raccolta dei dati anamnestici e l'esame obiettivo neurologico rimangono comunque di fondamentale importanza in quanto permettono

un corretto orientamento verso un sospetto di patologia del sistema nervoso periferico (SNP).

L'anamnesi familiare rappresenta il primo passo per la valutazione della storia clinica familiare del paziente. Talvolta è possibile osservare familiarità per disordini neuromuscolari, anche se non bisogna dimenticare che tali patologie spesso presentano una grande eterogeneità delle manifestazioni cliniche anche all'interno della stessa famiglia.

La raccolta dei dati anamnestici dovrà riguardare anche possibili alterazioni osservate già durante la vita fetale con la valutazione dei movimenti fetali in utero e dell'eventuale riscontro di modifiche a carico del liquido amniotico (oligoamnios, anidramnios, polidramnios).

Nella valutazione clinica del paziente sarà importante aver chiara la distinzione tra la ipostenia definita come ridotta capacità di contrazione muscolare e ipotonia definita dalla ridotta resistenza ai movimenti passivi. Clinicamente le MNM ad esordio precoce sono caratterizzate essenzialmente da segni di ipotonia, riduzione dei movimenti antigravitari (specifico segno di ipostenia), riduzione del controllo posturale, aumentato raggio di movimento delle articolazioni (ROM) e assunzione di posture e atteggiamenti anomali. A ciò può essere associato il riscontro di ipostenia (debolezza muscolare per gli anglosassoni). Il neonato con MNM, a differenza del neonato affetto da forme centrali di ipotonia, si presenta comunque in genere ben vigile e risponde adeguatamente all'ambiente con un normale pattern sonno-veglia.

Altri segni e sintomi sono rappresentati da riduzione e/o assenza dei riflessi tendinei (ROT), general movements (GM) caratterizzati da un quadro definito poor repertoire, scarso coordinamento respiratorio, difficoltà nella suzione, retrazioni tendinee, disfunzioni oro-motorie con il possibile riscontro di reflusso gastro-esofageo, ptosi palpebrale, insufficienza respiratoria di grado variabile fino alla necessità di assistenza respiratoria con ventilazione meccanica invasiva.

La valutazione mediante neuroimaging può essere utile per lo studio di eventuali anomalie cerebrali associate ad alcune di queste patologie, ma risulta in genere di più importante ausilio nella diagnosi delle forme di ipotonia centrale.

I principali esami diagnostici a cui viene sottoposto un neonato con sospetto di MNM sono:

1. il dosaggio degli enzimi sierici;
2. l'esecuzione di procedure elettrofisiologiche;
3. la biopsia muscolare;
4. le indagini di genetica molecolare.

**Dosaggio enzimi sierici.** Il dosaggio della creatinfosfochinasi (CK) rappresenta un valido strumento di ausilio nella diagnostica delle malattie neuromuscolari. Un aumento dei livelli sierici di tale enzima superiore a 5 volte i valori normali si osserva infatti nella maggior parte dei processi degenerativi (es. gruppo Distrofie Muscolari) ed infiammatori della fibra muscolare.

**Procedure elettrofisiologiche.** La diagnostica elettrofisiologica si avvale dello studio della velocità di conduzione nervosa (VCN) e dell'esame elettromiografico (EMG).

Nella VCN i nervi più comunemente studiati sono l'ulnare, il mediano ed il radiale nell'arto superiore; il peroneale, il tibiale ed il surale nell'arto inferiore. Stimolando il nervo periferico lungo il suo decorso è possibile valutare la velocità di conduzione motoria e sensitiva e calcolare il valore delle latenze distali, parametri fondamentali per la diagnosi delle neuropatie periferiche. L'esame EMG con l'impiego dell'ago-elettrodo, consente spesso di distinguere una patologia di tipo miogena da una neurogena. La scelta dei muscoli da studiare è condizionata dall'impossibilità nel neonato di disporre di un'adeguata contrazione muscolare: si ricorre quindi alla valutazione di quei muscoli dove può essere evidente una contrazione riflessa in seguito a stimolazione. All'introduzione dell'ago-elettrodo i parametri che vengono valutati sono: l'attività elettrica del muscolo all'inserzione; l'attività elettrica del muscolo a riposo e l'attività elettrica del muscolo durante la contrazione volontaria o provocata. Un quadro EMG di tipo miogeno sarà caratterizzato dalla presenza di potenziali di durata ed ampiezza ridotti e tracciato interferenziale proporzionalmente aumentato durante la contrazione submassimale; un quadro di tipo neurogeno sarà invece caratterizzato da un tracciato con potenziali ampi e di lunga durata, in associazione alla presenza di attività spontanea (fibrillazioni, onde positive e fascicolazioni).

**Biopsia muscolare.** La biopsia muscolare che nell'epoca pre-analisi molecolare veniva considerata il gold standard per la diagnosi delle MNM, ancora oggi rappresenta un importante strumento nella diagnostica di tali malattie. I muscoli più frequentemente esplorati sono il vasto laterale del quadricipite o il bicipite del braccio, in quanto più facilmente accessibili e perché composti da fibre decorrenti longitudinalmente che consentono un più facile orientamento del campione. La tecnica biptica più impiegata è quella a cielo aperto in quanto permette di ottenere un campione più vasto con la possibilità di eseguire dosaggi enzimatici. Le tecniche istochimiche applicate (ematossilina ed eosina, tricromica di Gomori, NADH, ATPasi), permettono la visualizzazione della morfologia muscolare con la valutazione dei nuclei periferici, dei mitocondri e dei differenti tipi di miofibrille.

Di più recente introduzione sono le tecniche di immunoistochimica, che

hanno permesso la visualizzazione di molte proteine citoscheletriche (la distrofina, il complesso del sarcoglicano, la merosina, la spectrina), carenti in alcune patologie distrofiche.

**Indagini di genetica molecolare.** L'applicazione di tecnologie di genetica molecolare negli ultimi decenni ha consentito notevoli progressi nel campo della diagnostica di tali patologie tanto che per far diagnosi è necessaria la conferma dell'analisi genetica.

---

## Disordini primitivi muscolari Le distrofie muscolari

**L**e Distrofie Muscolari (DM) rappresentano un gruppo eterogeneo di malattie genetiche caratterizzate da alterazioni o assenza delle proteine costituenti la fibra muscolare, ciò comporta l'insorgenza di processi degenerativi a carico della muscolatura scheletrica (1).

Le DM sono causate da differenti mutazioni genetiche e si manifestano con fenotipi assai variabili rappresentati da diversa età di esordio, differente severità della patologia, distribuzione variabile dei muscoli affetti e possibile coinvolgimento di altri organi (2,3). Recentemente è stata approvata una classificazione di tali patologie in 7 sottogruppi a seconda dei geni coinvolti:  $\alpha$ -Distroglicanopatie, distrofie correlate a mutazioni di  $\alpha 2$  laminina, distrofie correlate a mutazioni di LMNA, distrofie correlate a mutazione del collagene VI, miopatie correlate a mutazioni di SEPN1, miopatie correlate a mutazione di RYR1 e distrofie muscolari non correlate a disordini genetici (4).

### *$\alpha$ - Distroglicanopatie*

L'  $\alpha$ -detroglicano è una proteina periferica di membrana. La sua glicosilazione ha una funzione critica per il mantenimento dell'integrità delle proteine della matrice extracellulare. Qualsiasi alterazione a carico di questo processo può essere causa dell'insorgenza di un gruppo di distrofie muscolari autosomiche recessive, definite come distroglicanopatie (5).

Le distroglicanopatie presentano forte eterogeneità fenotipica: si passa da forme più severe ad esordio congenito come la sindrome di Walker-Warburg (WWS), la Sindrome Muscolo-Occhio-Cervello (MEB), la distrofia muscolare congenita di Fukuyama (FCMD), a forme moderate o lievi che esordiscono in genere con sintomatologia più sfumata in età adulta come le distrofie muscolari dei cingoli. Geneticamente le distroglicanopatie sono causate da mutazioni in almeno 7 geni conosciuti: POMT1, POMT2, POMGnT1, FCMD, FKRP, LARGE, ISPD (6).

**Sindrome di Walker- Warburg.** La WWS rappresenta la forma più grave di distrofia muscolare congenita con segni di compromissione del Sistema Nervoso Centrale (SNC). Le manifestazioni cliniche appaiono in età neonatale e sono caratterizzate da ipotonia severa con ipostenia, ritardo dello sviluppo psicomotorio e spesso convulsioni. Il quadro oftalmico è caratterizzato da disgenesia retinica, microftalmia e da malformazioni della camera anteriore. Le malformazioni cerebrali comprendono lissencefalia, malformazioni cerebellari, disgenesia del corpo calloso, alterazioni a carico della sostanza bianca (7). Il neonato affetto da tale patologia presenta spesso livelli sierici di CPK molto elevati. La diagnosi prenatale è possibile nei casi di familiarità con mutazione genetica conosciuta. La terapia è di solo supporto e la maggior parte degli individui affetti non sopravvive ai 3 anni (8).

**Sindrome Muscolo-Occhio-Cervello.** La MEB si manifesta tipicamente alla nascita o nei primi mesi di vita con ipotonia, ipostenia e con manifestazioni oculari più sfumate rispetto alla WWS che vengono evidenziate spesso nel primo anno di vita (9). Alla Risonanza Magnetica (RM) le mutazioni cerebrali più frequenti sono rappresentate da pachigiria, polimicrogiria, ipoplasia cerebellare e alterazioni a carico della sostanza bianca.

**Distrofia muscolare congenita di Fukuyama.** La CFMD si manifesta tipicamente in età neonatale con ipotonia, ipostenia, difficoltà nella suzione, pianto debole, difficoltà dello sviluppo psicomotorio. Il paziente sviluppa successivamente artrogriposi, pseudoipertrofia dei polpacci e dell'avambraccio, alterazioni oculari rappresentate prevalentemente da disturbi della vista e displasia della retina. Si osserva inoltre comparsa di crisi e in tutti i pazienti è presente un grado variabile di ritardo mentale (10). Questa patologia è stata descritta prevalentemente in Giappone ma sono noti casi anche in altre popolazioni.

### ***Distrofie correlate a mutazioni di $\alpha 2$ laminina***

L' $\alpha 2$  laminina, o merosina, è una proteina che ha la funzione di ancorare la membrana della fibrocellula muscolare alla matrice extra-cellulare (11).

La mancata sintesi della proteina causa una forma di distrofia muscolare ad esordio già nel periodo prenatale con riduzione o assenza dei movimenti fetali. In epoca neonatale sarà possibile osservare ipotonia, ipostenia prevalente alle estremità e artrogriposi. La deambulazione autonoma nella maggior parte dei casi sarà compromessa.

La sintesi di una proteina alterata determina invece un quadro fenotipico assai variabile da forme più gravi ad esordio neonatale, a forme moderate o lievi (11).

I pazienti affetti presentano un aumento dei valori sierici di CK fino a 5 volte

superiore i valori normali. Alla RM sarà possibile osservare aree con aumentata intensità di segnale a carico della sostanza bianca nelle sequenze T2 e FLAIR, più raramente malformazioni cerebrali rappresentate prevalentemente da eterotopia della corteccia occipitale e ipoplasia cerebellare. Il 30% dei pazienti affetti presenta convulsioni (12).

### ***Distrofie correlate a mutazioni del collagene VI***

Il collagene VI è un componente della matrice extracellulare. Alterazioni carico dei geni che codificano per tale proteina causano fenotipi differenti, dalle forme più gravi ad esordio precoce rappresentate dalla Distrofia di Ullrich (UCMD) a forme più lievi ad esordio più tardivo.

### ***Distrofia di Ullrich***

Si manifesta in epoca neonatale con debolezza dei muscoli facciali, palato ogivale, dislocazione congenita delle anche, protrusione del calcagno, torcicollo, cifosi transitoria, contratture (in particolare ai gomiti e alle ginocchia) e iperlassità distale.

La capacità di deambulazione viene in genere persa tra la seconda e la terza decade di vita. Non è presente ritardo mentale (13).

## **La Distrofia Miotonica (DM)**

**L**a DM è una malattia multisistemica genetica a meccanismo di trasmissione autosomico dominante. Il gene coinvolto nella mutazione si trova sul braccio lungo del cromosoma 19, q13 e codifica per una proteina denominata miotonina protein chinasi. Le recenti scoperte di genetica molecolare hanno evidenziato la presenza di una ripetizione di una tripletta instabile (CTG) in numero superiore a 50 rispetto a valori normali di 5-35 (14). L'esordio della malattia usualmente si verifica nel corso dell'adolescenza, ma talvolta sono osservabili forme ad esordio neonatale.

Le forme congenite neonatali mostrano un esordio in epoca prenatale con il riscontro di riduzione o assenza dei movimenti fetali e polidramnios. Alla nascita è presente insufficienza respiratoria grave con necessità spesso di ricorrere a manovre di rianimazione, intubazione orotracheale e supporto ventilatorio invasivo (15). Il neonato inoltre può presentare difficoltà nella suzione, piede torto equino-varo, contratture in flessione delle caviglie, diplegia facciale (16).

La sopravvivenza dei neonati affetti è bassa e la necessità di ventilazione meccanica per un periodo maggiore alle 4 settimane è considerato un fattore prognostico negativo.

---

## Miopatie Congenite

**L**e miopatie congenite sono un gruppo eterogeneo di patologie ad esordio neonatale caratterizzate da marcata ipotonia ed ipostenia che possono essere diagnosticate solo ed esclusivamente tramite l'esecuzione della biopsia muscolare. La caratteristica che raggruppa tutte le miopatie congenite è la prevalenza di fibre muscolari di tipo I rispetto a quelle di tipo II (17).

Tra le miopatie congenite ricordiamo la miopatia bastoncellare (nemaline), la miopatia "central core" e la miopatia miotubulare (centronucleare).

---

### Miopatia bastoncellare

**L**a miopatia bastoncellare riconosce un meccanismo di trasmissione autosomico dominante con penetranza variabile. Il gene coinvolto è localizzato sul braccio lungo del cromosoma 1 tra il q21 ed il q23. Il prodotto genico di questa regione è deputato alla sintesi di una proteina miofibrillare, la tropomiosina (NEM-1).

La malattia esordisce già in epoca prenatale con riduzione dei movimenti fetali (18). In epoca neonatale è osservabile un grado variabile di ipotonia ed ipostenia generalizzata che può essere tanto grave da causare la morte per insufficienza respiratoria. In rari casi l'ipotonia è lieve e i pazienti possono presentare solo un ritardo nello sviluppo delle tappe motorie. Tipico della malattia è il coinvolgimento dei muscoli facciali che determina un aspetto dismorfico e il riscontro di palato ogivale. Solitamente vi è debolezza muscolare assiale e relativa scoliosi.

Da sottolineare che come quasi tutte le miopatie congenite il quadro clinico muscolare tende a stabilizzarsi nel tempo anche se residuano i deficit motori. I soggetti affetti da tale patologia non mostrano aumento dei livelli sierici di CK o alterazioni specifiche all'EMG.

Alla biopsia muscolare l'esecuzione della tecnica di colorazione tricromica di Gomori evidenzia la presenza di strutture a forma bastoncellare (corpi nemalini o "rod-like bodies") nel sarcolemma o più raramente nel nucleo. Otto diversi geni sono coinvolti in tale patologia, sette dei quali sono responsabili dell'esordio neonatale NEB, ACTA1, TPM3, TPM2, TNNT1, CFL2, KLHL40. La mutazione del gene NEB è responsabile di più del 50% dei casi (19).

### *Miopatia Central Core (MCC)*

La miopatia central core (MCC) è una malattia rara, geneticamente deter-

minata con meccanismo di trasmissione autosomico dominante. La malattia esordisce alla nascita o entro i primissimi mesi di vita ed è caratterizzata da una moderata ipotonia e ipostenia con maggiore coinvolgimento dei muscoli prossimali. La lussazione congenita dell'anca è un segno clinico abbastanza frequente. Non vi è coinvolgimento dei muscoli facciali né della motilità extraoculare o della deglutizione (20).

La determinazione del CK rientra nei limiti della norma, mentre l'EMG evidenzia in qualche caso segni aspecifici di sofferenza miogena. Il gold standard diagnostico è rappresentato dalla biopsia muscolare, la patologia è infatti istologicamente caratterizzata dalla presenza all'interno delle cellule muscolari di aree centrali, "core", con ridotta o assente attività enzimatica ossidativa, in contrasto con la normale zona circostante.

### ***Miopatia centronucleare***

In questo gruppo sono comprese diverse entità distinte con differente meccanismo di trasmissione (X-linked, autosomico dominante o recessivo) che hanno in comune il quadro istologico della biopsia muscolare caratterizzato dalla presenza di nuclei disposti centralmente nella fibra (21).

La miopatia miotubulare acuta è una malattia legata all'X che conduce solitamente a morte nel periodo neonatale. Il quadro clinico, già gravissimo alla nascita, è caratterizzato da ipotonia generalizzata grave e distress respiratorio. I movimenti fetali attivi sono spesso diminuiti e si associa la presenza di polidramnios. I neonati affetti hanno un grave deficit della suzione e della deglutizione e ariflessia. Talvolta è possibile il riscontro di ptosi palpebrale e oftalmoplegia completa (22).

Il CK è nei limiti della norma mentre l'EMG può rilevare segni di sofferenza neurogena o miogena. Il quadro bioptico che si osserva nella miopatia centronucleare è caratterizzato dalla presenza nel 85% circa delle miofibrille di nuclei localizzati centralmente e circondati da una sottile area priva di miofibrille.

La miopatia miotubulare cronica presenta un decorso meno severo. Il meccanismo di trasmissione ereditario può essere sia di tipo autosomico dominante che recessivo. La sintomatologia clinica è molto eterogenea. Si possono osservare quadri molto sfumati, con lieve ritardo motorio o quadri più gravi ad esordio neonatale con grave ipotonia. La debolezza muscolare può coinvolgere sia i muscoli prossimali che quelli distali. I muscoli facciali possono essere coinvolti determinando il tipico aspetto amimico.

Sono stati descritti segni centrali come crisi convulsive o il ritardo mentale.

## Malattie della giunzione neuromuscolare

### **M***iastenia gravis neonatale transitoria*

Circa il 10-15% dei neonati figli di madre affetta da Miastenia Gravis manifestano una forma di miastenia transitoria causata dal passaggio transplacentare degli anticorpi anti acetilcolina. La sintomatologia è per lo più caratterizzata da ipostenia neonatale. Nelle forme più gravi è possibile osservare coinvolgimento dei muscoli respiratori e dei muscoli addetti alla suzione causando rispettivamente difficoltà respiratorie, da forme lievi a forme gravi, e difficoltà nell'alimentazione. In questi bambini potrà essere necessario eseguire un trattamento di supporto fino all'evidenza di un rapido declino del titolo anticorpale che avviene in circa 6 settimane. La diagnosi si effettua con il riscontro di anticorpi antirecettore dell'acetilcolina (anti-RACH) sul siero del neonato (23).

### **Sindromi miasteniche congenite**

Le sindromi miasteniche congenite sono un gruppo eterogeneo di malattie geneticamente determinate causate da alterazioni a carico di diverse componenti della giunzione neuromuscolare. Questa è la struttura dell'unità motoria in cui avviene la trasmissione dell'impulso nervoso dal nervo al muscolo, consentendo la contrazione muscolare (24).

L'esordio è osservabile in genere nel periodo neonatale, più raramente nella prima infanzia. I sintomi più frequenti sono rappresentati da ipostenia che interessa i muscoli assiali, gli arti, i muscoli oculari (oftalmoplegia e ptosi palpebrale) e quelli respiratori. Di frequente riscontro sono le crisi apnoiche transitorie (25).

A seconda della localizzazione dell'alterazione a livello della giunzione neuromuscolare possiamo distinguere forme presinaptiche, sinaptiche o postsinaptiche. Le forme presinaptiche sono le più rare riguardando circa il 7-8% dei pazienti, le forme sinaptiche si riscontrano in circa il 14-15% dei casi e le forme postsinaptiche nel restante 75-80% (26).

Le indagini di laboratorio spesso non evidenziano alcune modifiche dei livelli sierici di CK rispetto alla popolazione normale. Non si riscontrano anticorpi circolanti anti-RACH. La biopsia muscolare non mostra alcun pattern specifico.

L'EMG permette di rilevare il blocco della giunzione neuromuscolare con rilievo caratteristico di risposta decrementale alla stimolazione (27).

---

## Malattie del nervo periferico

### Neuropatie ereditarie

**L**e neuropatie ereditarie sensitive e motorie (HMSN) rappresentano un gruppo eterogeneo di patologie che coinvolgono il nervo periferico. Alcune forme presentano esordio clinico alla nascita o nei primi mesi di vita.

La severità è estremamente variabile da forme lievi caratterizzate da lieve ritardo motorio e/o lieve disabilità motoria e lenta progressione nell'età adulta, a forme gravi caratterizzate da un quadro clinico severo con riscontro di artrogriposi ed exitus entro l'anno di vita.

La HMSN-3 o Sindrome di Dejerine-Sottas (DSS) rappresenta la neuropatia più caratteristica di questo gruppo. Solitamente la Sindrome esordisce precocemente o comunque sempre entro i due anni di vita. Circa la metà dei pazienti perde la capacità di deambulazione autonoma entro i 10 anni di vita. La trasmissione è AD anche se sono stati descritti casi sporadici. Recenti studi di genetica molecolare hanno mostrato una alterazione della proteina PMP-22. La biopsia del nervo mostra numerose alterazioni istopatologiche anche se la maggior parte delle fibre nervose mostra una evidente ipomielinizzazione.

---

## Malattie del motoneurone

**L**e malattie del motoneurone comprendono un gruppo eterogeneo di malattie geneticamente determinate caratterizzate da un progressivo deterioramento delle cellule delle corna anteriori del midollo spinale. L'atrofia muscolo spinale 5q rappresenta la malattia più frequente di questo gruppo.

### *Atrofia Muscolo Spinale 5q (SMA)*

L'Atrofia Muscolare Spinale (SMA), nella sua forma ad esordio neonatale, è la malattia genetica a trasmissione autosomica recessiva con mortalità infantile più elevata nella razza Caucasica, dopo la Fibrosi Cistica. L'incidenza della SMA è di circa 1:10.000 nati vivi (27). Si stima che l'incidenza dei soggetti eterozigoti per le mutazioni causanti la patologia sia circa di 1/40, 1/60 (28). Questo gruppo eterogeneo di malattie neuromuscolari è caratterizzato dalla degenerazione delle cellule delle corna anteriori del midollo spinale, con conseguente debolezza muscolare simmetrica ed atrofia della muscolatura scheletrica.

In relazione all'età d'esordio e all'evoluzione della malattia si distinguono

tre tipi di SMA a trasmissione autosomica recessiva: la Malattia di Werdnig Hoffman - *SMA di tipo I*; una forma intermedia - *SMA di tipo II* e la Malattia di Kugelberg-Welander - *SMA di tipo III*. Alcuni autori descrivono un quarto tipo di SMA, la *SMA di tipo 0*.

Nel 1990 il locus genetico della SMA è stato mappato sul braccio corto del cromosoma 5 (5q13) e nel 1995 sono stati identificati due geni, denominati SMN (riscontrabile nel 95% dei pazienti affetti) e NAIP (29). Successivamente nel 1997 è stato identificato un terzo gene, che codifica per la subunità p44 (BTF2p44), la cui delezione è riscontrabile nel 15% circa dei pazienti affetti dalla malattia.

L'esame biotico, in tutti i casi di SMA, evidenzia la presenza di fibre muscolari atrofiche in associazione a gruppi di fibre muscolari ipertrofiche che, alla reazione dell'ATPasi, sono fibre di tipo I; l'esame elettromiografico è caratterizzato dalla presenza di attività spontanea e tracciato interferenziale di tipo neurogeno; lo studio della velocità di conduzione nervosa è generalmente nei limiti della norma, soprattutto nelle fasi iniziali della malattia. Gli esami di laboratorio non sono di alcun aiuto per la diagnosi ed il CK è sempre normale.

L'esordio clinico della SMA tipo I è molto precoce nel periodo neonatale o addirittura in utero con riscontro di riduzione dei movimenti fetali. Nel periodo neonatale il quadro clinico è caratterizzato da ipotonia e debolezza muscolare simmetrica, con interessamento soprattutto dei muscoli degli arti inferiori: le gambe appaiono flesse, abdotte con rotazione esterna a livello delle anche (atteggiamento a rana). Gli arti superiori appaiono all'esordio meno colpiti, cosicché spesso sono possibili i movimenti attivi delle mani e delle dita, contrariamente a quelli dei muscoli prossimali. I muscoli della faccia sono risparmiati e l'espressione del viso è vivace e contrasta con il marcato interessamento dei muscoli del corpo. L'ipostenia è di frequente riscontro a livello della muscolatura assiale e dei muscoli del tronco con conseguente scarso controllo del capo sia in posizione prona che supina. Spesso è evidente una marcata difficoltà della suzione e della deglutizione ed il pianto è flebile. La respirazione, con il progredire della malattia, diventa di tipo diaframmatica, il torace assume un aspetto caratteristico definito "a campana", con distensione dell'addome e retrazione costale durante l'inspirazione. I riflessi osteo-tendinei sono generalmente assenti o ipoelicitabili e possono inoltre essere evidenti fascicolazioni ed atrofia della lingua. Il decorso è generalmente rapidamente progressivo; questi pazienti non raggiungono mai la capacità di stare seduti da soli e l'exitus si verifica entro i primi due anni di vita, a causa delle complicanze respiratorie. Il muscolo cardiaco è solitamente risparmiato (30-32).

Nella forma intermedia, SMA tipo II, l'esordio clinico si verifica dopo i sei mesi. I muscoli maggiormente interessati sono quelli degli arti inferiori con deficit muscolare simmetrico, ipotonia dei muscoli del tronco ed ariflessia osteo-tendinea. I muscoli respiratori sono colpiti più tardivamente e le complicanze a carico dell'apparato respiratorio avvengono nelle fasi terminali della malattia. Sono più frequenti le fascicolazioni ed un discreto grado di atrofia della lingua. La sintomatologia ha un decorso lentamente progressivo, alternando periodi di apparente stasi a periodi di progressione della malattia. Frequentemente si osservano contratture e deformità scheletriche (33). L'esordio della sintomatologia nella SMA tipo III avviene tardivamente; si tratta infatti di pazienti che presentano un normale sviluppo motorio sino ad un anno e mezzo di vita circa e solo successivamente iniziano a manifestare la sintomatologia muscolare. La malattia esordisce con facile faticabilità muscolare, difficoltà a salire le scale, frequenti cadute; l'ipotonia e la debolezza muscolare, facilmente evidenziabili tramite la manovra di Gowers, sono localizzate quasi esclusivamente a livello dei muscoli prossimali degli arti. I riflessi osteo-tendinei sono generalmente ipoelicitabili o assenti, la deambulazione avviene con difficoltà (34).

La scoperta di alcuni geni la cui alterazione è responsabile delle SMA ha migliorato sensibilmente le possibilità diagnostiche della malattia, permettendo di effettuare la diagnosi prenatale, ma tuttavia non ha migliorato le possibilità terapeutiche della malattia stessa.

Il trattamento infatti, è tutt'oggi principalmente sintomatica ed è basata sul trattamento e la prevenzione delle complicanze respiratorie nella SMA di tipo I, nella prevenzione delle contratture muscolari e nel mantenimento della funzionalità muscolare (fisioterapia), nella SMA di tipo II e III.

### ***Varianti SMA***

Accanto alla forma classica di SMA, nel corso degli anni sono stati descritti casi di alcuni pazienti affetti da SMA che mostrano disturbi e/o anomalie a carico di altri organi ed apparati; queste forme vengono definite "Varianti SMA".

Attualmente, le "Varianti SMA" di maggiore significato clinico sono:

- 1) SMA con grave coinvolgimento diaframmatico e insufficienza respiratoria precoce;
- 2) SMA con ipoplasia olivo-pontocerebellare;
- 3) SMA con artrogriposi e fratture ossee;
- 4) SMA e anomalie cardiache congenite.

I risultati degli studi di linkage e l'analisi delle delezioni del gene SMN, fino ad oggi hanno permesso di escludere, almeno per le prime tre forme, fenomeni di linkage al cromosoma 5 (5q); la delezione del gene SMN è stata invece riportata in alcuni pazienti con SMA ed anomalie congenite cardiache.

---

## Conclusioni

**L**e malattie neuromuscolari neonatali rientrano nel gruppo delle patologie genetiche rare, tuttavia se prese nel loro insieme possono essere considerate patologie frequenti che costituiscono una importante causa di disabilità e mortalità infantile e che pongono notevoli difficoltà diagnostiche e di management clinico in quanto la gravità ed il profilo evolutivo varia molto da una malattia all'altra.

Già in età prenatale è possibile il riscontro di riduzione dei movimenti fetali ridotti e alterazioni a carico del liquido amniotico. In epoca neonatale tali patologie esordiscono con ipotonia e ipostenia che rappresentano i sintomi di più comune riscontro che accomunano tutte le MNM, che presentano comunque una forte eterogeneità fenotipica. Si passa infatti da forme severe ad esordio neonatale, a forme moderate o lievi che esordiscono in genere con sintomatologia più sfumata in età adulta.

Il riscontro di normali livelli sierici di CPK non esclude la presenza di degenerazione muscolare. L'EMG risulta d'ausilio nella diagnosi differenziale tra le forme centrali di ipotonia dalle forme periferiche e in taluni casi, come nelle sindromi miasteniche congenite, mostra un pattern caratteristico che ci permette di porre diagnosi di specifica MNM.

L'applicazione di tecnologie di genetica molecolare negli ultimi decenni ha consentito notevoli progressi nel campo della diagnostica di tali patologie tanto che per far diagnosi è necessaria la conferma dell'analisi genetica. Inoltre il riscontro di mutazioni genetiche specifiche per tali patologie ha permesso l'effettuazione di una classificazione genica con l'identificazione di alcune patologie, determinate da mutazioni genetiche differenti, che venivano considerate come unica entità in quanto accumulate da uno stesso quadro fenotipico.

La biopsia muscolare considerata in epoca pre-genetica il gold standard per la cura di questa patologia rappresenta ancora uno strumento di ausilio per la diagnostica di alcune forme caratterizzate da un quadro istopatologico peculiare, ma l'indagine genetica è sempre necessaria per la conferma diagnostica.

Non esiste in atto una terapia farmacologica per la cura di queste patologie, anche se l'identificazione delle mutazioni specifiche e i grandi progressi

osservati nell'ambito delle terapie geniche potrebbero aprire nuove opportunità per lo sviluppo di trials clinici nei pazienti affetti da MNM. È in atto fondamentale effettuare un approccio multidisciplinare nei confronti di questi pazienti che necessitano di numerose terapie di supporto rappresentate essenzialmente da supporto ventilatorio, terapia fisica riabilitativa e nei casi di gravi deformità osteoarticolare di trattamento chirurgico ortopedico.

***Conflitti di interesse.*** *Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse.*

## **Bibliografia**

Griggs RC, Amato AA. Overview of the muscular dystrophies. In: Griggs RC, Amato AA, editors. *Muscular dystrophies*. Edinburgh: Elsevier; 2011:1–9.

Mitsuhashi S, Kang PB. Update on the genetics of limb girdle muscular dystrophy. *Semin Pediatr Neurol*. 2012;19(4):211–218.

Nowak JK, Lamont PJ, Laing NG. Genetics of muscle disease. In: Goebel HH, Sewry CA, Weller RO, editors. *Muscle disease: pathology and genetics*. 2nd ed. Wiley Blackwell; 2013: 39–67.

Bonneman CG, Wang CH, Quijano-Roy S. Diagnostic approach to the congenital muscular dystrophies. *Neuromuscular Disord*. 2014; 24(4):189-311.

Endo T. Glycobiology of alpha-dystroglycan and muscular dystrophy. *J Biochem*. 2015; 157:1-12.

Buysse K, Riemersan M, Powell G. Missense mutation in beta 1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 1 cause Walker- Warburg Syndrome. *Hum Mol Genet*. 2013; 22:1746-1754.

Dobyns WB, Pagon RA, Aemstrong D. Diagnostic criteria for Walker-Warburg Syndrome. *Am J Med Genet*. 1989; 32:195-210.

Vajsar J, Schachter H. Walker-Warburg syndrome. *Orphanet J Rare Dis* 2006; 1:29.

Santavouri P, Somer H, Saino K. Muscle-eye-brain disease (MEB). *Brain Dev*. 1989; 11: 147-153

Falsaperla R, Praticò AD, Ruggieri M et al. Congenital muscular dystrophy: from muscle to brain. *Italian J Pediatr* 2016; 42(1):78

Geranmayeh F, Clement E, Feng LH, et al. Genotype-phenotype correlation in a large population of muscular dystrophy patients with LAMA2 mutations. *Neuromuscul Disord*. 2010; 20:241–250

Philpot J, Cowan F, Pennock J, et al. Merosin-deficient congenital muscular dystrophy: the spectrum of brain involvement on magnetic resonance imaging. *Neuromuscul Disord*. 1999; 9:81–85.

Quijano-Roy S, Khirani S, Colella M, et al. Diaphragmatic dysfunction in Collagen VI myopathies. *Neuromuscul Disord*. 2014; 24(2):125-133.

Mahadevan M, Tsilfidis C, Sabourin L, et al. Myotonic dystrophy mutation: an unstable CTG repeat in the 3' untranslated region of the gene. *Science*. 1992; 255:1253–1255

- Ekstrom AB, Hakenas-Plate L, Samuelsson L, Tulinius M, Wentz E. Autism spectrum conditions in myotonic dystrophy type 1: a study on 57 individuals with congenital and childhood forms. *Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet.* 2008; 147 B:918–26
- Mathieu J, Allard P, Potvin L, et al. A 10 year study of mortality in a cohort of patients with myotonic dystrophy. *Neurology* 1999; 52:1658–1662.
- Nance J.R., Dowling J.J., Gibbs E. Met al. Congenital myopathies: an update. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* 2011; 12:165–174.
- Romero NB, Sandaradura SA, Clarke NF. Recent advances in Nemaline myopathy. *Curr Opin Neurol.* 2013; 26:519-526
- Wallgren-Pettersson C, pelin K. Nowak KJ. ENMC. Genotype-phenotype correlation in Nemaline myopathy caused by mutation in the genes for nebulin and skeletal muscle alpha-actin. *Neuromuscul Disord.* 2004b; 14:461-470.
- Malicdan MCV, Nishino I. Central core disease. *GeneReviews.* 2013
- Hecmatt JZ, Sewry CA, Hodes D, et al. Congenital centronuclear myopathy. A clinical pathological and genetic study in eight children, *Brain.* 1985; 108(Pt 4): 941-964.
- Wallgren-Pettersson C; Crarke A, Samson F. The miotubular myopathies: differential diagnosis of the X linked recessive, autosomal dominant, and autosomal recessive form and present state of DNA studies. *J Med Genet.* 1995; 32: 673-679.
- Hacoem Y, Jacobson LW, Byrne S. Fetal acetylcholine receptor inactivation syndrome: a myopathy due to maternal antibodies. *Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm* 2015; 2:e57.
- Cruz PM, Palace J, Beeson D. Congenital myasthenic syndromes and the neuromuscular junction. *Curr Opin Neurol* 2014; 27: 566–75.
- Engel AG. Current status of the congenital myasthenic syndromes. *Neuromuscul Disord* 2012; 22(2): 99-111.
- Lorenzoni PJ, Scola RH, Kay CS. Congenital myasthenic syndrome: a brief review. *Pediatr Neurol* 2012; 46(3):141-148.
- Ogino S, Leonard DG, Rennert H. Genetic risk assesment in carrier testing for spinal muscular atrophy. *Am J Med Geet* 2002; 110; 301- 307.
- Prior TW, Snyder PJ, Rink BD, et al. Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet A* 2010; 152A: 1605-1607.
- Lefebvre S, Burglen L, Reboullet S, et al. Identification and characterization of a spinal muscular atrophy- determining gene. *Cell;* 1995, 80 :155-165.
- Finkel RS, et al. Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology.* 2014; 83(9):810–817.

Thomas NH, Dubowitz V. The natural history of type I (severe) spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord.* 1994; 4(5-6):497-502.

Zerres K, Rudnik-Schoneborn S. Natural history in proximal spinal muscular atrophy. Clinical analysis of 445 patients and suggestions for a modification of existing classifications. *Arch Neurol.* 1995; 52(5):518-523.

von Gontard A, et al. Intelligence and cognitive function in children and adolescents with spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord.* 2002; 12(2):130-136.

Zerres K, et al. A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients. *J Neurol Sci.* 1997; 146(1): 67-72.



## LA FIBROSI CISTICA E ALTRE MALATTIE GENETICHE RARE DEL POLMONE

*Giuseppe Fabio Parisi, Maria Papale, Lucia Tardino, Novella Rotolo, Salvatore Leonardi*

**L**a Fibrosi Cistica (FC), benché sia ancora considerata una malattia rara, rappresenta la più comune malattia genetica potenzialmente letale che colpisce la popolazione caucasica. Nel 2017 la Cystic Fibrosis Foundation ha aggiornato l'algoritmo diagnostico della patologia alla luce dell'aumento delle informazioni relative ai genotipi e ai fenotipi di malattia. Un'altra delle novità degli ultimi anni è l'introduzione in pratica clinica dei cosiddetti potenziatori e correttori della proteina CFTR con conseguente riaccensione delle speranze che i pazienti nutrono nei confronti della cura alla malattia. Tuttavia, quando si parla di malattie genetiche rare in età pediatrica la FC non è l'unica entità. Nel corso degli ultimi anni, come discusso nei paragrafi che seguono, sono aumentate le conoscenze relative ad altre patologie su base genetica del polmone quali la discinesia ciliare primitiva, le malattie da deficit di surfactante e la proteinosi alveolare.

---

### La Fibrosi Cistica (FC)

#### Introduzione

**L**a FC per decenni è stata considerata una patologia di esclusiva pertinenza pediatrica, ma negli ultimi anni grazie all'introduzione di nuovi regimi terapeutici ed all'individuazione di nuovi fenotipi della malattia i pazienti raggiungono l'età adulta e spesso, nelle cosiddette forme "mild", la diagnosi viene posta tardivamente (1).

La FC è secondaria ad un disordine ereditario autosomico recessivo del gene *Cystic Fibrosis Trans-Membrane Conductance Regulator* (CFTR) localizzato sul braccio lungo del cromosoma 7 che altera il trasporto degli ioni all'interno delle cellule; tale squilibrio determina una alterazione dei secreti cellulari in tutti i distretti corporei. L'apparato respiratorio costituisce l'organo maggiormente interessato, ma la FC egualmente pregiudica il pancreas, il sistema gastrointestinale, il sistema riproduttivo e molti altri organi (2).

#### Epidemiologia

La FC ha una incidenza pari a 1 caso su 2500/3000 nati con una frequenza di portatori sani pari a 1/25 (3). L'aspettativa di vita dei malati di FC è molto variabile anche in relazione alle aree geografiche: la sopravvivenza mediana

in Europa è intorno ai 40 anni ed ha visto un sensibile aumento negli ultimi 20 anni grazie al miglioramento delle terapie.

Dal 1998, considerata l'elevata incidenza della FC, è stato introdotto in Italia lo screening neonatale (test della tripsina immunoreattiva) mediante prelievo di una goccia di sangue dal neonato al terzo giorno di vita; la positività dello screening comporta l'esecuzione del test del sudore per la conferma della diagnosi di FC (4).

### **Eziopatogenesi**

Sono state riportate più di 2.000 varianti delle mutazioni del CFTR (sostituzione di un singolo aminoacido, alterazioni dell'RNA etc) che riducono ed alterano la funzione della proteina CFTR di membrana. Tali difetti sono stati suddivisi in 5/6 gruppi a seconda della funzionalità residua della proteina (5,6): la CFTR è completamente assente, viene degradata precocemente, non interagisce correttamente con AMP ciclico, presenta anomala regolazione del canale, viene prodotta in quantità insufficiente, ha un turnover accelerato.

La conseguenza della mutazione è una ridotta secrezione di cloro e un aumento del riassorbimento di sodio e acqua attraverso l'epitelio. Le secrezioni ne risultano disidratate, dense e di difficile eliminazione; nell'apparato respiratorio le secrezioni mucose risultano particolarmente vischiose facilitando la sovrainfezione microbica. Anche le secrezioni di altri organi (ghiandole sudoripare, tratto gastroenterico, pancreas) hanno le stesse caratteristiche.

### **Manifestazioni cliniche**

La presentazione clinica della FC nel neonato è caratterizzata da: ileo da meconio, sintomi respiratori e deficit della crescita staturo-ponderale. Nell'adulto, l'esordio clinico di FC è spesso inizialmente misconosciuto per la presenza di sintomi comuni ad altre patologie quali disturbi gastrointestinali, infezioni respiratorie ricorrenti, diabete mellito, infertilità. In molti casi la funzione pancreaticca è normale e il test del sudore fornisce risultati borderline.

I sintomi respiratori includono tosse produttiva persistente, iperinflazione all'esame radiografico e prove di funzionalità respiratoria indicative di malattia ostruttiva riconoscibili anche in assenza di sintomatologia evidente. Con la progressione della malattia, le bronchiti divengono ricorrenti sviluppando bronchiectasie, con recidive acute accompagnate da sintomatologia invalidante (tosse, tachipnea e dispnea, espettorato intenso, malessere ingra- vescente, anoressia, calo ponderale, talvolta ippocratismo digitale).

La frequente recidiva delle infezioni determina effetti ostruenti cronici sull'a-

anatomia bronchiale con formazione di bronchiectasie e fibrosi polmonare. Le infezioni respiratorie comportano un elevato rischio di morbilità e mortalità; le vie aeree dei pazienti con FC sono particolarmente suscettibili alle infezioni da *Pseudomonas aeruginosa* con il rischio, in caso di cronicizzazione, di conversione nel fenotipo mucoide del batterio che determina un peggioramento della prognosi. Un problema crescente è determinato dall'aumento di ceppi di stafilococco aureo meticillino-resistenti; altri patogeni risultano coinvolti nelle infezioni quali *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Achromobacter xylosoxidans*, micobatteri non tubercolari (*Mycobacterium avium*, *M. abscessus*), nonché micobatteri aspergillari. La difficoltà alla eradicazione degli agenti microbici è secondaria oltre che all'antibiotico resistenza, alla scarsa penetrazione degli antibiotici nelle secrezioni purulente delle vie aeree, a difetti specifici dei meccanismi di difesa attraverso la clearance della mucosa ed a produzione da parte dei batteri di biofilm che ostacola l'azione del farmaco (7).

L'interessamento del pancreas determina una insufficienza pancreatica esocrina con steatorrea, malassorbimento con ritardo di accrescimento; se non trattata adeguatamente determina una sindrome composta da edema, ipo-proteinemia, perdita di elettroliti, anemia, ipovitaminosi A, D, E e K. La FC si può manifestare anche esclusivamente sotto forma di pancreatite e può interessare altri distretti corporei (**Tab. 1**).

APP. RESPIRATORIO	CUORE	PANCREAS	APPARATO RIPRODUTTIVO	INTESTINO	OSSA	FEGATO	ALTRO
Bronchiectasie	Ipertrofia ventr. Destro	Pancreatiti	Infertilità (aspermia, agenesia deferenti)	Ileo da meconio	Artrite	Cirrosi epatica	malassorbimento
Polmoniti	Dilatazioni arterie polmonari	diabete	amenorrea	Prolasso rettale	osteoporosi	Ipertensione portale	Deficit di vitamine A,D,E,K
Emottisi			Ritardo puberale	Invaginazione		colecistiti	
pneumotorace				Volvolo			
Cuore polmonare				Fecalomi			
Insufficienza respiratoria							
Sinusite							

**Tab. 1.** Organi ed apparati interessati dalla Fibrosi Cistica

## Diagnosi

Grazie ai programmi di screening neonatale, oltre la metà dei casi di FC viene diagnosticata prima delle manifestazioni cliniche; talvolta è possibile anche una diagnosi prenatale, attraverso la dimostrazione ecografica di dilatazione intestinale, evidenze di peritonite da meconio, atresia biliare.

Una precoce diagnosi permette di trattare adeguatamente i primi sintomi della malattia al fine di ritardare l'insorgenza progressiva delle complicanze che portano ad *exitus*.

Nel 2017, la Cystic Fibrosis Foundation ha revisionato l'algoritmo diagnostico della FC (8) (**Fig. 1**). Nonostante le novità introdotte nella gestione della patologia, il gold standard per la diagnosi rimane sempre la dimostrazione dell'anomala funzione della proteina CFTR tramite test del sudore [20]. Il test del sudore deve essere eseguito secondo le linee guida del 2009 del Clinical and Laboratory Standards Institute (9). Seguire correttamente tale procedura è fondamentale per ottenere risultati accurati e ridurre al minimo la possibilità di ottenere inadeguate quantità di sudore. Nei neonati con screening positivo, il test del sudore deve essere eseguito bilateralmente e già quando il bambino ha un peso superiore ai 2 kg e abbia un'età gestazionale corretta di almeno 36 settimane. Tale test andrebbe eseguito idealmente dopo i 10 giorni di vita ma entro il primo mese di vita. Tenuto conto di ciò, nel bambino positivo allo screening in cui sia forte il sospetto clinico di FC, il trattamento non deve essere ritardato e va iniziato anche se non si ha il risultato del test del sudore.

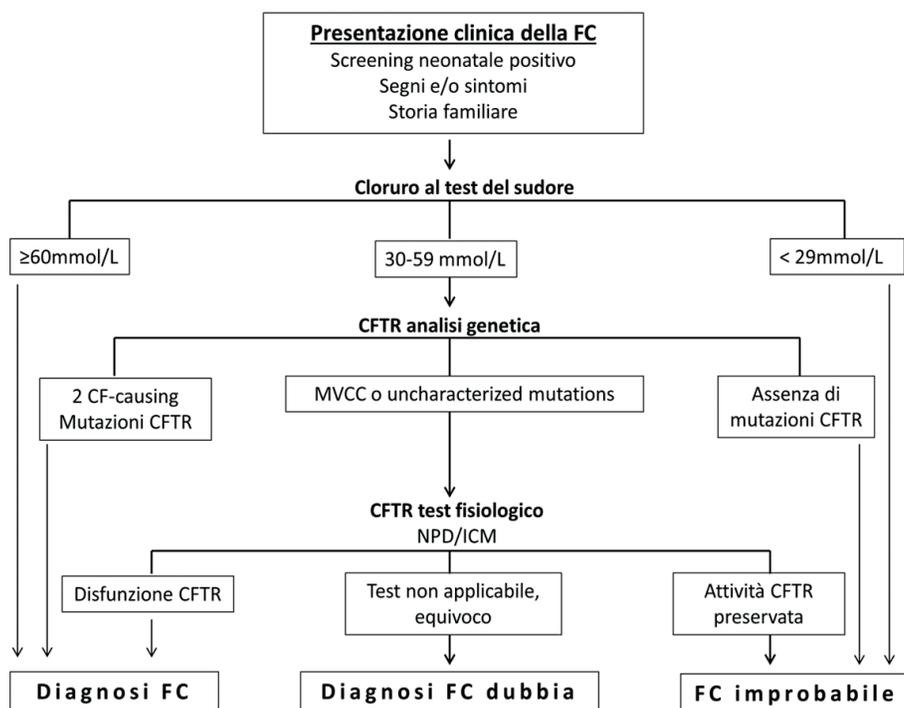
Il riscontro di valori di cloruro superiori a 60 mmol/l in pazienti con screening positivo, caratteristiche cliniche compatibili con FC o storia familiare positiva consente di porre diagnosi di fibrosi cistica. Il test genetico a questo punto confermerà le due mutazioni responsabili.

Valori di cloruro <30 mmol/l indicano una bassa probabilità di avere la FC. Tale limite vale per tutte le età e va a modificare le precedenti linee guida per i bambini di età superiori ai 6 mesi (in cui il limite era 40 mmol/l) in seguito al riscontro di casi di FC in pazienti i cui valori di cloruro al test del sudore erano compresi tra i 30 e i 39 mmol/l.

I casi dalla gestione più complessa sono quelli in cui il test del sudore dà valori di cloruro compreso tra i 30 e i 59 mmol/l. In tal caso, diventa importante eseguire l'esame genetico. Per l'interpretazione di quest'ultimo può essere utile consultare il database CFTR2 (10).

## Terapia

I presidi adottati nel management della FC prevedono una assistenza medica,



**Fig. 1.** Nuovo algoritmo diagnostico della fibrosi cistica. Abbreviazioni: NPD = potenziali nasali; ICM = correnti intestinali. Tradotto da: ( 7) Farrell PM, White TB, Ren CL, Hempstead SE, Accurso F, Derichs N, Howenstine M, McColley SA, Rock M, Rosenfeld M, Sermet-Gaudelus I, Southern KW, Marshall BC, Sosnay PR. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.* 2017; 181S:S4-S15.

nutrizionale, fisioterapia e psicologica; in corso di riacutizzazioni vengono instaurati trattamenti antimicrobici mirati sulla base di esami colturali. La terapia medica di mantenimento si prefigge di preservare la funzione polmonare evitando il rischio di infezioni e assicurando l'integrità e pulizia delle vie aeree mediante l'utilizzo di agenti mucolitici, broncodilatatori e fisioterapia per favorire il drenaggio del muco. Inoltre, deve essere supportata una adeguata crescita ponderale con la terapia nutrizionale (supplementazione enzimatica, vitamine e minerali). Negli ultimi anni e solo in presenza di alcune mutazioni genetiche sono utilizzate terapie a base di potenziatori e modulatori di membrana che inducono un aumento del numero e dell'attività della proteina CFTR (11).

Talora l'evoluzione della FC determina emergenze cliniche che necessitano di trattamento chirurgico in caso urgenze polmonari (pneumotorace, emoftoe ricorrente, poliposi nasale, sinusite cronica) o gastrointestinali (ileo

meccanico, intussuscezione, fecalomi, gastrostomia per alimentazione, prolasso rettale) (12,13). In casi non più suscettibili di terapia medica secondaria all'evoluzione clinica della FC l'unica opzione terapeutica finora disponibile è costituita dal trapianto polmonare e/o epatico (14).

---

## **Discinesia Ciliare Primitiva (PCD)**

### **Introduzione**

**L**a PCD è una malattia rara, geneticamente eterogenea, caratterizzata da disfunzione ciliare con ridotta clearance muco ciliare. Essa determina una serie di manifestazioni cliniche tra cui bronchite cronica che esita in bronchiectasie, sinusite cronica, otite media cronica, infertilità maschile e nel 40-50% dei casi situs viscerum inversus, dovuto all'alterazione delle ciglia nodali durante l'embriogenesi (13). La triade situs viscerum inversus, bronchiectasie e sinusite è conosciuta come Sindrome di Kartagener (14).

### **Epidemiologia**

La prevalenza della PCD è molto difficile da stimare, sia a causa dell'ampio range di severità clinica sia perché molti casi ad espressività lieve rimangono verosimilmente non diagnosticati, ma secondo la recente consensus della European Respiratory Society la stima più attendibile di prevalenza è quella data da uno studio giapponese del 1972 di 1:4100 (15-16). L'incidenza stimata considerando il situs viscerum inversus e le bronchiectasie è di circa 1 caso su 16.000 nati (17). In Europa, l'età media al momento della diagnosi dei pazienti affetti da PCD è di circa 5,3 anni (18-19).

### **Fisiopatologia**

Le ciglia sono organuli, altamente specializzati e complessi, formati da più di 360 proteine. Da sempre riconosciute per il loro ruolo nella motilità delle cellule e nel trasporto dei fluidi sulle superfici mucose, recentemente alle ciglia è stata attribuita anche una funzione sensitiva che modula elementi di sviluppo e funzione cellulare. Nella PCD si ha un'alterazione sia della motilità ciliare che della clearance mucociliare che può essere ridotta o completamente assente (20). Sia le ciglia mobili che quelle sensitive sono costituite da una serie di microtubuli altamente organizzati e da elementi accessori. Le ciglia sono estroflessioni della membrana delle cellule epiteliali di forma

tubulare, all'interno delle quali si trova un nucleo citoscheletrico detto assonema, costituito da un insieme di microtubuli (21). La diversa organizzazione dell'assonema, permette di distinguere due modelli strutturali: ciglia primarie e ciglia nodali a struttura "9+0" e ciglia mobili a struttura "9+2" (22). Le ciglia primarie, il cui assonema è formato solo da nove coppie di microtubuli, sono strutture immobili. Le ciglia mobili, invece, devono la propria motilità ad un assonema formato da nove coppie di microtubuli periferici che circondano un'unica coppia di microtubuli centrali. Ogni coppia di microtubuli periferici, formata da un microtubulo completo (microtubulo A) e un microtubulo parziale (microtubulo B), è connessa, tramite ponti di nexina, alle coppie di microtubuli periferici adiacenti e, mediante i raggi di connessione (radial spokes), alla coppia di microtubuli centrali (Fig. 2).

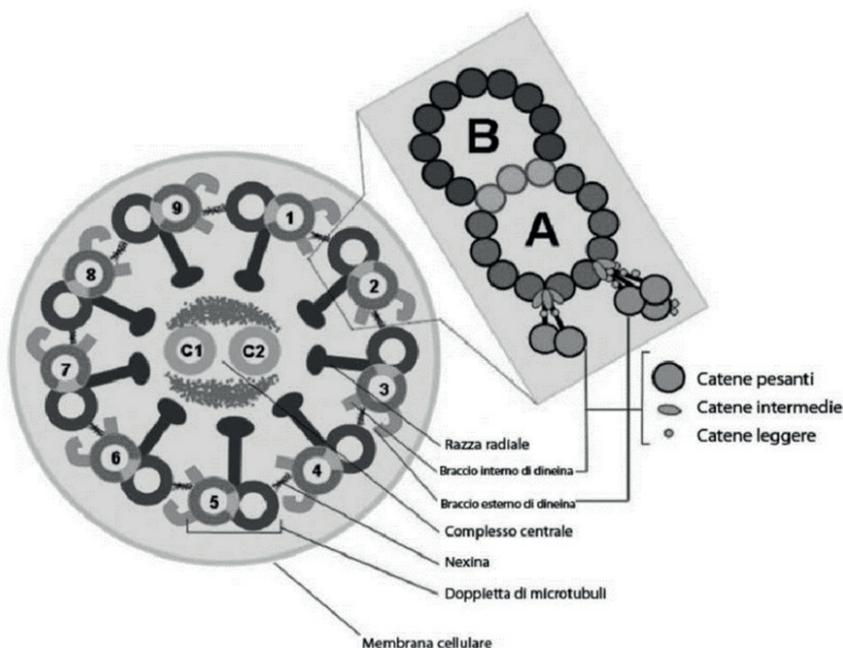


Fig. 2

## Eziopatogenesi

La PCD è una malattia ad ereditarietà prevalentemente autosomico-recessiva. Gli studi di linkage convenzionali basati su un'ampia analisi del genoma familiare non hanno permesso di identificare i geni responsabili della malattia. Il test dei geni candidati ha permesso invece di identificare il primo gene responsabile di PCD, DNAI1. Questo test sfrutta il fatto che l'assonema

è molto conservato dal punto di vista evolutivo e quindi gli ortologi umani di geni che notoriamente causano difetti ciliari ultrastrutturali e funzionali in altre specie sono candidati per PCD. Infatti per l'identificazione di DNAI1 è stata usata la *Chlamydomonas*, un'alga unicellulare, biflagellata. La maggior parte dei geni finora identificati per le varianti di PCD a trasmissione autosomica recessiva codificano per il braccio esterno di dineina e sono dineina assonemiale catena intermedia 1 (DNAI1), dineina assonemiale catena intermedia 2 (DNAI2), catena pesante 5 (DNAH5), catena pesante 11 (DNAH11) e dominio contenente tioredoxina 3 (TXNDC3). Solo un gene (chiamato KTU, sul cromosoma 14) è richiesto per il pre-assemblamento citoplasmatico della dineina assonemiale. Mutazioni in altri due geni, RSPH9 e RSPH4A (codificanti per la razza radiale), sono state descritte in soggetti affetti da PCD con assenza della coppia centrale di microtubuli (17).

### Manifestazioni cliniche

La sintomatologia della PCD presenta diversi livelli di gravità ed è piuttosto aspecifica. Considerando che il movimento mucociliare è il primo meccanismo di difesa delle vie aeree, ogni alterazione funzionale, primaria o acquisita può portare ad una sintomatologia seno-polmonare cronica. Le manifestazioni cliniche variano in base all'età del paziente al momento della diagnosi (23).

Già in epoca neonatale la maggior parte dei pazienti presenta distress respiratorio. Nella prima infanzia si è solitamente in presenza di rinite persistente e tosse cronica. In associazione alla sintomatologia respiratoria si può avere spesso inappetenza e scarso accrescimento (24). La presenza di *situs viscerum inversus* è sinonimo di malattia visto che è stato riscontrato in circa il 40% della popolazione affetta. Le patologie più frequentemente associate sono rinosinusite e otite media. A causa dell'alterazione della motilità ciliare si hanno bronchiti e polmoniti ricorrenti solitamente legate alla presenza nell'espettorato di *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus Aureus*, *Streptococcus Pneumoniae* e *Pseudomonas Aeruginosa* che possono colonizzare in maniera cronica le vie aeree del paziente (25). La progressione della malattia è inoltre caratterizzata dallo sviluppo di bronchiectasie. Tale sintomatologia impone la necessità di fare una diagnosi differenziale con un'altra patologia polmonare cronica quale la fibrosi cistica. I maschi affetti sono tipicamente sterili per la ridotta motilità degli spermatozoi. Sono inoltre state descritte anomalie congenite associate quali retinite pigmentosa, rene policistico, atresia delle vie biliari, malattia cistica del fegato, atresia esofagea. La presenza di una o più di queste condizioni associate a familiarità deve far sospettare la PCD (26-27) (**Tab. 2**).

MANIFESTAZIONI CLINICHE
Tosse cronica 46%
Rinorrea cronica 42%
Situs inversus 38%
Distress respiratorio neonatale 37%
Otite media cronica 28%
Escreato abbondante 24%
Sinusiti croniche 6%
Familiarità 6%

Tab. 2

## Diagnosi

La diagnosi della PCD in fase precoce non è semplice. Dovrebbe essere basata sulla presenza di un fenotipo clinico tipico e su test diagnostici appropriati. Secondo La European Respiratory Society task force bisognerebbe porre il sospetto diagnostico in presenza di:

- Situs viscerum inversus;
- Familiarità;
- Distress respiratorio;
- Tosse cronica, bronchiectasie o grave patologia delle vie aeree superiori;
- Astenospermia.

La diagnosi di conferma raccomandata dalla consensus europea viene fatta mediante microscopia elettronica e l'analisi della motilità ciliare su brushing nasale per determinare l'ultrastruttura e la funzione delle ciglia (28). Nuove metodiche sono state messe in atto negli ultimi anni per migliorare ed ottimizzare la diagnosi quali l'analisi del battito ciliare, la misurazione dell'ossido nitrico nasale, il test alla saccarina ed il test di clearance mucociliare di radioaerosol (29-31).

## Terapia

In atto non esiste una terapia in grado di modificare l'alterata motilità ci-

liare, pertanto la terapia è sintomatica e lo scopo terapeutico deve essere quello di preservare il più possibile la funzionalità polmonare riducendo il numero di riacutizzazioni respiratorie. Solitamente viene preso come modello terapeutico quello usato per la FC. La terapia si basa essenzialmente sulla fluidificazione dei secreti bronchiali mediante ipertonica salina per via aerosolica, Dornase alfa e successiva rimozione di tali secreti mediante fisioterapia respiratoria. Per il trattamento dell'infiammazione si utilizzano agenti anti-infiammatori quali Ibuprofene, corticosteroidi orali ed Azitromicina. Purtroppo non esistono evidenze scientifiche sulla somministrazione di anti-infiammatori nei pazienti con PCD (32-33). Per il trattamento delle infezioni, la terapia si basa essenzialmente sull'uso di antibiotici per bocca e per via inalatoria diretti contro i germi principalmente responsabili della patologia respiratoria. In presenza di *Pseudomonas aeruginosa* possono essere usati antibiotici inalatori quali Tobramicina e Colistina, che normalmente vengono utilizzati in fibrosi cistica (34-35). La terapia antibiotica endovenosa viene utilizzata nel momento in cui si hanno frequenti riacutizzazioni e quindi scarsa risposta alla terapia convenzionale. Nei pazienti affetti da PCD si assiste quindi ad una compromissione della funzionalità respiratoria sin dai primi anni di vita, per tale motivo sarebbe auspicabile creare dei modelli terapeutici standardizzati (36). Purtroppo a differenza della fibrosi cistica non esistono ancora modulatori genetici.

## Malattie interstiziali

### Introduzione

**L**e interstiziopatie polmonari pediatriche (Children's Interstitial Lung Diseases, chILD) sono un sottogruppo delle malattie polmonari diffuse (Diffuse Lung Diseases, DLD) e comprendono patologie eterogenee, caratterizzate da una diminuzione degli scambi gassosi e dal riscontro radiologico di diffusi infiltrati polmonari parenchimali. Rientrano nelle malattie rare con un'incidenza di 1,3-3,6 casi per milione (37). L'incidenza è a predominanza maschile e per circa il 15% dei casi presenta trasmissione ereditaria. Una classificazione del CHILD Research Network divide le DLD in due grandi gruppi: disordini prevalenti dell'infanzia e malattie non specifiche dell'infanzia (**Tab. 3**) Per la maggior parte dei casi sono associate ad alterazioni congenite o acquisite del surfactante polmonare (38).

### Classificazione delle malattie polmonari pediatriche

#### *Disordini prevalenti nell'infanzia*

Disordini diffusi dello sviluppo

- Displasia acinare
- Displasia alveolare congenita
- Displasia alveolo-capillare con disallineamento della vena polmonare

Anomalie della crescita

- Ipoplasia
- Malattie polmonari croniche neonatali
  - a. Displasia broncopolmonare
  - b. Malattia polmonare cronica nel neonato a termine
- Modificazioni strutturali polmonari con anomalie cromosomiche
  - a. Trisomia 21
  - b. Altre malattie polmonari associate con anomalie cardiache congenite senza anomalie cromosomiche

Condizioni specifiche con eziologia ignota

- Glicogenosi polmonare interstiziale
- Iperplasia delle cellule neuroendocrine dell'infanzia

Mutazioni e disfunzioni del surfattante alveolare e malattie correlate

- Mutazioni di SPFTB-PAP e vari pattern istologici dominanti
- Mutazioni di SPFTC-pattern istologico dominante di CPI; anche DIP e NSIP
- Mutazioni di ABCA3-pattern istologico dominante di PAP; anche CPI, DIP, NSIP
- Altre

*Malattie non specifiche dell'infanzia*

*Malattie non classificate* - includono malattie *end-stage* e biopsie non diagnostiche

**Tab. 3.** *Classificazione delle chILD da parte della American Thoracic Society. Modificato da Kurland et al., 2013 (38). PAP = proteinosi alveolare polmonare; CPI = polmonite cronica dell'infanzia; DIP = polmonite desquamativa delle cellule interstiziali; NSIP = polmonite interstiziale non-specifica.*

## Surfactante polmonare

Il surfattante polmonare è una miscela idrolipidica sintetizzata all'interno del reticolo endoplasmatico dalle cellule alveolari di tipo II, costituita per il 90% da fosfolipidi in particolare la fosfatidilcolina e per il 10% da quattro proteine specifiche Surfactant Protein (SP-) di tipo -A , SP-B, SP-C e SP-D.

Esso ricopre la superficie degli alveoli ponendosi all'interfaccia aria-liquido e possiede una duplice funzione: tensioattiva, favorendo l'espansione alveolare e immunitaria come agente della difesa immunitaria innata (39). La porzione proteica svolge un ruolo essenziale al mantenimento delle funzioni sopracitate. SP-A e SP-D sono proteine coinvolte nei meccanismi della difesa immunitaria innata, in quanto capaci di legare e di favorire l'eliminazione di diversi tipi di microorganismi. SP-A inoltre è coinvolta nella formazione della mielina tubulare, facilitando l'assorbimento del surfattante alla interfaccia aria-acqua negli alveoli e ne regola sia il re-uptake che la secrezione. SP-D regola il catabolismo e il pool-size del surfattante, influenzandone la struttura fisica. SP-B (la più importante a contribuire la riduzione della tensione superficiale) e SP-C sono invece coinvolte nella formazione, secrezione e organizzazione strutturale del surfattante (40).

## Eziopatogenesi

### **a. Mutazioni di SFTPB (SP-B)**

SP-B è codificata dal gene SFTPB localizzato sul cromosoma 2p11.2. Ad oggi sono stati descritti diversi tipi di mutazioni di SFTPB, tuttavia la più frequente a causare deficit di SP-B nel surfattante è la sostituzione, nel codone 121, di 3 nucleotidi (GAA) al posto di un singolo nucleotide (C) (121ins2). Il deficit di SP-B, a trasmissione autosomica recessiva, esordisce clinicamente con un quadro simile alla sindrome da distress respiratorio (RDS) che evolve verso un'insufficienza respiratoria progressiva talvolta fatale. La somministrazione di surfattante e di corticosteroidi, così come il supporto della ventilazione meccanica spesso non sono efficaci e il trapianto di polmone rappresenta l'unica soluzione (41).

### **b. Mutazioni di SFTPC (SP-C) SP-C è codificata dal gene SFTPC localizzato sul cromosoma 8p21.3.**

Le mutazioni di SFTPC sono trasmesse in maniera autosomica dominante e sono legate a diversi tipi di malattie interstiziali polmonari. La mutazione di SFTPC che comporta la presenza di un residuo di treonina anziché isoleucina a livello del codone 73 di SP-C rappresenta una significativa porzione delle mutazioni associate alle malattie polmonari interstiziali. Pazienti con questo tipo di mutazioni presentano accumulo a livello alveolare di fosfolipidi, proteine e macrofagi (42).

### **c. Mutazioni del trasportatore ATP binding cassette number A3 (ABCA3)**

La proteina ABCA3 è un trasportatore localizzato a livello delle membrane dei corpi lamellari coinvolto sia nella sintesi del surfattante che nella sua secrezione. La prima descrizione di mutazioni a carico del gene per l'ABCA3 è

stata fatta in una popolazione di neonati a termine, con deficienza del surfattante non riconducibile a un deficit di SP-B. Come il deficit di SP-B, il deficit di ABCA3 è trasmesso in maniera autosomica recessiva e generalmente è fatale, a meno che non vi sia il trapianto polmonare. Diversi tipi di mutazioni a livello del gene per l'ABCA3 (che non causano deficit della proteina) sono invece associati a forme croniche di malattia polmonare interstiziale (43).

#### ***d. Mutazioni del gene codificante per TFF-1 (o NKX2.1)***

La nomenclatura TFF-1, o meglio, NKX2.1 si riferisce allo stesso gene. NKX2.1 è un fattore di trascrizione fondamentale nell'asse cervello-tiroide-polmoni ed è infatti un potente regolatore dell'espressione dei geni che codificano per le proteine SP-B, SP-C e ABCA3. I fenotipi respiratori dei pazienti con mutazioni a carico del gene NKX2.1 sono vari e spaziano dall'asma all'insufficienza respiratoria severa, con sintomatologia simile ai deficit di proteine del surfattante, ma con esiti clinici variabili (44).

### **Alterazioni acquisite del metabolismo del surfattante nelle malattie polmonari pediatriche**

L'origine genetica o autoimmune è la principale caratteristica delle interstiziopatie pediatriche; ciononostante il metabolismo del surfattante può essere alterato secondariamente ad altre patologie che coinvolgono il polmone, come ernia diaframmatica in quanto studi dimostrano un aumento del turnover e un minor pool-size della SP-C del surfattante nei pazienti con ernia diaframmatica rispetto ai controlli. Nei soggetti con broncodisplasia polmonare (BPD) è stato riscontrato che la quantità e la vita media della SP-C si sono dimostrate correlate alla gravità della malattia respiratoria (45). È stato inoltre dimostrato in seguito come la terapia con desametasone in bambini ad alto rischio di BPD diminuisca i marker infiammatori polmonari, e, allo stesso tempo, aumenti la quantità alveolare di SP-C (46).

### **Manifestazioni cliniche**

L'interstiziopatia neonatale può presentarsi nel neonato a termine subito dopo la nascita come una grave insufficienza respiratoria in rapido declino senza nessuna apparente causa scatenante. Le forme a esordio postnatale hanno la dispnea come sintomo principale (presente nel 75-90% dei pazienti) e possono anche caratterizzarsi per la presenza di ipossiemia, tosse, crepiti, gemiti, cianosi, ipertensione polmonare, reflusso gastroesofageo, arresto della crescita. L'auscultazione si è dimostrata normale in un terzo dei casi mentre il pectus excavatum è stato riportato soprattutto nelle mutazioni del gene ABCA3 (47).

## Diagnosi

I bambini con chILD devono presentare almeno tre dei seguenti criteri:

1. **sintomi respiratori** (tosse, dispnea, intolleranza allo sforzo);
2. **segni respiratori** (tachipnea a riposo, rumori patologici all'auscultazione del torace, cianosi, mancata crescita, insufficienza respiratoria);
3. **ipossiemia**;
4. **infiltrati diffusi** alla radiografia del torace o alla TC del torace. Inoltre sono da valutare attentamente segni di una malattia sistemica (in particolare a carico dei reni, pelle, fegato, occhi e articolazioni), e segni di ipertensione polmonare e di reflusso gastroesofageo (48).

La radiografia del torace raramente permette di far diagnosi di una specifica forma diILD, rivelando generalmente solo anomalie aspecifiche. L'ecocardiogramma è raccomandato dall'ATS e da chILD-EU nella valutazione iniziale del bambino con insufficienza respiratoria, per escludere malformazioni cardiache o segni di ipertensione polmonare.

La TC del torace ad alta definizione identifica la presenza, l'estensione e il pattern della malattia polmonare, ma raramente permette di giungere a una diagnosi precisa a parte nei casi di proteinosi alveolare, alveolite allergica estrinseca e iperplasia delle cellule neuroendocrine dell'infanzia. La broncoscopia con il broncolavaggio alveolare (BAL) ha un ruolo limitato nella diagnosi e nel monitoraggio clinico (49).

Nel corso degli ultimi anni un importante contributo alla diagnosi delleILD è stato fornito dalla genetica, in particolare attraverso l'identificazione di nuove mutazioni che coinvolgono geni responsabili della produzione del surfattante. In particolare, in presenza di un neonato di età gestazionale  $\geq 36$  settimane affetto da insufficienza respiratoria acuta rapidamente progressiva non spiegata da altre cause e che non risponde alle terapie convenzionali, è molto raccomandata l'esecuzione di un approfondimento genetico, escludendo in particolare mutazioni a carico di SFTPB e ABCA3. Allo stesso modo, in presenza di un bambino più grande con malattia polmonare interstiziale non identificata e storia familiare positiva per malattie respiratorie croniche o distress respiratorio infantile, è opportuno richiedere l'analisi genetica per SFTPC e ABCA3 (50).

L'analisi genetica permette di avviare a test più invasivi come la biopsia polmonare, fornendo importanti informazioni sulla prognosi degli individui affetti; tuttavia, gli elevati costi legati a tale indagine ed i lunghi tempi di esecuzione rappresentano un limite, soprattutto in quei casi nei quali l'evo-

luzione della malattia è rapidamente ingravescente.

## Terapia

In letteratura non ci sono studi standardizzati in merito agli interventi terapeutici. L'utilizzo della terapia immunosoppressiva (corticosteroidi, idrossiclorochina, ciclofosfamide, azatioprina) ha evidenze limitate e, dati i noti effetti collaterali, la decisione di intraprendere un trattamento immunosoppressivo deve essere valutata caso per caso (51). Per monitorare il manifestarsi di effetti collaterali gravi, l'utilizzo cronico di corticosteroidi va coadiuvato da misure della densità ossea, monitoraggio della crescita staturponderale e da uno screening oftalmologico. Allo stesso modo, l'uso di idrossiclorochina deve prevedere il monitoraggio oftalmologico ed emocromo con formula da eseguirsi periodicamente. Il trapianto di polmone è un'opzione in pazienti con malattia polmonare particolarmente grave o in serio pericolo di vita. Un ruolo importante svolge la terapia di supporto: l'ossigenoterapia domiciliare, il supplemento nutrizionale, le vaccinazioni (in particolare l'antipneumococcica e l'antinfluenzale stagionale) (52).

---

## Proteinosi Alveolare Polmonare (PAP)

### Introduzione

**L**a PAP è una rara patologia che, al contrario della sindrome da deficit delle proteine del surfattante, si caratterizza per l'accumulo di surfattante all'interno degli spazi alveolari per un meccanismo di iperproduzione o, più frequentemente, per un'alterata clearance (53). Il surfattante viene normalmente degradato dagli pneumociti di II tipo e dai macrofagi alveolari. Quando questo meccanismo non avviene correttamente, il surfattante si accumula all'interno degli alveoli determinando un effetto tossico nei confronti delle strutture alveolari che conduce, in ultima istanza, verso un quadro di interstiziopatia grave e diffusa (54).

### Eziopatogenesi

Il Fattore di Crescita di Granulociti e Macrofagi (GM-CSF) svolge un ruolo chiave nella patogenesi di questa malattia. In condizioni normali, esso determina la differenziazione, la proliferazione e la sopravvivenza di monociti, neutrofili e cellule dendritiche garantendo i normali meccanismi dell'immunità innata. È quindi importante anche nell'omeostasi del surfattante in

quanto, un suo deficit di funzione non consente la migrazione dei macrofagi alveolari e conseguentemente la corretta degradazione del surfattante dagli spazi alveolari (55). Infatti, topi a cui è stato silenziato il gene che codifica per la proteina GM-CSF mostrano quadri polmonari simili a ciò che accade nella PAP (56). In dettaglio, il GM-CSF agisce tramite un recettore costituito da due subunità, alfa e beta; mutazioni a carico dei geni che codificano per queste subunità (CSF2RA e CSF2RB) determinano un mancato funzionamento del recettore con conseguente mancato effetto della citochina che, in ultima istanza, non consentendo la corretta clearance del surfattante conduce al quadro di PAP (57-58).

In relazione all'eziopatogenesi, esistono tre forme di PAP:

- **Autoimmune:** è la forma più comune in assoluto ed è dovuta alla presenza di anticorpi diretti contro il GM-CSF. Ad oggi, non è noto il motivo per cui questi anticorpi si formino. Si conosce solamente che questo accade più frequentemente nei fumatori (59).
- **Secondaria:** dovuta alla carenza di macrofagi alveolari. Tale evenienza è comune in presenza di patologie oncoematologiche (sindromi mielodisplastiche, leucemie) o immunodeficienze (sindrome di Di George, immunodeficienza comune variabile) (60).
- **Congenita:** è la forma tipica dell'età pediatrica, benché in assoluto la meno frequente, ed è dovuta a mutazioni a carico dei geni CSF2RA e CSF2RB che codificano rispettivamente per le subunità alfa e beta del recettore della citochina GM-CSF. Mutazioni del gene CSF2RA sono state riportate in bambini (da neonati fino a 9 anni di età) e sono trasmesse con meccanismo autosomico recessivo a penetranza incompleta. Le mutazioni del gene CSF2RB sono meno frequenti e determinano un quadro clinico più attenuato (57-58). La PAP congenita è stata descritta anche associata ad una malattia metabolica, l'intolleranza proteica lisinurica, dovuta a mutazioni del gene SLC7A7 che comporta un trasporto difettivo degli aminoacidi cationici attraverso la membrana cellulare delle cellule epiteliali di intestino e reni. Inoltre, l'espressione del gene SLC7A7 è mediata anche dalla citochina GM-CSF e ciò spiegherebbe perché chi soffre di tale malattia metabolica ha anche manifestazioni polmonari simili alla PAP (61).

## **Epidemiologia**

Da un punto di vista epidemiologico, la PAP è una malattia polmonare rara. La prevalenza varia tra i 3 e i 40 casi per milione di abitanti. L'incidenza è di

0.2 casi per milione. La forma autoimmune è la più frequente, con circa il 90% dei casi relativi. I maschi sono leggermente più colpiti rispetto alle femmine con un rapporto di 1.5:1 (53).

### Presentazione clinica

I sintomi della PAP non sono specifici e circa 1/3 dei pazienti può essere asintomatico o paucisintomatico. La dispnea è il sintomo più frequente ed è presente nel 39% dei pazienti. La tosse si manifesta in circa il 21% dei soggetti affetti. Meno frequenti sono emottisi, febbre e dolore toracico. La sintomatologia peggiore in concomitanza di eventi infettivi polmonari e può esitare in quadri di insufficienza respiratoria acuta e cronica. L'esame obiettivo di questi pazienti può anche essere normale; tuttavia, i soggetti affetti possono anche presentare cianosi, rientramenti respiratori, ippocratismo digitale, rantoli all'auscultazione del torace (62).

### Diagnosi

Dato che la presentazione clinica della PAP non è specifica, la diagnosi si avvale della sierologia, della radiologia e della broncoscopia.

Da un punto di vista sierologico, è stato dimostrato che circa il 50% dei pazienti presenta un aumento della lattico deidrogenasi (LDH) e dell'antigene carcinoembrionario (CEA). Nelle forme autoimmunitarie, è possibile dosare gli anticorpi IgG anti GM-CSF mediante tecnica ELISA. Un livello superiore a 2,8 mcg/ml è suggestivo di PAP (54, 59, 62-63).

Da un punto di vista radiologico, la radiografia del torace, indagine di primo livello, consente di indentificare la presenza di opacità alveolari bilaterali soprattutto nelle regioni parailari e basali senza broncogramma aereo. In presenza di un quadro del genere, vi è l'indicazione a proseguire le indagini eseguendo una TC del torace che, nei casi di PAP, mostra un quadro altamente sensibile e discretamente specifico denominato "crazy-paving", cioè caratterizzato da opacità a vetro smerigliato, ispessimento delle strutture intralobulari e dei setti interlobulari con tipico aspetto poligonale. I lobi inferiori sono generalmente quelli più colpiti. I noduli polmonari, l'adenopatia mediastinica e i consolidamenti parenchimali focali sono assenti nella PAP e quindi la loro presenza deve condurre ad altre diagnosi (53, 55).

La broncoscopia con il BAL rappresenta il gold standard per la diagnosi di PAP. Il BAL dei pazienti affetti si presenta caratteristicamente lattescente e l'esame citologico rivela in modo inconfutabile la presenza di grossi macrofagi schiumosi con materiale amorfo positivo alla reazione PAS (acido

periodico, reattivo Schiff).

In ultima istanza, la biopsia polmonare può essere di aiuto nella diagnosi benché nella maggior parte dei casi non sia necessaria in quanto il BAL risulta essere già patologico (64).

## Terapia

L'unica terapia, ad oggi, realmente efficace è il lavaggio polmonare totale. Tale procedura, effettuata in anestesia generale con un tubo endotracheale a doppio lume, prevede il lavaggio con soluzione salina riscaldata di un polmone alla volta mentre l'altro è ventilato. Questo lavaggio deve essere protratto finché il liquido di ritorno non è più lattescente bensì limpido. Di solito, sono necessari circa 15 litri di soluzione salina per effettuare un lavaggio completo che implica circa 4-6 ore di lavoro. La procedura viene ripetuta a distanza di 48 ore sull'altro polmone. Si capisce bene come tale procedura sia impegnativa sia per il personale medico che per il paziente che la riceve e quindi è riservata a quei pazienti che presentano forme gravi di dispnea anche a riposo, con livelli di PaO<sub>2</sub> arteriosa inferiori a 65 mmHg o desaturazioni marcate al test del cammino. Le forme più lievi possono essere trattate in modo conservativo. La procedura di lavaggio viene ripetuta di solito ogni 2 anni o in relazione ai cambiamenti nella sintomatologia (65-66).

## Novità

L'iniezione sottocutanea del GM-CSF ha mostrato una risposta positiva nel 48% di una piccola coorte di 25 pazienti. I miglioramenti sono molto meno evidenti rispetto al lavaggio polmonare totale e quindi tale pratica non è stata molto proseguita. È comunque una terapia relativamente sicura che trova efficacia soprattutto nelle forme autoimmuni; mentre è praticamente inefficace nelle forme secondarie e congenite (53-55).

Anche il Rituximab, anticorpo monoclonale anti CD-20, è stato tentato in questi pazienti con risultati soddisfacenti ma, ad oggi, viene impiegato solamente nelle forme di PAP refrattarie al lavaggio polmonare totale (67-68). Modelli animali sembrano mostrare risultati promettenti con la terapia genica o con l'impianto di macrofagi alveolari ma ancora sono necessari studi per dimostrare l'efficacia in vivo di queste terapie (69).

---

## Conclusioni

**L**e malattie genetiche del polmone rappresentano, in età pediatrica, una fetta di patologia rara che va conosciuta per le implicazioni cliniche che ne possono derivare. Alla luce dei passi avanti che sono stati effettuati nelle terapie di tali condizioni patologiche, la diagnosi precoce diventa un elemento fondamentale per garantire una buona prognosi ai bambini affetti.

***Conflitti di interesse.** Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse.*

## **Bibliografia**

Elborn JS, Bell SC, Madge SL, et al. Report of the European Respiratory Society/ European Cystic Fibrosis Society task force on the care of adults with cystic fibrosis. *Eur Respir J* 2016;47:420–28.

Audrézet M, Munck A, Scotet V, et al. Comprehensive CFTR gene analysis of the French cystic fibrosis screened newborn cohort: implications for diagnosis, genetic counseling, and mutation-specific therapy. *Genet Med* 2015;17:108–16

Picci L, Cameran N, Marangon O, et al. A 10-year large scale cystic fibrosis carrier screening in the Italian population. *Journal of Cystic Fibrosis* 2010; 9:29-35.

Castellani C, Massie J. Newborn screening and carrier screening for cystic fibrosis: alternative or complementary? *Eur Respir J* 2014;43: 20–23.

Bombieri C, Claustres M, De Boeck K, et al: Recommendations for the classification of diseases as CFTR-related disorders. *J. Cyst. Fibros.* 2011;10(Suppl. 2):S86–S102.

Cutting GR: Cystic fibrosis genetics: from molecular understanding to clinical application. *Nat Rev Genet.* 2015 Jan;16(1):45-56.

Lee AC, Jones AL: Multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* ST235 in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev.* 2018 May 18. pii: S1526-0542(18)30070-8. doi: 10.1016/j.prrv.2018.05.009. [Epub ahead of print]

Farrell PM, White TB, Ren CL, et al. Diagnosis of Cystic Fibrosis: Consensus Guidelines from the Cystic Fibrosis Foundation. *J Pediatr.* 2017; 181S:S4-S15

LeGrys VA, Applequist R, Briscoe D et el. Sweat testing: Sample collection and quantitative chloride analysis. Approved guideline, CLSI Document C34-A3. 3rd ed. Wayne (PA): Clinical and Laboratory Standards Institute; 2009.

CFTR2@Johns Hopkins. Home page [Internet]. <http://cftr2.org/>. Updated August 2016. Accessed Aug 28, 2018

Cutting GR. Treating Specific Variants Causing Cystic Fibrosis. *JAMA.* 2017 5; 318: 2130-2131.

Castellani C, Duff AJA, Bell SC, et al: ECFS: Best practice guidelines: the 2018 revision. *Journal of Cystic Fibrosis* 2018; 17: 153-178.

Korten I, Kieninger E , Yammine S, et al. BILD study group: Respiratory rate in infants with cystic fibrosis throughout the first year of life and association with lung clearance index measured shortly after birth. *J Cyst Fibros.* 2018 Jul 27. pii: S1569-1993(18)30696-9. doi: 10.1016/j.jcf.2018.07.002. [Epub ahead of print]

Borchi B, Barao Ocampo M, Cimino G, et al. Italian Cystic Fibrosis Lung

Transplantation Group: Mortality rate of patients with cystic fibrosis on the waiting list and within one year after lung transplantation: a survey of Italian CF centers. *Ital J Pediatr.* 2018 Jun 28;44(1):72. doi: 10.1186/s13052-018-0512-y.

Dalrymple RA, Kenia P. European Respiratory Society guidelines for the diagnosis of primary ciliary dyskinesia: a guideline review. *Arch Dis Child Educ Pract Ed.* 2018 Aug 3. pii: edpract-2017-312902. doi: 10.1136/archdischild-2017-312902. [Epub ahead of print]

Kartagener M, Stucki P. Bronchiectasis with situs inversus. *Arch Pediatr.* 1962 Jun; 79:193–207

ERS Task force. Primary ciliary dyskinesia: a consensus statement on diagnostic and treatment approaches in children. *European respiratory Journal* 2009; 34: 1264-1267

Katsuhara K, Kawamoto S, Wakabayashi T. et al. Situs inversus totalis and Kartagener's syndrome in a Japanese population. *Chest* 1972; 61: 56-61

Margaret W, Leigh MW, Pittman JE, et al. Clinical and genetic aspects of primary ciliary dyskinesia/Kartagener syndrome. *Genetics in medicine* 2009; 11: 473-487

Noone PG., Leigh MW, Sannuti A, et al. Primary ciliary dyskinesia: diagnostic and phenotypic features. *Am J Respir Crit Care Med* 2004; 169:459–467

Coren ME, Meeks M, Buchdahl RM, et al. Primary ciliary dyskinesia (PCD) in children –age at diagnosis and symptom history. *Acta Paediatr.* 2002; 91:667–669

O'Callaghan C, Rutman A, Williams G, et al. Ciliated conical epithelial cell protrusions point towards a diagnosis of primary ciliary dyskinesia. *Respir Res* 2018;19:125.

Pazour GJ, Agrin N, Leszyk J, Witman G.B. Proteomic analysis of a eukaryotic cilium. *J Cell Biol.* 2005; 170:103–113

Kempeneers C, Chilvers MA. To beat, or not to beat, that is question! The spectrum of ciliopathies. *Pediatr Pulmonol.* 2018 Jun 25. doi: 10.1002/ppul.24078. [Epub ahead of print]

Wijers CDM, Chmiel JF, Gaston BJ. Bacterial infections in patients with primary ciliary dyskinesia: Comparison with cystic fibrosis. *Chron Respir Dis.* 2017;14: 392–406.

Hogg C. Primary ciliary dyskinesia: when to suspect the diagnosis and how to confirm it. *Paediatric Respiratory Reviews.* 200; 10 :44-50

Coren M, Meeks M, Morrison I, et al. Primary ciliary dyskinesia: age at diagnosis and symptom history. *Acta Paediatrica* 2002; 91: 667-669

Jain K, Padley SP, Goldstraw EJ, et al. Primary ciliary dyskinesia in the paediatric population: range and severity of radiological findings in a cohort of patients receiving tertiary care. *Clin Radiol.* 2007; 62:986–993

Mirra V, Werner C, Santamaria F. Primary Ciliary Dyskinesia: An Update on Clinical Aspects, Genetics, Diagnosis, and Future Treatment Strategies. *Front Pediatr*. 2017; 5:135

Lobo J, Zariwala M, Noone P. Primary Ciliary Dyskinesia. *Semin Respir Crit Care Med*. 2015; 36:169–179

Horani A, Ferkol TW. Advances in the Genetics of Primary Ciliary Dyskinesia: Clinical Implications. *Chest*. 2018; doi: 10.1016/j.chest.2018.05.007. [Epub ahead of print]

Konstan MW, Schluchter MD, Xue W, Davis P.B. Clinical use of ibuprofen is associated with slower FEV1 decline in children with cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2007; 176:1084–1089

Greally P, Hussain MJ, Vergani D, Price JF. Interleukin-1a, soluble interleukin-2 receptor, and IgG concentrations in cystic fibrosis treated with prednisolone. *Arch Dis Child*. 1994; 71:35–39

Crowley S, Holgersen MG, Nielsen KG. Variation in treatment strategies for the eradication of *Pseudomonas aeruginosa* in primary ciliary dyskinesia across European centers. *Chron Respir Dis*. 2018; Jan 1:1479972318787919. doi: 10.1177/1479972318787919.

Higgins KL, Noda C, Stultz JS. Extended Interval Tobramycin Pharmacokinetics in a Pediatric Patient With Primary Ciliary Dyskinesia Presenting With an Acute Respiratory Exacerbation. *J Pediatr Pharmacol Ther* 2018; 23:159-163.

Halbeisen FS, Goutaki M, Spycher BD, et al. Lung function in patients with Primary Ciliary Dyskinesia: an iPCD Cohort study. *Eur Respir J* 2018; Jul 26. pii: 1801040. doi: 10.1183/13993003.01040-2018.

Bush A, Cunningham S, de Blic J, et al. European protocols for the diagnosis and initial treatment of interstitial lung disease in children. *Thorax* 2015; 70:1078-84.

Kurland G, Deterding RR, Hagood JS, et al. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: classification, evaluation, and management of childhood interstitial lung disease in infancy. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188:376-94.

Haagsman HP, Diemel RV. Surfactant- associated proteins: functions and structural variation. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2001; 129:91-108.

Vece TJ, Young LR. Update on Diffuse Lung Disease in Children. *Chest* 2016; 149: 836-50.

Nogee LM. Genetic Basis of Children's Interstitial Lung Disease. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol* 2010; 23:15-35.

Hamvas A, Deterding RR, Wert SE, et al. Heterogeneous pulmonary phenotypes associated with mutations in the thyroid transcription factor gene NKX2-1. *Chest* 2013; 144:200.

Turcu S, Ashton E, Jenkins L, et al. Genetic testing in children with surfactant dysfunction. *Arch Dis Child* 2013; 98: 490-495.

Deutsch GH, Young LR, Deterding RR, et al. Diffuse lung disease in young children: application of a novel classification scheme. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 1120-1128.

Gupta A, Zheng SL. Genetic disorders of surfactant protein dysfunction: when to consider and how to investigate. *Arch Dis Child* 2017; 102: 84-90.

Hime NJ, Zurynski Y, Fitzgerald D, et al. Childhood interstitial lung disease: a systematic review. *Pediatr Pulmonol*. Published Online First: 30 Apr 2015. doi:10.1002/ppul.23183

Fan LL, Deterding RR, Langston C. Pediatric interstitial lung disease revisited, *Pediatr. Pulmonol*. 2004; 38: 369-378.

Han S, Mallampalli RK. The role of surfactant in lung disease and host defense against pulmonary infections, *Ann. Am. Thorac.* 2015; 12:765-774.

Hime NJ, Zurynski Y, Fitzgerald D, et al. Childhood interstitial lung disease: a systematic review. *Pediatr. Pulmonol* 2015; 50:1383-1392.

Kroner C, Reu S, Teusch V, et al. Genotype alone does not predict the clinical course of SFTPC deficiency in paediatric patients, *Eur. Respir J* 2015; 46:197-206.

Avital A, Hevroni A, Godfrey S, et al. Natural history of five children with surfactant protein C mutations and interstitial lung disease, *Pediatr. Pulmonol* 2014; 49:1097-1105.

Griese M, Seidl E, Hengst M, et al. International management platform for children's interstitial lung disease (chILD-EU). *Thorax* 2018; 73:231-239.

Carrington JM, Hershberger DM. Pulmonary alveolar proteinosis. *NCBI Bookshelf* 2018

Griese M. Pulmonary Alveolar proteinosis: a comprehensive clinical perspective. *Pediatrics* 2017; 140(2)e:2017610

Suzuki T, Prapnell BC. Pulmonary Alveolar Proteinosis Syndrome. *Clin Chest Med* 2016; 37:431440

Stanley E, Lieschke GJ, Grail D et al. Granulocyte/macrophage colony-stimulating factor deficient mice show no major perturbation of hematopoiesis but develop a characteristic pulmonary pathology. *Proc Natl Acad Sci* 1994; 91:5592-6

Hildebrandt J, Yalcin E, Bresser HG, et al. Characterization of CSF2RA mutation related juvenile pulmonary alveolar proteinosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2014; 9(1):171

Enaud L, Hadchouel A, Coulomb A, et al. Pulmonary alveolar proteinosis in children on La Reunion Island: a new inherited disorder? *Orphanet J Rare Dis*. 2014; 9:85

Uchida K, Nakata K, Carey B, et al. Standardized serum GM-CSF autoantibody testing for the routine clinical diagnosis of autoimmune pulmonary alveolar proteinosis. *J Immunol Methods*. 2014; 402(1–2):57–70

Papiris SA, Tsirigotis P, Kolilekas L, et al. Pulmonary alveolar proteinosis: time to shift? *Expert Rev Respir Med*. 2015; 9(3):337–349

Valimahamed-Mitha S, Berteloot L, Ducoin H, Ottolenghi C, de Lonlay P, de Blic J. Lung involvement in children with lysinuric protein intolerance. *J Inherit Metab Dis*. 2015;38(2):257–263

Borie R, Danel C, Debray MP et al. Pulmonary alveolar proteinosis. *Eur Respir Rev* 2011; 20: 120, 98-107

Campo I, Mariani F, Rodi G, et al. Assessment and management of pulmonary alveolar proteinosis in a reference center. *Orphanet J Rare Dis*. 2013; 8:40

Bonella F, Bauer PC, Griese M et al. Pulmonary alveolar proteinosis: new insights from a single-center cohort of 70 patients. *Respir Med* 2011; 105:1908-1916

Campo I, Luisetti M, Griese M, et al; WLL International Study Group. Whole lung lavage therapy for pulmonary alveolar proteinosis: a global survey of current practices and procedures. *Orphanet J Rare Dis*. 2016; 11(1):115

Wilson CA, Wilmshurst SL, Black AE. Anesthetic techniques to facilitate lung lavage for pulmonary alveolar proteinosis in children-new airway techniques and a review of the literature. *Paediatr Anaesth*. 2015; 25(6):546–553

Malur A, Kavuru MS, Marshall I, et al. Rituximab therapy in pulmonary alveolar proteinosis improves alveolar macrophage lipid homeostasis. *Respir Res*. 2012; 13:46

Nagasawa J, Kurasawa K, Hanaoka R. Rituximab improved systemic lupus erythematosus-associated pulmonary alveolar proteinosis without decreasing anti-GM-CSF antibody levels. *Lupus*. 2016; 25(7):783–784

Suzuki T, Arumugam P, Sakagami T et al. Pulmonary macrophage transplantation therapy. *Nature* 2014; 23450-4

## LA SINDROME DELLA MORTE CARDIACA IMPROVVISA

Innocenzo Bianca

**L**a morte improvvisa (MI) è un evento drammatico che ha un devastante impatto emozionale sul nucleo familiare, sull'ambiente medico e sui media, soprattutto se coinvolge bambini ed adolescenti e se l'evento avviene nel corso di competizioni sportive.

Sebbene siano state condotte diverse campagne volte a diffondere da un lato le procedure di screening e dall'altro le manovre di rianimazione in caso di arresto cardiaco, un numero considerevole di pazienti continua a morire. Se l'autopsia riesce a dare una risposta diagnostica nei casi di anomalie congenite (coronarie) o strutturali miocardiche (cardiomiopatie), per altre anomalie, come le canalopatie, mostra i suoi limiti. L'analisi genetica (*autopsia molecolare*) senza dubbio contribuisce a dare delle risposte diagnostiche nei casi di morte sine materia, anche se, allo stato attuale, i costi elevati ne impediscono un uso estensivo.

L'elettrocardiogramma rappresenta ancora oggi un presidio fondamentale nello screening delle anomalie cardiache che modificano i voltaggi e la fase di ripolarizzazione (cardiomiopatie, canalopatie) ma è silente in altre situazioni patologiche (anomalie coronariche, tachicardia ventricolare polimorfa catecolaminergica). In questi ultimi casi solo la diffusione estensiva delle tecniche rianimatorie fra i laici e la diffusione dei defibrillatori esterni automatici potrà invertire un trend negativo, che vede ancora basse (30-40%) le percentuali di sopravvivenza post-arresto cardiaco.

---

### Introduzione

**S**i definisce **morte improvvisa (MI)** un evento fatale, non traumatico, inaspettato che avviene entro 1 ora dall'inizio dei sintomi, in soggetti in apparente buono stato di salute. In mancanza di testimoni all'evento, la definizione si applica anche alle vittime in cui era possibile appurare il buon stato di salute 24 ore prima dell'evento.

I principali meccanismi di un arresto cardiopolmonare possono essere: cerebrale (rottura di un aneurisma cerebrale), respiratorio (broncospasmo in soggetti allergici) o cardiovascolare. In quest'ultimo caso l'arresto cardiaco può derivare da ostacolo meccanico (versamento pericardico, embolia polmonare) o, come succede il più delle volte, da una turba aritmica (fibrillazione ventricolare).

Si parla di **morte improvvisa cardiaca (MI cardiaca) o SCD (Sudden Cardiac Death)** se l'evento fatale avviene in presenza di una malattia cardiaca, congenita o acquisita, conosciuta durante la vita, o rilevata all'autopsia e considerata causa della morte.

La definizione si applica anche ai casi in cui sia l'autopsia che la tossicologia non sono in grado di identificare la causa della morte (anatomia ed istologia normali), ma un evento aritmico viene considerato alla base dell'evento mortale sia in pazienti adulti (**Morte improvvisa cardiaca aritmica o SADS - Sudden Arrhythmic Death Syndrome**) che in età pediatrica (**Morte improvvisa nel lattante o SIDS - Sudden Infant Death Syndrome**).

---

## Incidenza ed eziologia

**L**e malattie cardiovascolari sono responsabili di 17.000.000 morti all'anno nel mondo e la MI cardiaca è protagonista nel 25% dei casi prediligendo il sesso maschile.

La variabilità delle percentuali in letteratura derivano da rilevazioni retrospettive, in parte basate sui dati riportati dai media, mancando, nella maggior parte dei casi, dei registri nazionali nei quali confluiscono tutti i casi di MI.

La MI cardiaca nei giovani incide fra lo 0,5 ed i 5 eventi/ 100.000 individui/anno.

Dati simili sono riportati in uno studio retrospettivo eseguito nello stato di Washington (2,28 /100.000 individui /anno), nel quale si sottolineano differenze di incidenza a seconda dei gruppi di età: 2,1/100.000 individui/anno fra 0 e 2 anni, 0,61/100.000 individui /anno fra 3 e 13 anni e 1,44/100.000 individui/anno fra i 14 ed i 25 anni.

Le cardiopatie o le anomalie cardiache responsabili di MI hanno in comune due aspetti importanti: il decorso clinico asintomatico o paucisintomatico, compatibile con una vita normale, attività fisica compresa, e l'elevata capacità di destabilizzare elettricamente il miocardio, favorendo aritmie letali.

La causa finale dell'arresto cardiaco e della MI è una tachicardia ventricolare/fibrillazione ventricolare che agisce, quindi, su un substrato patologico.

Nella popolazione degli atleti, sebbene la MI sia un evento raro (1/50.000-200.000/anno), il 20-25% degli eventi letali avviene durante l'attività fisica. Per molto tempo è stata suggerita una correlazione diretta fra morte improvvisa e sport, identificando in quest'ultimo il *primum movens* dell'evento mortale. Oggi è ben dimostrato che lo sforzo fisico di per sé non è la causa, ma rappresenta un *trigger* su un cuore con anomalie strutturali o molecolari.

Le cause cardiache possono essere divise in: anomalie coronariche (anomalie congenite, aterosclerosi, arteriti, malattia di Kawasaki), anomalie strutturali miocardiche (cardiomiopatie dilatative, restrittive, ipertrofiche, displasia aritmogena del ventricolo destro, miocarditi), malattie aritmiche (tachicardia ventricolare catecolaminergica, Wolf-Parkinson-White, malattie dei canali ionici), cardiopatie congenite.

---

## Anomalie congenite delle arterie coronariche

**I**n questo gruppo di anomalie la variante più comune è l'origine di una coronaria dal seno aortico opposto, che impone, obbligatoriamente, il decorso "anomalo" del vaso coronarico fra aorta e arteria polmonare. Sebbene sia più comune l'origine della coronaria destra dal seno aortico sinistro, è l'origine della coronaria sinistra dal seno destro la variante più comunemente associata alla MI (15-20%). Il meccanismo patogenetico di base è duplice: riduzione del flusso coronarico legato sia all'origine ad angolo acuto del vaso, con conseguente riduzione del suo ostio e alla compressione sul vaso da parte dell'aorta e dell'arteria polmonare, entrambe dilatate durante lo sforzo fisico. La dilatazione dell'aorta, in particolar modo, giocherebbe un ruolo preminente nei casi in cui il tratto prossimale del vaso coronarico anomalo ha un decorso *intramurale* (nello spessore della parete aortica).

La diagnosi preventiva è difficile, in quanto sia l'elettrocardiogramma di base che quello sotto sforzo possono essere del tutto normali. Sebbene alcuni segni clinici possano fare sospettare un'anomalia coronarica (sincope, presincope e/o dolore toracico durante sforzo fisico), la MI può essere il primo ed unico sintomo.

L'ecocardiografia può far sospettare l'anomalia se l'origine delle arterie coronariche viene sistematicamente analizzata durante l'esame. Il sospetto diagnostico viene di solito confermato o escluso con altre metodiche di imaging (coro-TAC, RMN cardiaca, coronarografia).

---

## Anomalie cardiache strutturali

### Cardiomiopatia ipertrofica (CMI)

Viene definita come una ipertrofia a carico del ventricolo sinistro, localizzata (uno o più segmenti) o diffusa, in assenza di cause cardiache o sistemiche che la possano giustificare. Lo sviluppo della CMI può avvenire in età diverse nella stessa famiglia.

La sua frequenza oscilla fra lo 0.3-0.5/100.000 individui in età pediatrica, fra lo 0.02-0.23% in quella adulta.

Rara nei primi anni di vita, presenta un picco nella prima età adolescenziale (12-13 anni).

Nel 40-60% dei casi la CMI (60%) è su base genetica, trasmessa con meccanismo autosomico dominante, dovuta alla mutazione di geni che codificano le proteine del sarcomero (unità contrattile del tessuto muscolare).

La CMI può riscontrarsi nell'ambito di sindromi genetiche (S. di Noonan, S.

di Leopard, Neurofibromatosi, S. di Turner, atassia di Friedreich), nelle quali ha generalmente un interessamento bi-ventricolare.

È spesso scoperta in occasione di una visita medica che contempla l'esecuzione di un elettrocardiogramma. Il più delle volte asintomatica, soprattutto in età giovanile, la morte improvvisa può essere la prima ed unica manifestazione clinica.

L'ipertrofia dei miociti e la disorganizzazione delle fibre muscolari (*disarray*) determinano un'ischemia nel microcircolo con fibrosi, substrato per tachicardie ventricolari da rientro.

L'identificazione di una o più mutazioni genetiche causative conferma la diagnosi di CMI, ma l'assenza di mutazioni non la esclude. Occorre però rimarcare che la presenza di una mutazione genetica in un individuo, evidenziata nel corso di uno screening familiare, in assenza di anomalie morfologiche e/o sintomi clinici non giustifica la diagnosi di CMI, ma esprime solo la predisposizione a sviluppare la malattia.

Perché l'ipertrofia venga considerata patologica occorre che lo spessore di uno o più segmenti della parete ventricolare sinistra sia nell'adulto  $\geq 15$  mm (ecocardiografia, RMN, TAC), e  $> 2$  SD in età pediatrica.

Sul piano diagnostico la CMI viene di solito diagnosticata all'elettrocardiogramma, raramente normale (5%). Nel 95% dei casi, infatti, sono presenti anomalie elettrocardiografiche, nel 40% diagnostiche. Occorre tenere presente, però, che esistono alcune differenze elettrocardiografiche fra la razza caucasica e quella africana o afro-caraibica. In queste ultime l'elettrocardiogramma può presentare segni che potrebbero indurre erroneamente a diagnosticare la presenza di una CMI (onde-T negative sino a V4, ST elevato), ma che, viceversa, coesistono con la totale assenza di anomalie cardiache strutturali.

L'ecocardiografia rappresenta l'esame di I° livello nella diagnosi di CMI, in quanto dà informazioni immediate sulla presenza e distribuzione dell'ipertrofia, di solito asimmetrica(setto), talvolta *diffusa* anche al VD o localizzata all'*apice*.

La RMN cardiaca è particolarmente utile nella valutazione degli spessori parietali e settali, nel visualizzare porzioni ventricolari (apice e parete laterale del ventricolo sinistro) spesso non ben indagate dall'ecocardiografia e, soprattutto, nell'evidenziare aree di fibrosi miocardica (*late gadolinium enhancement*), presenti nel 70% dei casi.

Negli atleti può essere ardua la diagnosi differenziale fra CMI ed il così detto *cuore d'atleta*, nel quale lo sport intenso provoca degli adattamenti d'organo spesso dominati da una ipertrofia parietale. In questi casi l'entità dello spessore parietale, la distribuzione dell'ipertrofia, le dimensioni della cavi-

tà ventricolare sinistra, il profilo doppler e TDI permettono di classificare come fisiologica o meno l'ipertrofia miocardica. Aspetto particolarmente importante, in questi casi, è il comportamento dell'ipertrofia dopo un congruo periodo di disallenamento. L'ipertrofia espressione di un adattamento fisiologico allo sforzo fisico regredirà, resterà inalterata nel caso di una CMI (**Tab. 1**).

	CUORE D'ATLETA	CMI
<b>MASSIMO SPESSORE PARIETALE</b>	≤ 15 mm uomini ≤ 12 mm donne	≥ 15 uomini ≥ 12 mm donne ≥ 13 mm se storia familiare
<b>DISTRIBUZIONE IPERTROFIA</b>	<b>SIMMETRICA</b>	<b>ASIMMETRICA</b>
<b>DIMENSIONI CAVITA' VS</b>	Normale o aumentata	Ridotta rispetto ai <i>vn</i> per l'età
<b>DISTRIBUZIONE IPERTROFIA</b>	Normale	Inferiore rispetto ai <i>vn</i> per l'età
<b>REVERSIBILITA' CON IL DISALLENAMENTO</b>	Presente	Assente

**Tab. 1.** Differenze ecocardiografiche fra ipertrofia compensatoria (cuore d'atleta) e patologica (CMI).

Poiché nella CMI la morte avviene generalmente durante attività fisica, lo sport è formalmente vietato.

Sono stati identificati diversi fattori di rischio per morte improvvisa nei pazienti con CMI (**Tab. 2**), così come è stato messo a punto un *calcolatore di rischio* che permettedi calcolare, sulla base di dati anamnestici, clinici ed ecocardiografici, la percentuale di rischio per morte improvvisa a 5 anni e sulla base del risultato quali raccomandazioni seguire. Occorre dire che questo ausilio messo a punto dall'ESC non è validato per l'età pediatrica, gli atleti d'élite, le malattie metaboliche/infiltrative e le sindromi.

SINTOMI (pre-sincope, sincope, palpitazioni, ricorrenti o da sforzo)
MORTE IMPROVVISA nei familiari di I° grado
IPERTROFIA MODERATO - SEVERA (spessore > 20 mm)
DILATAZIONE ATRIO SINISTRO ( $\geq 45$ mm)
OSTRUZIONE ALL'EFFLUSSO SINISTRO (intraventricolare $\geq 30$ mmHg) o INSUFFICIENZA MITRALICA
ANOMALIE DOPPLER o TDI
ARITMIE SOPRAVENTRICOLARI o VENTRICOLARI MAGGIORI
ANOMALA RISPOSTA PRESSORIA allo SFORZO
ESTESE AREE di FIBROSI alla RMN

**Tab. 2.** *Fattori che definiscono ad ALTO rischio una cardiomiopatia ipertrofica*

### **Cardiomiopatia aritmogena del ventricolo destro (CAVD)**

La CAVD è una rara malattia ereditaria (trasmissione autosomica dominante) la cui incidenza varia fra 1:1000 e 1:5000 casi.

Sono coinvolti i geni che codificano le giunzioni intercellulari (*desmosomi*). Venendo meno la funzione desmosomiale, il distacco dei miociti determina la loro morte e la conseguente sostituzione con materiale fibroadiposo. Il risultato finale è un ventricolo destro dilatato, con parete molto assottigliata, discinetica e/o acinetica.

Sebbene interessi prevalentemente il ventricolo destro, nelle fasi avanzate della malattia può essere coinvolto anche il sinistro. Descritto, anche se raro, il coinvolgimento primario del ventricolo sinistro.

La malattia, generalmente silente in età pediatrica e nell'adolescenza, può esordire con palpitazioni o sincopi, ma anche con la morte improvvisa, dovuta all'insorgenza di aritmie maligne ad origine ventricolare destra.

La diagnosi viene sospettata sulla base di segni elettrocardiografici presenti nel 90% dei pazienti con CAVD (onde T negative da V1 a V3; QRS seguito da un'onda *Epsilon* in V1; blocco di branca destro; frequente extrasistolia / tachicardia ventricolare con morfologia BBS), tenendo presente che onde T

negative da V1 a V3 sono del tutto fisiologiche in età pediatrica e nel 3% dei giovani adulti. Quindi in questa fascia d'età occorre cautela nel porre diagnosi di "sospetta CAVD" sulla base di questi soli segni elettrocardiografici.

In alcuni casi le anomalie elettrocardiografiche si evidenziano tardivamente e l'ecocardiografia non è dirimente. Sebbene la RMN cardiaca rappresenti un ausilio importante nella diagnosi di CAVD, la sua sensibilità può essere bassa nelle fasi iniziali della malattia.

## Malattie dei canali ionici (canalopatie)

**S**otto questa denominazione vengono raggruppate una serie di patologie genetiche che coinvolgono i geni che codificano l'esatto funzionamento dei canali ionici presenti sulla superficie della cellula cardiaca. Tali canali, permettono il flusso programmato, in entrata ed in uscita, degli ioni  $K^+$ ,  $Na^+$  e  $Ca^{++}$ , durante le varie fasi del potenziale d'azione.

Una loro disfunzione porta a flussi ionici o prolungati o molto brevi, substrato, in entrambi i casi, per aritmie minacciose per la vita.

Molte delle alterazioni della depolarizzazione e ripolarizzazione del miocita, dovute alle alterazioni dei canali ionici, sono evidenti ad un tracciato elettrocardiografico.

Le principali canalopatie includono la Sindrome del QT-lungo, la sindrome del QT-corto, la sindrome di Brugada, la tachicardia ventricolare polimorfica catecolaminergica.

### Sindrome del QT- lungo (LQTS)

È una patologia trasmessa geneticamente con modalità autosomica dominante (S. di Romano-Ward) o autosomica recessiva (S. di Jervell e Lange-Nielsen), che si manifesta all'elettrocardiogramma con un allungamento dell'intervallo QT al di là dei limiti di normalità assunti per il sesso maschile (440 msec) e per quello femminile (460 msec).

La sua incidenza oscilla fra 1/3000 ed 1/5000 nati.

I soggetti affetti, asintomatici e con anatomia cardiaca normale, possono andare incontro a episodi aritmici minacciosi per la vita e la morte improvvisa può essere la prima manifestazione clinica nel 12% dei casi. Nel 4% dei casi tale evento avviene nel primo anno di vita.

Caratterizzata da eterogeneità genetica, a tutt'oggi si conoscono 12 geni coinvolti nella patogenesi del LQTS, con differenti manifestazioni cliniche. Le mutazioni più frequenti vedono coinvolti i canali del  $K^+$  (LQTS 1 e LQTS 2) e quelli del  $Na^+$  (LQTS3). Nella LQT1 le aritmie maligne avvengono duran-

te sforzo fisico, mentre l'evento aritmico, nel LQTS 2, è scatenato da stimoli acustici improvvisi, dallo spavento o da forti, improvvise emozioni. Al contrario nella LQTS 3 le aritmie maligne avvengono preferenzialmente durante riposo o il sonno (**Tab. 3**).

LQT 1	Canale ionico I Ks	Aritmie dopo sforzo o stress emotivo	57%
LQT 2	Canale ionico I Kr	Aritmie dopo stimoli acustici improvvisi	23%
LQT 3	Canale ionico I Na	Aritmie nel sonno o a riposo	16%
LQT 4			<1%
LQT 5			5%
LQT 6			<1%
LQT 7			<1%
LQT 8			<1%
LQT 9			1%
LQT 10			<1%
LQT 11			<1%
LQT 12			<1%

**Tab. 3.** S. del QT-lungo. Incidenza dei vari tipi e modalità di insorgenza delle aritmie.

Nella diagnosi di LQTS congenito occorre, naturalmente, escludere le forme *acquisite*, legate a disonie (ipo  $Ca^{++}$ , ipo  $K^+$ , ipo  $Mg^+$ ), anomalie neurologiche o all'assunzione di particolari farmaci ([www.azcert.org](http://www.azcert.org)).

La penetranza della malattia non è del 100%, motivo per il quale gli individui ed i membri familiari a rischio, con un normale elettrocardiogramma, possono essere identificati con un test genetico.

Talvolta la diagnosi di LQTS può essere difficile, motivo per il quale sono stati sviluppati dei sistemi a punteggio, basati su elementi anamnestici, clinici, elettrocardiografici che permettono di validare o meno la diagnosi (**Tab. 4**).

CARATTERISTICHE	SCORE
<b>Elettrocardiografiche</b>	
QTc $\geq$ 0.48 sec	3
0.46 – 0.47 sec	2
0.44 – 0.45 sec	1
TV torsione di punta	2
Onda T bifasica	1
Onda T bifida in 3 derivazioni	1
Bradycardia relativa all'età	0.5
<b>STORIA CLINICA</b>	
Sincope da stress	2
Sincope a riposo	1
Sordità congenita	0.5
<b>STORIA FAMILIARE</b>	
Storia Familiare certa con LQTS	1
Morte improvvisa < 30 anni in parente di 1° grado	0.5
<p>TAB IV. S. del QT-lungo. Score diagnostico (15)</p> <p><b>Score &gt; 3</b>            <i>molto probabile</i></p> <p><b>Score fra 2 e 3</b>    <i>probabilità intermedia</i></p> <p><b>Score &lt; 1</b>            <i>poco probabile</i></p>	

Tab. 4

## Sindrome del QT-corto (SQTS)

Malattia genetica rara, trasmessa con modalità autosomica dominante, la SQTS è frequentemente sintomatica con un range di sintomi che variano dalle palpitazioni, usualmente dovute a fibrillazione atriale, alla sincope sino ad aritmie minacciose prodromiche alla morte improvvisa.

La morte improvvisa è stata descritta anche in età pediatrica.

La sindrome è geneticamente eterogenea (5 varianti genetiche). La mutazione coinvolge i geni che codificano i canali del  $K^+$  (KCNH2, KCNQ1, KCNJ2) o del  $Ca^{++}$  (CACNA1C, CACNB2b). Il risultato ultimo è un'accelerazione della ripolarizzazione ventricolare, che si manifesta all'elettrocardiogramma con un accorciamento del QT (QTc < 320-340 msec).

La diagnosi si basa, oltre che sull'anamnesi (familiarità positiva per morte improvvisa), su criteri elettrocardiografici (QTc corto e/o onde T alte, appuntite, a branche simmetriche).

Sono disponibili pochi dati sul ruolo dell'attività fisica, ma poiché lo stress adrenergico è legato allo sviluppo aritmie minacciose, ai pazienti con SQTS non viene permessa alcuna attività fisica.

## Sindrome di Brugada

Tale anomalia elettrocardiografica, descritta per la prima volta nel 1992, è associata ad un alto rischio di morte improvvisa (4-12%), soprattutto in giovani pazienti di sesso maschile.

È causata dalla mutazione del gene che codifica il canale del sodio (SCN5A), che determina una sua diminuita permeabilità allo ione, anche se sono stati riportati in letteratura altri geni responsabili.

Sebbene possa manifestarsi con differenti aritmie (fibrillazione atriale, blocco atrio-ventricolare, lenta conduzione nodale, WPW, tachicardie da rientro nodali), le aritmie ventricolari (tachicardia ventricolare polimorfa, fibrillazione ventricolare) sono la sua presentazione usuale.

I sintomi, quando presenti, includono oltre la morte improvvisa, la presincope, la sincope, le palpitazioni. Molti pazienti possono essere asintomatici per tutta la vita.

L'elettrocardiogramma permette di distinguere 3 tipi di pattern. Il Tipo 1 (V1 – V2: punto J sopra livellato  $\geq 2$  mm; ST sopralivellato  $\geq 2$  mm, discendente; onda T negativa) è a più alto rischio di morte improvvisa. Il tipo 2 (V1–V2: punto J sopra livellato  $\geq 2$ mm; ST sopra livellato  $\geq 2$  mm, rettilineo; onda T positiva) ed il tipo 3 (Vi–V2: punto J sopra livellato  $\geq 2$ mm; ST sopra livellato  $\leq 2$ mm – T positiva) sono basso rischio per morte improvvisa e sono diagnostici di pattern di Brugada se dopo il test farmacologico (flecainide, ajmalina)

comparare il tipo 1 (Tab. 5).

La diagnosi di sindrome di Brugada in età pediatrica può essere difficile, in

PATTERN di BRUGADA	TIPO 1	TIPO 2	TIPO 3
Punto J V1 - V3	Sopralivellato $\geq 2\text{mm}$	Sopralivellato $\geq 2\text{mm}$	Sopralivellato $\geq 2\text{mm}$ 5%
ST	Sopralivellato $\geq 2\text{mm}$ discendente	Sopralivellato $\geq 2\text{mm}$ rettilineo	Sopralivellato $\leq 2\text{mm}$
Onda T	NEGATIVA	POSITIVA Sono diagnostici di p. di Brugada SOLO se dopo test farmacologici (flea, ajma) compare il tipo1	

Tab. 5. Pattern di Brugada tipo 1, tipo2, tipo3. Caratteristiche elettrocardiografiche.

quanto i segni elettrocardiografici su riportati possono non essere evidenti nel bambino ma manifestarsi più tardivamente. Quindi, in fase di screening familiare, un elettrocardiogramma normale in un bambino non esclude la possibilità di un Brugada.

Si sa poco sulla presentazione clinica e la prognosi di questa malattia nei bambini e adolescenti. La sindrome si può manifestare nella prima infanzia e bambini sintomatici con *pattern*-Brugada spontaneo sono ad alto rischio, soprattutto durante gli stati febbrili. Di converso bambini asintomatici, diagnosticati durante screening familiari, sembrano avere una buona prognosi. Il ruolo dell'attività fisica nei bambini e adolescenti con sindrome di Brugada non è stata analizzata, ma la si sconsiglia considerando che l'esercizio fisico

di per sé comporta un aumento della temperatura corporea, trigger di aritmie.

È di fondamentale importanza identificare i pazienti con S. di Brugada più a rischio per morte improvvisa. L'arresto cardiaco "resuscitato" (Classe I) e le sincopi verosimilmente aritmiche (Classe IIa) impongono l'impianto di un defibrillatore.

Nei pazienti con *pattern tipo 1*-Brugada (in assenza di sintomi) la mortalità è bassa (0.38%/anno), anche se più elevata del tasso di mortalità della popolazione generale (0.1% /anno). Nei casi in cui il *pattern tipo 1*-Brugada è svelato dai test farmacologici, la mortalità riportata è addirittura inferiore (0.06%/anno) a quella della popolazione generale (0.1%/anno).

Nei casi di Brudaga tipo 2 e 3 i test farmacologici per slatentizzare un tipo 1 sono giustificati solo nei soggetti in cui sia presente una storia familiare positiva per morte improvvisa giovanile, pattern o sindrome di Brugada, episodi sincopali. Non sono indicati nei casi senza tali fattori di rischio sia per il basso rischio di mortalità riportata, come detto in precedenza, sia per il rischio di creare da soggetti sani, malati "teorici".

I pazienti asintomatici e senza fattori di rischio devono condurre una vita normale, con la sola avvertenza di evitare l'assunzione di farmaci che bloccano i canali del sodio ([www.brugadadrugs.org](http://www.brugadadrugs.org)) e di trattare in modo aggressivo gli stati febbrili (potenziale effetto pro-aritmico).

In linea di massima può essere concessa l'idoneità all'attività fisica se il paziente è asintomatico, ha un pattern tipo 2 o 3 e non ha storia familiare per MI. Stessa cosa dicasi per un pattern tipo 1 spontaneo (senza fattori di rischio e con SEF negativo) o tipo 1 indotto, senza fattori di rischio. L'attività fisica è da prescrivere con un pattern tipo 1 spontaneo o indotto, ma sintomatico con sincopi verosimilmente aritmiche e con familiarità per MI 11.

### Tachicardia ventricolare polimorfa catecolaminergica

**È** una rara aritmia ventricolare (1:10.000) che può essere responsabile di arresto cardiaco in età pediatrica. Insorge usualmente durante sforzo fisico o emozioni improvvise, come conseguenza dell'aumentato tono adrenergico.

L'aritmia patognomonica è la tachicardia ventricolare che varia il suo asse (*bidirezionale*), che generalmente avviene durante stimolazione catecolaminergica. Non trattata è estremamente pericolosa. A 40 anni solo il 20% dei pazienti è scevro da eventi.

Viene trasmessa con meccanismo autosomico dominante se dovuta alla mutazione del gene che codifica il recettore 2 della rianodina (RyR2) (60% dei casi) o autosomico recessivo se è coinvolto il gene della calsequestrina

2(CASQ2). Entrambi i geni svolgono un ruolo cruciale nel meccanismo di accoppiamento eccitazione-contrazione e sono coinvolti nel rilascio degli ioni  $\text{Ca}^{++}$  dal reticolo sarcoplasmatico prima che avvenga la contrazione dei miociti. Il risultato ultimo, in entrambi i casi, è un rilascio incontrollato di calcio durante la diastole elettrica.

L'elettrocardiogramma di base è del tutto normale, il che spiega la difficoltà di depistare l'anomalia nei soggetti asintomatici. Se sono presenti sintomi sospetti, un test ergometrico ed un esame Holter possono essere d'aiuto nella diagnosi finale. Anche in questo caso riveste molta importanza l'anamnesi familiare, positiva (sincope, morte improvvisa) in circa il 30% dei casi.

In assenza di trattamento la mortalità è molto alta: 30-40% all'età di 20-30 anni. La precocità degli episodi è sinonimo di prognosi negativa

Lo sport è controindicato anche per i pazienti in terapia.

---

## Conclusioni

**A** fronte di un evento tragico quale quello della perdita inaspettata quanto improvvisa di un giovane, nella quale l'autopsia convenzionale non ha fornito alcuna spiegazione, l'indagine molecolare (*autopsia molecolare*) è l'unica via per rispondere alle tre più importanti domande che in quel drammatico momento ci si pone: perché è avvenuto l'evento mortale? Poteva essere evitato? Potrebbe accadere nuovamente nell'ambito del contesto familiare della vittima?

Dati in letteratura indicano che l'*autopsia molecolare*, eseguita in casi di autopsia convenzionale negativa, ha permesso di stabilire la causa nel 35% dei deceduti di MI.

La questione principale è se l'autopsia molecolare debba essere applicata in modo estensivo a tutti i casi di MI con cuore anatomicamente normale o solo nei casi in cui l'indagine anamnesticca dei membri familiari della vittima dovesse fare sospettare una malattia cardiaca genetica.

L'attitudine più ragionevole, oggi, sembra essere quella di eseguire una valutazione clinica sui membri familiari della vittima ed una anatomia molecolare sul probando. Nel caso in cui il test sulla vittima dovesse risultare "positivo", sarà consequenziale eseguire sui familiari il test genetico per la "stessa variante".

Senza alcun dubbio la riduzione progressiva dei costi dell'analisi genetica in un prossimo futuro permetteranno un uso estensivo di questa metodica diagnostica.

Allo stato attuale le Linee Guida ESC sulla prevenzione della morte improvvisa confermano questa attitudine, raccomandando in Classe I -livello C l'esame autoptico, istologico e dei campioni ematici del soggetto andato

incontro a MI ed in Classe II – Livello C l’analisi genetica nel sospetto di una canalopatia o cardiomiopatia.

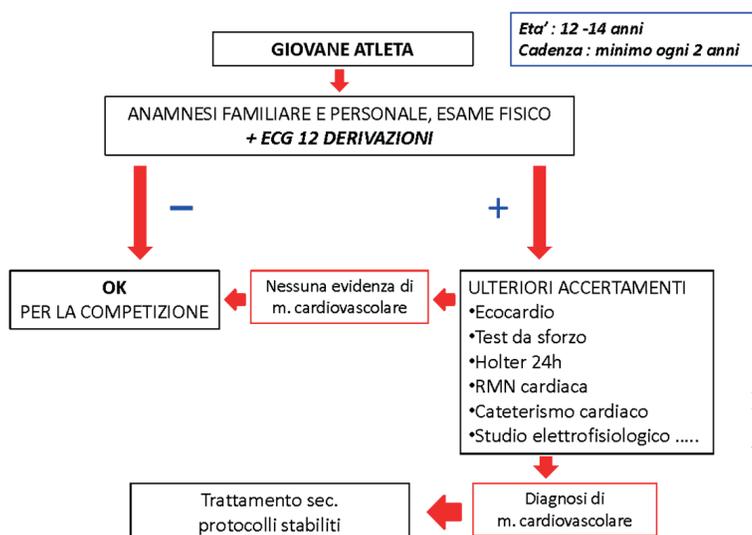
Occorre dire che l’autopsia in molti Paesi non è obbligatoria e ciò influenza in modo considerevole la percentuale di diagnosi certe in caso di MI, così come dimostrato dallo studio olandese CAREFUL. La non obbligatorietà al riscontro autoptico in Olanda, comporta, secondo lo studio, un basso tasso di diagnosi (43% delle MI) e, soprattutto, una bassa risposta (8%) da parte dei familiari della vittima alla richiesta di accertamenti di screening volti a individuare soggetti a rischio.

Ma la partita più importante si gioca nel campo della prevenzione.

Come è noto le malattie cardiovascolari responsabili di MI nei giovani sono clinicamente silenti e la storia clinica e l’esame obiettivo hanno scarso valore diagnostico.

Senza alcun dubbio l’elettrocardiogramma svolge un ruolo importantissimo nello screening, dimostrando una elevata sensibilità (70-100%) nella maggior parte delle cardiopatie giovanili a rischio di MI (CMI, CAVD, WPW, malattie dei canali ionici–QT lungo, S. di Brugada, etc).

In Italia, come in Europa, l’ECG in aggiunta all’anamnesi familiare/personale e alla vista fisica fa parte del I° livello diagnostico al quale deve essere sottoposto obbligatoriamente un individuo che vuole affrontare competizioni a livello agonistico. La *flow-chart*, in caso di positività o dubbi include un II° livello diagnostico “incruento” (ecocardiografia, test ergometrico, Holter, angio-TAC, RMN) seguito da un terzo “cruento” (coronarografia, studio elettrofisiologico, biopsia miocardica) che include lo screening genetico (**Fig. 1**).



**Fig. 1.** Screening per la prevenzione della morte improvvisa nello sport agonistico. Flow-chart.

Restano evidenti i limiti dell'elettrocardiogramma nei confronti delle malattie coronariche congenite o acquisite e delle malattie valvolari. Ne consegue che alcuni soggetti con uno screening di primo livello negativo ed in totale asintomaticità, per i quali non sarebbero giustificati esami di secondo e terzo livello, potrebbero essere a rischio di MI.

In questi casi giocano un ruolo decisivo la diffusione delle pratiche rianimatorie, anche fra i laici, e la diffusione estensiva dei defibrillatori esterni automatici pubblici.

## **Bibliografia**

Thiene G. Sudden cardiac death in the young: a genetic destiny?. *Clinical Medicine* 18 (2), s17-s23 (2018)

Mendis SPP, Norrving B. *Global Atlas on Cardiovascular Disease Prevention and Control*. World Health Organization - Geneva (2011)

Eckart RE et AL. Departement of Defence Cardiovascular Death Registry. Sudden death in young adults: an autopsy-based series of a population undergoing active surveillance. *J Am Coll Cardiol* 58, 1254-1261 (2011)

Tfelt-Hansen J, Winkel BG, Grunner M, et al. cardiac channelopathies and sudden infant death syndrome. *Cardiology* 119, 21-33 (2011)

Meyer L, Stubbs B, Fahrebruch C, et al. Incidence, causes and survival from cardiovascular-related sudden cardiac arrest in children and young adults 0 to 35 years of age: a 30-year review. *Circulation* 126, 1363-1372 (2012)

Zeppilli P. *Cardiologia dello Sport*. Casa Editrice CESI (2014)

Corrado D, Basso C, Rizzoli G et AL. Does sport activity enhance the risk of sudden death in adolescent and young adults? *J Am Coll Cardiol* 42, 1959-1963 (2003)

Maron B, Zipes DP, Kovacs RJ. Eligibility and Disqualification Recommendations for Competitive Athletes With Cardiovascular Abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 66(21), 2350-2450 (2015)

Elliot PM, Anastasakis A, Borger AM, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, Hagege AA, Lafont A, Limongelli G, Mahrholdt H, McKenna WJ, Mogensen J, Nihoyannopoulos P, Nistri S, Pieper PG, Pieske B, Rapezzi C, Rutten FH, Tillmanns C, Watkins H. 2014 ESC Guidelines on diagnosis and management of Hypertrophic Cardiomyopathy. The Task Force for the diagnosis and management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 35, 2733-2779 (2014)

Sharma S, Drezner JA, Baggish A, Papadakis M, Wilson GM et al. International Recommendations for Electrocardiographic Interpretation in Athletes. *J Am Coll Cardiol* 69(8), 1057-1075 (2017)

Comitato Organizzativo Cardiologico per l'ideoneità allo sport. *Protocolli cardiologici per il giudizio di idoneità allo sport agonistico*. Casa Editrice Scientifica Internazionale (2017)

Elliot PM, Anastasakis A, Borger MA, Borggrefe M, Cecchi F, Charron P, Hagege AA, Lafont A, Limogelli G, Mahrholdt H, McKenna WJ, Mogensen J, Nihoyannopoulos P, Nistri S, Pieper PG, Pieske B, Rapezzi C, Ruten FH, Tillmanns C, Watkins H. 2014

ESC Guidelines on diagnosis and management of Hypertrophic Cardiomyopathy. The task Force for the Diagnosis and management of Hypertrophic Cardiomyopathy of the European Society of Cardiology (ESC). *European Heart Journal* 35, 2733-2779 (2014)

Marcus FI, McKenna WJ, Sherril D et Al: Diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia: proposed modification of the Task Force Criteria. *Eur Heart J* 31 ,806-814 (2010)

Marcus FI. Prevalence of T-wave inversion beyond V1 in young normal individuals and usefulness for the diagnosis of arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy/dysplasia. *Am J Cardiol* 95, 1070-1071 (2005)

Schwartz PJ, Moss AJ, Vincent GM, Crampton RS. Diagnostic criteria for the long QT Syndrome. An update. *Circulation* 88(2), 782-784 (1993)

Giustinetto C, Di Monte F, Wolpert C et al. Short QT syndrome: clinical findings and diagnostic –therapeutic implication. *Eur Heart J* 27, 2440-2447 (2006)

Van der Werf C, Wilde AA. Catecholergic polymorphic ventricular tachycardia from bench to bedside. *Heart* 99 ,497-504 (2013).

Arias MA, Fernandes-Guerrero JC, Herrador J, Pagola C. Catecholergic polymorphic ventricular tachycardia as a cause of sudden death in athletes. *Am J Emerg Med* 24, 253-254 (2006).

Brugada P, Brugada J, Right Bundle Branch Block, persistent ST segment elevation and sudden cardiac death: a distinct clinical and electrocardiographic syndrome. AA multicenter report. *J Am Cardiol Coll* 20 (6), 1391-6 (1992).

Probst V, Denjoy I, Meregalli PG, et al. Clinical aspects and prognosis of Brugada syndrome in children. *Circulation* 115, 2042-2048 (2007).

Priori SG, Blomstrong-Lunquist C, Mazzanti A, et al. Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of the sudden cardiac death. The task force for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of the sudden cardiac death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by Association for European Pediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J* 36, 2693-867 (2015).

Delise P, Probst V, Allocca G, Sitta N, Sciarra L, Brugada J, Kamakura S, Takagi M, Giustetto C , Calo L. Clinical Outcome of patients with the Brugada type1 electrocardiogram without prophylactic implantable cardioverter defibrillator in primary prevention ; a cumulative analysis of seven large prospective studies. *Europace* 0, 1-9 (2017).

McCormack J. The role of genetic testing in paediatric syndromes of sudden death: state of the art and future considerations. *Cardiology in the Young* 19 (suppl 2): 54-65 (2009).

Tester DJ, Acherman MJ. Post mortem long QT syndrome genetic testing for sudden unexplained death in the young. *J Am Coll Cardiol* 49 (2), 240-246 (2007).

Priori SG, Blomström-Lundquist C, Mazzanti A, et al. Guidelines for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of the sudden cardiac death. The task force for the management of patients with ventricular arrhythmias and the prevention of the sudden cardiac death of the European Society of Cardiology (ESC). Endorsed by Association for European Pediatric and Congenital Cardiology (AEPC). *Eur Heart J* 36, 2693-867 (2015).

Van der Werf C, Hendrix A, Birnie E, Bots ML, Vink A, Bardai A, Blom MT, Bosch J, Bruins W, Das C, Koster RW, Naujocks T, Scaap B, Tan HL, De Vos R, De Vries P, Woonink F, Doevendans PA, Van Weert HC, Wilde AAM, Mosterd A, Van Langen IM. Improving usual care after sudden death in the young with focus on inherited cardiac diseases (the CAREFUL study): a community-based interventions study. *Europace* 18, 592-601 (2016)

Corrado D, Pelliccia A, Bjornstad HH, Vanhees L, Biffi A, Borjesson, Panhuyzen-Goedkoop N, Deligiannis A, Solberg E, Dugmore D, Mellwig KP, Assanelli D, Delise P, van-Buuren F, Anastakis Aris, Heidbuchel H, Hoffmann E, Fagard R, Priori SG, Basso C, Arbustini E, Blomström-Lundquist C, McKenna WJ, Thiene G. Cardiovascular pre-participation screening of young competitive athletes for prevention of sudden death: proposal for a common European protocol: Consensus Statement of the Study Group of Sport Cardiology of the Working Group of Cardiac Rehabilitation and Exercise Physiology and the Working Group of Myocardial and Pericardial Diseases of the European Society of Cardiology. *European Heart Journal* 26(5), 516-524 (2005).

## I FARMACI ORFANI E I FARMACI INNOVATIVI. ASPETTI REGOLATORI E ACCESSO ALLE CURE

Andrea D. Praticò, Federica Sullo

### Introduzione

**N**el mondo esistono oltre 7000 malattie rare, altrimenti dette orfane, che nel loro insieme arrivano a una prevalenza di circa il 10% dell'intera popolazione. La cura di queste patologie è quindi un argomento di notevole interesse pubblico e interessa soggetti di qualunque estrazione sociale e provenienza geografica. Si stima infatti che solo negli Stati Uniti circa 30 milioni di persone siano affette da malattie rare, e nel resto del mondo almeno altre 350 milioni, con una notevole proporzione di malati di età infantile. L'impatto economico delle malattie rare è rilevante: è stato infatti previsto che nel 2022 la spesa farmaceutica raggiungerà (nell'intero pianeta) la cifra di 1.06 trilioni di dollari e i farmaci orfani contribuiranno in modo significativo (per il 32%) all'aumento della spesa sanitaria mondiale [1]. In ogni caso, attualmente, in tutto il mondo, le terapie per le malattie rare, specie quelle di più recente introduzione con farmaci genetici e biologici, sono gravate comunque da notevoli costi per i sistemi sanitari nazionali: ad esempio, è stato stimato che in Canada, si possa raggiungere un costo annuale per paziente pari a un milione di dollari [2].

A livello Comunitario, si è iniziato ad affrontare organicamente il problema della gestione dei farmaci orfani dagli anni '90, arrivando all'approvazione del regolamento comunitario n. 141/2000. Negli altri paesi industrializzati apposite leggi erano state approvate in anticipo: quasi 20 anni prima, nel 1983, gli Stati Uniti avevano avviato un iter legislativo e burocratico volto a un maggiore interesse verso la problematica. In particolare con l'*Orphan Drug Act* del 1983, curiosamente, nei decenni precedenti erano stati messi in commercio soltanto 10 farmaci per malattie orfane, mentre dagli anni '80 in poi si è arrivati a numeri ben più grandi. Un analogo provvedimento era stato adottato in Giappone nel 1993, con un progressivo aumento dell'attenzione sull'argomento [3,4].

Da molto tempo negli USA sono previsti incentivi per le industrie che investono sui farmaci per le malattie orfane, volte a colmare il fisiologico gap con chi è impegnato nella ricerca di terapie per malattie più comuni (e che generano maggiori guadagni). Tali incentivi, analizzati con maggiore dettaglio successivamente, prevedono l'esclusività di commercializzazione per i primi 7 anni dall'entrata nel mercato, riduzione della tassazione, procedure di autorizzazione più veloci. Per quanto riguarda la sperimentazione dei farmaci orfani, le agevolazioni statali hanno garantito un minor tempo dall'inizio

della fase 2 all'immissione in mercato (mediamente 3,9 anni, contro i 5,4 dei farmaci tradizionali). È inoltre stato riportato una maggiore probabilità di successo dell'iter di commercializzazione per i farmaci orfani (93% contro 88%) [5,6].

Nell'Unione Europea, l'esistenza di diversi sistemi sanitari nazionali, oltre all'ente regolatore del farmaco, l'*European Medical Agency* (EMA), ha causato da sempre una certa frammentarietà nella sperimentazione e nell'approvazione di tali farmaci. Nonostante ciò alcuni interventi mirati (ad esempio la legge 1901/2006) hanno portato all'approvazione di leggi "facilitate" per i farmaci orfani, come ad esempio l'estensione a 12 anni dell'esclusività di mercato per i farmaci orfani in età pediatrica, soprattutto quando vi è una dimostrazione del reale beneficio di tali trattamenti [6].

Come visto sopra, le malattie rare sono moltissime, e l'impatto economico non è tanto legato al numero di soggetti affetti (per definizione limitato), ma al sommarsi di tante malattie rare e tanti trattamenti orfani. La scarsità di pazienti, oltre ai costi di sviluppo e sperimentazione, sono tutt'oggi una delle cause della scarsa attenzione delle case farmaceutiche verso tali patologie, nonostante i benefici previsti dalla legge; inoltre le difficoltà nella verifica dei "costi-benefici" per i pazienti e soprattutto per le stesse case farmaceutiche sono purtroppo ancora oggi motivo di limitazione delle spese per ricerca e sviluppo (*Research and Development*) per tali farmaci [7-9].

Nonostante questo, diversi fattori rendono la ricerca per i farmaci orfani un argomento di notevole interesse e in prospettiva importantissimo anche per la farmacologia delle malattie più comuni.

---

## Impatto dei farmaci orfani nello sviluppo farmaceutico

**N**ell'ultimo decennio l'introduzione di nuove e precise indagini di screening di massa e i progressi nella genetica medica e nella medicina personalizzata hanno aperto una nuova frontiera nella farmacologia e i farmaci orfani, dapprima considerati un problema di nicchia, si sono rivelati una notevole fonte di innovazione e motivo di investimento [10].

In una recente revisione su tutti i farmaci approvati negli scorsi anni, è stato evidenziato che dal 1983 al 2017, l'FDA ha approvato in totale 667 nuove entità molecolari, 176 delle quali (26.3%) designate per curare malattie orfane al momento della loro approvazione. Restringendo l'analisi solo agli ultimi dieci anni, la proporzione di nuove molecole per malattie orfane si è dimostrata in significativo aumento e, per quanto riguarda i farmaci aventi come "bersaglio" i prodotti del genoma umano, la percentuale di farmaci orfani è ormai superiore al 40% [11].

Nella nostra epoca, la chemioterapia è in assoluto il maggiore “motore” di innovazione farmacologica, e circa il 20% dei nuovi farmaci approvati negli ultimi dieci anni ha una indicazione per le terapie oncologiche; vengono scoperti e dimostrati continuamente nuovi target farmacologici e in questo settore i farmaci orfani hanno costituito oltre il 75% delle nuove molecole approvate. Da un punto di vista prettamente economico (aspetto di notevole importanza per le industrie farmaceutiche), alcuni nuovi prodotti con indicazione per malattia tumorale orfana (*lenalidomide*, *nivolumab*, *pembrolizumab* e *ibrutinib*) hanno raggiunto lo status di farmaco “blockbuster” (ovvero con vendite superiori al 1 miliardo di dollari per anno). Inoltre, in termini assoluti, il 29% di tutti i farmaci orfani ha ottenuto lo stato di farmaco “blockbuster”, la stessa percentuale ottenuta dai farmaci contro malattie non-orfane [4,12].

Le case farmaceutiche ottengono ampi ricavi dai farmaci anti-tumorali per diverse ragioni, prima tra tutte l'elevata incidenza delle malattie tumorali nel mondo; altre fonti di guadagno sono l'esclusività di mercato “facilitata”, il prezzo “bloccato”, la possibilità di indicazione per diverse patologie (si pensi al caso del bevacizumab), così come le numerose possibilità di sperimentazione off-label [13,14].

Si stima che tra i futuri farmaci per le malattie rare, 16 tra i 20 che genereranno i maggiori ricavi nel 2022 saranno diretti contro malattie oncologiche [1]; in particolare per 4 di questi le previsioni sono incoraggianti: *Rova-T* (anticorpo monoclonale contro il ligando 3 anti-delta-like per il tumore a piccole cellule del polmone), l'*epacadostat* per il trattamento degli stadi IIB-IV del melanoma, il *tremelimumab*, che agisce sui linfociti T nella terapia del mesotelioma, e l'*axicabtagane ciloleucel* per i linfomi a grandi cellule B e mediastinici a cellule B. Negli stessi studi è previsto che la spesa per i farmaci orfani nelle malattie oncologiche aumenterà dell'11% e solo per il 5.3% per i farmaci non-orfani [3,15].

L'impiego di farmaci orfani nelle sperimentazioni cliniche è un argomento di notevole impatto. In uno studio retrospettivo sui trials approvati dalla FDA, su 2663 sperimentazioni, ben 657 includevano almeno un farmaco orfano [3]. Negli stessi studi è emerso che sono state osservate interazioni con ben 337 target farmacologici inattesi (ovvero che non erano mai stati riportati o approvati nella sperimentazione iniziale) e in 191 casi ciò era stato osservato per i soli farmaci orfani. Ciò sottolinea l'importanza dell'osservazione clinica e farmacologica durante tutte le fasi delle sperimentazioni cliniche, poiché spesso durante un trial farmacologico possono emergere risultati non previsti (e nuovi obiettivi farmaceutici), in particolare nelle malattie rare [16,17]. Oltre che nella già citata terapia oncologica, le sperimentazioni cliniche dei farmaci orfani coinvolgono in particolare agenti anti-infiammatori, anti-dia-

betici, anti-Alzheimer così come farmaci diretti esclusivamente contro malattie orfane, in particolare distrofia muscolare di Duchenne, anemia falciforme, sclerosi laterale amiotrofica, malattie metaboliche (mucopolisaccaridosi) [18-20].

Sempre negli ultimi anni, tra i nuovi farmaci immessi in commercio, una percentuale sempre maggiore riguarda i cosiddetti “farmaci biologici”, oggi cresciuta fino al 20% del totale e che spesso sono diretti alla cura delle malattie orfane. In proporzione, gli agenti farmaceutici tradizionali (piccole molecole di basso peso molecolare) è scesa fino al 78% nel 2017 [21]. I farmaci biologici comprendono diversi tipi di molecole e proteine, tra cui anticorpi monoclonali, proteine di fusione, immunoterapia, terapia genica, peptidi RNA, oligonucleotidi antisense, così come il promettente campo delle terapie cellulari allogene ed autologhe. Nei trials farmaceutici, il maggiore impiego dei farmaci biologici è ancora più evidente, con solo il 57% dei trials totali aventi come oggetto di studio un farmaco tradizionale. I farmaci biologici più innovativi (terapie geniche, immunoterapie, oligonucleotidi) rappresentano circa il 10% di tutti i farmaci impiegati nelle sperimentazioni cliniche e di questi 1/3 è diretto contro malattie orfane, con alcune differenze tra le varie classi di farmaci: sono diretti contro malattie orfane il 42% delle proteine di fusione e il 30% degli anticorpi monoclonali, il 37% dei nucleotidi antisense e il 50% delle terapie geniche [3].

Nonostante questi risultati incoraggianti, investire e sperimentare nei farmaci orfani resta un argomento complesso per gli scienziati e i pazienti e notevoli sono le difficoltà incontrate durante tutte le fasi di sperimentazione.

### **Principali difficoltà nella Ricerca con farmaci orfani**

Sviluppare un farmaco per una malattia orfana è difficile per numerose ragioni. Rispetto ai trials clinici per i farmaci tradizionali, i trials per malattie orfane sono legati a problematiche che vanno prese in considerazione nel “disegno iniziale” degli studi, nell’esecuzione e nella pubblicazione dei risultati [22,23].

In primo luogo – come da definizione – la bassa prevalenza di queste patologie rende difficile reperire quantità significative di pazienti da sottoporre a sperimentazione. Deve inoltre essere considerata l’elevata incidenza di abbandoni, motivati dall’assenza di risultati facilmente apprezzabili per i pazienti, specie nelle prime fasi di sperimentazione. Le malattie rare colpiscono molto spesso popolazioni di pazienti eterogenee, per età, patologie preesistenti, background genetico. Pertanto è spesso impossibile organizzare un tipico studio “placebo-controllo” con centinaia di pazienti, specie in età pediatrica e in questi casi è molto difficile elaborare dei risultati statistica-

mente accettabili [24].

Per le malattie rare, un ulteriore fattore di difficoltà nell'inquadrare alcuni standard delle sperimentazioni è legato ad un'incompleta conoscenza della storia naturale della malattia, all'eterogeneità fenotipica (e prognostica) dei pazienti [25]. Può risultare difficile concepire uno studio su pochi malati senza poter preventivamente dividere i pazienti in "stadi di malattia" certi; su questo versante, però, è stato di notevole aiuto l'avanzamento della conoscenza di diverse patologie geneticamente determinate. In particolare è oggi possibile stratificare i soggetti affetti da una malattia rara in base alle singole mutazioni/varianti genetiche e per molte patologie è dimostrata una netta correlazione genotipo-fenotipo, anche indipendentemente dal ruolo dell'ambiente. In molte patologie oncologiche si può "genotipizzare" la lesione e agire direttamente sulla via metabolica alterata, mentre nelle malattie degenerative è possibile sempre di più l'impiego di cellule staminali [26,27]. In tutte queste patologie, la creazione di banche-dati centralizzate di campioni cellulari provenienti da più parti del mondo si sta rivelando sempre più utile, sebbene la carenza di un ente organizzatore riconosciuto può creare qualche difficoltà logistica e istituzionale, non esistendo spesso una precisa norma (globale) che stabilisca a chi spetta il "ruolo di ente sperimentatore-principale", tra i vari centri universitari, privati, o associazioni di malati.

L'esistenza di diversi centri di ricerca per malattie con limitati numeri di malati può essere un fattore negativo, poiché nel concepire uno studio, la definizione stessa degli *outcomes* clinicamente rilevanti è spesso soggetto di contesa tra gli sperimentatori, con *endpoint* che possono variare tra i vari gruppi di ricerca (e tra i malati di una stessa patologia) [28]. In questo senso, è importante notare che la distribuzione geografica dei vari centri è un fattore limitante anche per la scarsa collaborazione tra i ricercatori e la competitività nella produzione dei risultati. Spesso si rende opportuno identificare paesi con un numero sufficiente di partecipanti, inquadrare le eventuali difficoltà di arruolamento dei pazienti, capire e identificare pochi e qualificati centri di eccellenza con capacità diagnostiche e potenzialmente terapeutiche tali da giustificare la sperimentazione [29]. È importante inoltre sottolineare che molti studi scientifici prevedono che i pazienti possano essere reclutati per un solo trial clinico e ciò rende difficile trovare un numero sufficiente di pazienti per nuove sperimentazioni [30].

In caso di studi con limitati numeri di pazienti, diverse variabili individuali (tra le quali eventuali comorbidità, background genetico) possono influire di molto sul risultato, così come l'impatto di alcuni dati mancanti [31]. Altro importante fattore che limita i risultati delle sperimentazioni è la gravità stessa delle malattie rare, che spesso sono patologie gravate da un'alta percentuale di disabilità nel corso del tempo, malattie tumorali particolarmente

aggressive (e con tempi limitati di sperimentazione), o malattie degenerative su cui un pronto e risolutivo intervento è spesso impossibile. Frequentemente le malattie rare sono entità multisistemiche, e un approccio sul target molecolare può avere effetti limitati su alcuni organi e apparati (si pensi alla difficoltà di raggiungimento di molte aree del sistema nervoso dovuta alla presenza della barriera emato-encefalica) [32,33].

Un'ultima – importante – considerazione riguarda il difficile occultamento dell'identità dei pazienti, i quali, essendo affetti da malattie rare e con fenotipi particolari, possono risultare facilmente identificabili nei trials scientifici e nelle relative pubblicazioni, specie se correlate da (utilissimi) supporti video-fotografici [34,35].

### **Valutazione dell'efficacia, approvazione dei farmaci orfani e farmacovigilanza**

La sperimentazione deve quindi tenere conto di queste grandi limitazioni e in questo senso le autorità regolatrici del farmaco di tutto il mondo occidentale hanno agito allo scopo di promuovere l'impiego di farmaci orfani. Allo stesso tempo, però, vi è una particolare attenzione nella valutazione dell'efficacia (e degli affetti collaterali) dei farmaci orfani e la loro approvazione per il mercato è particolarmente complessa.

Come già evidenziato, nell'Unione Europea, i primi interventi riguardanti i farmaci orfani risalgono agli anni 1999/2000. Con la Decisione N. 1295/1999/CE del 29 aprile 1999, del Parlamento Europeo e del Consiglio, l'Unione Europea (UE) ha adottato un primo programma di azione comunitaria 1999 - 2003 sulle Malattie rare [36-38].

### ***Interventi normativi europei***

Nel 2000, l'UE ha emesso il Regolamento (CE) n. 141/2000, con il quale ha determinato i criteri per l'assegnazione della qualifica di farmaco orfano (Orphan Drug Designation, ODD). In particolare, il Regolamento, stabilisce che affinché un farmaco possa essere definito orfano, lo sperimentatore sarà tenuto a dimostrare [39]:

- la prevalenza di un'affezione nella Comunità o la potenziale redditività dell'investimento
- che non esistano validi metodi di profilassi oppure che, se esistono, il medicinale avrà effetti benefici significativi per le persone colpite dalla malattia.

Con il medesimo Regolamento, viene poi istituito presso l'Agenzia Europea per i Medicinali (European Medicines Agency, EMA), un Comitato per i Me-

dicinali Orfani (Committee for Orphan Medicinal Products – COMP) con il compito di esaminare le domande di assegnazione della qualifica di medicinale orfano, assistere e consigliare la Commissione sull'istituzione e l'attuazione di una politica in materia di medicinali orfani per l'UE [39]. Il parere espresso dal COMP viene inviato dall'EMA alla Commissione Europea, che ha competenza per la concessione della designazione. Per ottenere la qualifica di medicinale orfano, devono essere soddisfatti determinati criteri [3]:

- il farmaco deve essere inteso per il trattamento, la prevenzione o la diagnosi di una malattia che può portare alla morte o alla debilitazione cronica;
- la diffusione della malattia nell'Unione non deve colpire più di cinque individui su diecimila, o deve essere comunque improbabile che la commercializzazione del medicinale generi ritorni sufficienti a giustificare l'investimento necessario per il suo sviluppo;
- non esistono metodi soddisfacenti di diagnosi, profilassi o terapia di tale affezione autorizzati nell'Unione o, se tali metodi esistono, il medicinale in questione dovrà avere effetti benefici significativi per i pazienti colpiti dall'affezione.

Al fine di incoraggiare la promozione e lo sviluppo, la ricerca e la commercializzazione di specialità medicinali orfani, l'UE attribuisce alle aziende produttrici (sponsor) una serie di incentivi. Nella specie:

- all'art. 6, la possibilità per le aziende produttrici che intendono presentare una domanda di Autorizzazione all'Immissione in Commercio (AIC) di richiedere un parere preliminare all'Agenzia in merito ai diversi test e prove necessari per dimostrare la qualità, la sicurezza e l'efficacia del medicinale;
- all'art. 8, la concessione, al titolare di AIC di un medicinale orfano, di un'esclusiva di mercato pari a 10 anni, nel corso dei quali la Comunità e gli Stati Membri si impegnano a non rilasciare ulteriori autorizzazioni per le medesime indicazioni a medicinali analoghi;
- all'art. 9, l'opportunità per i farmaci qualificati come orfani di beneficiare degli incentivi messi a disposizione dalla Comunità e dagli Stati Membri al fine di promuovere la ricerca, lo sviluppo e l'immissione in commercio degli stessi.

Sempre nel 2000, la Commissione ha adottato il Regolamento (CE) n. 847/2000 [40], con il quale ha stabilito le norme di attuazione e di applicazione dei criteri previsti per l'assegnazione della qualifica di medicinale orfano nonché la

definizione dei concetti di medicinale «simile» e di medicinale «clinicamente superiore». In particolare, tale Regolamento, specifica cosa debba intendersi per criteri di prevalenza di un'affezione e di potenziale redditività dell'investimento ed indica, inoltre, la documentazione necessaria per comprovare il possesso dei requisiti previsti per l'assegnazione della qualifica stessa.

Per quanto concerne l'Autorizzazione all'Immissione in Commercio (AIC) con il Regolamento (CE) n. 726/2004 [41], il Parlamento Europeo e il Consiglio hanno stabilito che alcune tipologie di farmaci, tra cui i farmaci orfani, debbano obbligatoriamente essere sottoposti ad una procedura definita "centralizzata", che ha una durata media di 210 giorni. Tale procedura è condotta da EMA, attraverso il suo Comitato per i Medicinali per uso umano (*Committee for Human Medicinal Products*, CHMP). Il Comitato, in seguito a valutazione scientifica della documentazione presentata dal richiedente, esprime la propria opinione che viene successivamente trasmessa alla Commissione Europea. A sua volta, la Commissione, assume una Decisione con carattere vincolante per tutti gli Stati Membri.

Il Regolamento Comunitario 141/2000 concernente i medicinali orfani, ha introdotto la possibilità per le aziende produttrici di tali medicinali, di richiedere un parere preventivo all'EMA in merito ai diversi test e prove necessari per dimostrare la qualità, la sicurezza e l'efficacia del farmaco [38]; nello stesso Regolamento, le Istituzioni Europee hanno previsto, al fine di incentivare la produzione di medicinali orfani e per alcune categorie di medicinali che rispondono a necessità mediche insoddisfatte, la possibilità di concedere delle autorizzazioni all'immissione in commercio basate su dati più limitati rispetto a quelli normalmente richiesti, con l'istituzione di una procedura dedicata per lo sviluppo di ciascun farmaco orfano, che consiste in una agevolazione da parte dell'Agenzia nella definizione del contenuto della domanda di autorizzazione.

A tal proposito, si fa riferimento all'**autorizzazione all'immissione in commercio condizionata** e all'**autorizzazione all'immissione in commercio rilasciata in circostanze eccezionali**. Entrambe le procedure sono previste dall'articolo 14 del Regolamento (CE) n. 726/2004, rispettivamente ai commi 7 e 8 [41].

Per l'autorizzazione all'immissione in commercio condizionata, disciplinata dal Regolamento (CE) n. 507/ 2006 [42], è prevista una rapida approvazione di un farmaco sulla base di dati clinici meno completi rispetto a quelli generalmente richiesti. Tale forma di autorizzazione può essere avanzata per un medicinale destinato a un bisogno medico non soddisfatto, per una malattia gravemente invalidante o pericolosa per la vita, per una malattia rara o per l'uso in situazioni di emergenza in risposta a una minaccia per la salute pub-

blica. Ciascuna autorizzazione “condizionata” ha la durata di un anno, con possibilità di rinnovo. Può essere convertita in ogni caso in autorizzazione standard solo quando l’azienda o l’ente preposto alla sperimentazione forniscono dati clinici completi. Può inoltre essere rilasciata quando il comitato ritiene che, sebbene non siano forniti dati clinici completi in merito alla sicurezza e all’efficacia del medicinale, sia comunque rispettato il rapporto rischio/beneficio, oppure quando è probabile che il richiedente possa in seguito fornire dati clinici completi, o ancora quando il medicinale è volto a rispondere ad esigenze mediche insoddisfatte e, infine, quando i benefici per la salute pubblica derivanti dalla disponibilità immediata sul mercato del medicinale in questione, superano il rischio inerente al fatto che occorranza ancora dati supplementari. L’azienda che sviluppa il farmaco ha l’obbligo di condurre altri studi per fornire dati completi, in modo da convertirla in un’autorizzazione standard.

Diverso è il caso dell’autorizzazione all’immissione in commercio rilasciata in circostanze eccezionali, che viene concessa a condizione che il richiedente istituisca meccanismi specifici sulla sicurezza del medicinale e informi le autorità competenti in merito a qualsiasi inconveniente connesso all’utilizzo del medicinale. Tale tipo di autorizzazione, rivolta in particolare alle malattie rare e ai farmaci orfani, prevede in sé che non sarà mai possibile, in linea teorica, costituire un fascicolo completo con dati clinici completi [42].

### ***Interventi normativi nazionali***

In Italia, un paziente affetto da malattia rara può avere accesso al medicamento attraverso diversi strumenti legislativi. La procedura di autorizzazione centralizzata, con modalità standard o condizionata, rappresenta la principale regola di accesso. In alternativa, per mancanza dell’autorizzazione all’immissione in commercio di un farmaco orfano indicato per una malattia rara, un paziente con una malattia rara può accedere al medicamento attraverso una delle seguenti procedure:

- la Legge 648 del 1996, che consente l’utilizzo di un farmaco su base nazionale;
- la Legge 326 del 2003, art.48 (fondo AIFA), il D.M. 8 maggio 2003 (uso compassionevole) e la Legge 94 del 1998 (ex Legge Di Bella) che, diversamente dalla Legge 648, disciplinano la prescrizione del farmaco sul singolo paziente, su base nominale [43-45].

A livello nazionale, dopo il rilascio dell’autorizzazione all’immissione in commercio mediante la procedura centralizzata, l’*Ufficio Assessment Europeo* dell’Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), effettua una valutazione scientifica

dei dossier dei prodotti medicinali innovativi e ad alto valore tecnologico e, con una determina di recepimento, classifica il farmaco in apposita sezione dedicata ai farmaci non ancora valutati ai fini della rimborsabilità (classe C-nn). La classe C-nn può essere considerata come una classe provvisoria ed è stata istituita dalla legge n. 189/2012 [46].

Attualmente, nel registro EMA dei Farmaci Orfani, sono presenti 106 farmaci in possesso di AIC sul territorio Europeo; 12 di queste autorizzazioni sono relative al 2018. Questa stessa legge, anche conosciuta come Legge Balduzzi [47], prevede la possibilità per l'azienda produttrice di presentare domanda di prezzo/rimborso all'AIFA subito dopo il rilascio del parere positivo del CHMP e, dunque, ancora prima che la Commissione Europea abbia rilasciato l'autorizzazione comunitaria alla commercializzazione del farmaco. Tale deroga alla normale procedura è riferibile, oltre che ai farmaci orfani, ai medicinali utilizzabili esclusivamente in ambiente ospedaliero e ai farmaci di eccezionale rilevanza terapeutica.

Ulteriore incentivo rivolto alla ricerca e alla produzione di farmaci orfani è rappresentato dal Decreto Legge n. 95/2012 [48], il quale ha previsto che, nel caso di superamento del budget attribuito all'azienda titolare di farmaci in possesso della qualifica di medicinali orfani, questo, ai fini del ripiano, al lordo IVA, è ripartito tra tutte le aziende titolari di AIC per medicinali non innovativi coperti da brevetto in proporzione ai rispettivi fatturati. Ancora, la Legge n. 98/2013 [49], modificando la legge n. 189/2012, ha attribuito ad AIFA il compito di valutare in via prioritaria i farmaci orfani e di eccezionale rilevanza terapeutica, disponendo di un tempo massimo di valutazione pari a 100 giorni. (cd. "fast track autorizzativo"). Nel caso di mancata presentazione entro 30 giorni dal rilascio dell'autorizzazione all'immissione in commercio di un farmaco orfano e di eccezionale rilevanza terapeutica, l'AIFA sollecita l'azienda titolare della relativa autorizzazione all'immissione in commercio a presentare la domanda di classificazione entro i successivi 30 giorni. Decorso tale termine, ne viene data informativa sul sito istituzionale dell'AIFA e, di conseguenza, decade la collocazione presso la Fascia C non negoziata (C-nn). Tale classificazione è generalmente considerata come provvisoria (e contenente i farmaci non ancora valutati ai fini della rimborsabilità).

### **I farmaci orfani ad uso pediatrico**

Un numero considerevole di malattie pediatriche possono essere qualificate come malattie rare e circa il 60% dei medicinali orfani designati è destinato all'uso pediatrico. I medicinali autorizzati nell'Unione, le cui informazioni sul prodotto includono i risultati degli studi di un piano di indagini pediatriche, possono beneficiare di un'estensione del relativo certificato protettivo

complementare (CCP) pari a sei mesi. Qualora si tratti di medicinali orfani designati, questi possono beneficiare di ulteriori due anni di esclusività di mercato.

Il Regolamento relativo ai medicinali per uso pediatrico è entrato in vigore nel gennaio 2007 [50] con lo scopo di migliorare la salute della popolazione pediatrica, facilitando lo sviluppo e la disponibilità di farmaci per i bambini dai 0 ai 17 anni. Tale normativa mira a garantire che i farmaci per i bambini rispondano a standard di elevata qualità, che la ricerca sia effettuata in maniera etica e le immissioni in commercio siano autorizzate in modo appropriato, evitando di sottoporre i piccoli pazienti a sperimentazioni non necessarie. Il Regolamento ha istituito il Comitato Pediatrico (Paediatric Committee, PDCO), responsabile del coordinamento del lavoro dell'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA) in materia, che stabilisce gli studi che le imprese devono effettuare nell'ambito dei piani di indagine pediatrica (*Paediatric investigation plans*, PIPs).

Allo scopo di migliorare la legislazione per l'età pediatrica, negli ultimi mesi del 2018, la Commissione Europea ha aperto una consultazione sui Regolamenti concernenti i medicinali orfani e i medicinali per uso pediatrico. La consultazione mira a valutare l'efficienza e l'efficacia dei due Regolamenti, in particolare alla luce dei recenti sviluppi farmaceutici, tra cui l'impatto degli incentivi per la ricerca, lo sviluppo e la commercializzazione di tali medicinali [51,52]. Il periodo per l'invio dei commenti si è concluso a inizio 2019 e i risultati tuttora in corso di analisi.

---

## Aspetti economici

**I**l prezzo dei farmaci è una competenza nazionale, esercitata in Italia dall'AIFA. La regolamentazione per i Farmaci orfani segue le stesse indicazioni di tutti gli altri medicinali, sebbene con particolari eccezioni [53]. Il prezzo a cui un farmaco viene eventualmente rimborsato dal SSN è frutto di una negoziazione fra l'Azienda che ne chiede la commercializzazione sul territorio nazionale e l'AIFA. Quest'ultima deve attenersi ai seguenti criteri:

- Rapporto costo/efficacia positivo: il medicinale è ritenuto utile per il trattamento di patologie per le quali non esiste alcuna terapia efficace, o fornisce una risposta più adeguata rispetto a farmaci già disponibili per le medesime indicazioni terapeutiche;
- Rapporto rischio/beneficio più favorevole rispetto a farmaci già disponibili per le stesse indicazioni;
- Valutazione dell'impatto economico sul SSN;
- Miglior rapporto costo terapia /die a confronto con prodotti della stessa

efficacia stima delle quote di mercato acquisibili;

- Confronto con i prezzi e i consumi degli altri Paesi dell'Unione Europea;

Nella valutazione dell'efficacia e del prezzo di un farmaco l'AIFA si avvale del supporto della Commissione Tecnico Scientifica (CTS) e del Comitato Prezzi e Rimborso (CPR) e dei dati dei consumi e della spesa farmaceutica forniti dall'Osservatorio Nazionale sull'impiego dei Medicinali (OsMed) [54].

Si noti che l'AIFA adotta quindi un approccio multi-dimensionale, che deve altresì:

- provvedere al governo della spesa farmaceutica in un contesto di compatibilità economico-finanziaria e competitività dell'industria farmaceutica, mantenendo l'equilibrio economico relativo al tetto fissato per la spesa farmaceutica convenzionata e ospedaliera;
- assicurare innovazione, efficienza e semplificazione delle procedure di registrazione, in particolare per determinare un accesso rapido ai farmaci innovativi ed ai farmaci per le malattie rare;
- favorire e premiare gli investimenti in Ricerca e Sviluppo (R&S) in Italia, promuovendo e premiando l'innovatività;
- dialogare e far interagire la comunità delle Associazioni dei malati con il mondo medico-scientifico e delle imprese produttive e distributive.

Come è evidente, alcuni richiami specifici alle MR e ai FO indica una particolare attenzione al settore che, in estrema sintesi, si trova a dover mediare fra i potenziali conflitti fra criteri di efficienza e sostenibilità.

In altri termini, non esiste deroga al criterio della costo-efficacia, che garantisce l'efficienza delle decisioni, ma dove il prezzo compatibile con tale criterio risulti non sufficientemente remunerativo per l'Azienda, entrano in gioco valutazioni sia etiche (diritto dei MR all'accesso), che economiche (remuneratività e incentivo alla ricerca), che trovano riscontro nella prescrizione di valutazioni dell'impatto economico sul SSN, quote di mercato acquisibili, sui prezzi e consumi negli altri Paesi, obiettivo di incentivazione dell'innovazione e dalla ricerca.

Diversi studi hanno dimostrato che il prezzo dei farmaci orfani è in media coerente con i criteri della costo-efficacia [55], ma con una forte variabilità, spiegata dall'epidemiologia delle malattie rare.

Queste ultime, ad esempio, vanno da una prevalenza che in Italia può andare da circa 30.000 casi a poche decine, condizionando fortemente le possibilità di fatturato e quindi il ritorno dall'investimento. Conseguentemente il prezzo è in generale adeguato, risultando inversamente proporzionale alle dimensioni del suo mercato. Questa regolarità si evidenzia anche in Italia,

come mostrato da Messori e coll. nel 2010 [56] e confermato da Medic e coll. sette anni dopo [57], in particolar modo per le patologie ultra-rare. Sempre a protezione della possibilità di ritorno dell'investimento, i farmaci orfani in Italia sono esentati dal meccanismo del pay-back, che prevede il ripiano degli sforamenti di spesa da parte delle Aziende farmaceutiche.

---

## Accesso alle cure con farmaci orfani

### *Gli Early Access Programmes in Italia*

**A**l fine di assicurare una tutela del diritto alla salute per quei pazienti affetti da patologie con limitate soluzioni terapeutiche, il nostro Paese, come altri Paesi Europei, mette a disposizione una serie di programmi, gli Early Access Programmes (EAPs), che consentono loro di accedere ad un farmaco prima del rilascio dell'AIC o durante le fasi di sperimentazione dello stesso.

### *Legge n. 648 del 1996 [43]*

Tale norma consente l'erogazione di alcuni farmaci a carico del Servizio Sanitario Nazionale per rispondere tempestivamente a condizioni patologiche per le quali non esiste una valida alternativa terapeutica. L'inserimento dei farmaci all'interno dell'elenco 648 è condizionato dall'esistenza di uno dei seguenti requisiti:

- medicinali innovativi la cui commercializzazione è autorizzata in altri Stati, ma non in Italia;
- medicinali non ancora autorizzati, ma sottoposti a sperimentazione clinica, di cui siano già disponibili risultati di studi clinici di fase seconda;
- medicinali da impiegare per un'indicazione terapeutica diversa da quella autorizzata in Italia, di cui siano già disponibili risultati di studi clinici di fase seconda.

Questi medicinali, in seguito alla pubblicazione del parere favorevole della CTS sulla Gazzetta Ufficiale (GU), vengono inseriti nell'elenco dall'AIFA su propria iniziativa oppure su proposta delle associazioni di malati, delle società scientifiche, delle aziende sanitarie, delle università, degli istituti di ricovero e cura a carattere scientifico. La richiesta viene sottoposta al controllo del Segretariato di Supporto e Coordinamento dell'Area Pre-Autorizzazione e, in seguito, della CTS dell'AIFA che esprime il parere finale. La dispensazione dei farmaci inseriti nella Legge 648/1996 avviene tramite il servizio

farmaceutico delle strutture prescrittici, ove possibile, oppure del servizio farmaceutico dell'Azienda Sanitaria Locale (ASL) di residenza del paziente. I Servizi di Farmacia hanno l'obbligo di trasmettere trimestralmente all'Assessorato Regionale alle Politiche Sanitarie, cui compete l'invio ad AIFA, i dati concernenti la spesa sostenuta e al numero di pazienti trattati per ciascuna indicazione di impiego dei medicinali inseriti in elenco. Le strutture prescrittici devono inserire in un apposito registro i dati clinici dei pazienti in trattamento e, comunicarli trimestralmente all'AIFA e all'Assessorato Regionale alle Politiche Sanitarie, mediante la compilazione di una scheda di monitoraggio.

La legge n. 79/2014 [58], modificando la legge n. 648/1996, ha statuito una deroga al generale requisito dell'assenza di una valida alternativa terapeutica. A tal proposito, con l'art. 3 si è statuito che, qualora sussista un'altra alternativa terapeutica nell'ambito dei medicinali autorizzati, previa valutazione dell'AIFA, possono essere inseriti nell'elenco previsto dalla legge n. 648/96, con conseguente erogazione a carico del Servizio Sanitario Nazionale (SSN), i medicinali utilizzabili per un'indicazione terapeutica diversa da quella autorizzata, purché tale indicazione sia nota e conforme a ricerche condotte nell'ambito della comunità medico-scientifica nazionale e internazionale, secondo parametri di economicità e appropriatezza. Il numero dei farmaci erogabili a totale carico del SSN, ai sensi della legge n. 648/96 e relative indicazioni terapeutiche, è pari a 96, di cui 29 relativi a malattie rare.

### ***Decreto Ministeriale 7 settembre 2017***

Il Decreto legislativo n. 219/2006 [59], stabilisce che con Decreto Ministeriale siano stabiliti i criteri, tra gli altri, per l'Uso Compassionevole dei medicinali non ancora registrati. Con il Decreto Ministeriale del 7 settembre 2017 si è data attuazione a quanto previsto dal suindicato D.Lgs., al fine di adottare delle procedure che garantiscano ai pazienti l'accesso rapido a terapie farmacologiche. Il Decreto pone particolare attenzione alle malattie rare e ai tumori rari riconoscendo la difficoltà, in questi settori, di condurre studi adeguatamente potenziati secondo le metodologie convenzionali e sottolinea la necessità di garantire ai pazienti affetti da queste patologie di essere trattati in centri clinici che assicurino dei percorsi diagnostico terapeutici adeguati. Oggetto del Decreto sono:

- i medicinali non ancora autorizzati, sottoposti a sperimentazione clinica e prodotti in stabilimenti farmaceutici o importati secondo le modalità e i requisiti previsti dalla normativa vigente;
- i medicinali provvisti di AIC per indicazione diversa rispetto a quella di

cui si richiede l'utilizzo;

- i medicinali autorizzati non ancora disponibili sul territorio nazionale.

Tali medicinali possono essere richiesti all'azienda farmaceutica produttrice, la quale li fornisce a titolo gratuito, per il trattamento di pazienti affetti da patologie gravi, malattie rare, tumori rari o in condizioni di malattia che li pongano in pericolo di vita per i quali non siano disponibili valide alternative terapeutiche o che non possano essere inclusi in una sperimentazione clinica o, ai fini della continuità terapeutica, per i pazienti già trattati nell'ambito di una sperimentazione clinica conclusa che abbia generato per gli stessi un beneficio clinico.

Affinché un farmaco possa essere richiesto a titolo di "Usò Compassionevole" è necessario che:

- lo stesso sia già oggetto, nella medesima indicazione terapeutica, di studi clinici sperimentali in corso o conclusi di fase III e, solo in casi particolari, che pongano il paziente in pericolo di vita, studi clinici già conclusi di fase II;
- si abbiano dati disponibili sulle sperimentazioni che consentono di formulare un parere favorevole sull'efficacia e la tollerabilità del farmaco richiesto;
- sia provvisto di Certificazione di produzione secondo le norme di buona fabbricazione (*Good Manufacturing Practice - GMP*).

Nel caso di richiesta di un farmaco per malattia rara o tumore raro devono essere disponibili studi clinici sperimentali almeno di fase I, già conclusi, in grado di documentare la sicurezza del medicinale; inoltre, la possibilità di ottenere un beneficio clinico dal trattamento con il medicinale richiesto deve essere ragionevolmente fondata. L'autorizzazione al c.d. "uso compassionevole" può essere richiesta dal medico per uso nominale, per un singolo paziente non trattato nell'ambito di studi clinici, da più medici operanti in diversi centri o da gruppi collaborativi multicentrici e, infine, dai medici o da gruppi collaborativi per pazienti che hanno partecipato ad una sperimentazione clinica che abbiano dimostrato un profilo di efficacia, tollerabilità e sicurezza tale da configurare la necessità, per coloro che hanno partecipato al trial, di fruire con la massima tempestività dei suoi risultati.

Nel caso di malattie rare e tumori rari, la richiesta di medicinali per i quali sono disponibili solo studi clinici di fase I, deve essere presentata dal medico che dirige il Centro Clinico individuato dalle Regioni per il trattamento di tali patologie. La richiesta deve essere previamente sottoposta alla valuta-

zione del Comitato Etico il quale, una volta valutata la documentazione, in caso di esito positivo trasmette ad AIFA il proprio parere. Le aziende farmaceutiche, che intendono attivare questo tipo di programmi, sono tenute ad informare preventivamente AIFA sulla data di attivazione e di chiusura degli stessi, specificando il medicinale che intendono.

***Legge n. 326 del 2003 (Fondo AIFA 5%) [44]***

La legge istitutiva dell'AIFA dispone un fondo nazionale per l'impiego di farmaci orfani per le malattie rare e di medicinali che rappresentano una speranza di cura, in attesa della commercializzazione, per particolari e gravi patologie (art. 48, comma 19, lettera a, del D.L. 30 settembre 2003 n. 269 convertito dalla Legge n. 326 del 24 novembre 2003). Tale fondo è alimentato dal 5% delle spese annuali per le attività di promozione delle aziende farmaceutiche che sono destinate ai medici (seminari, workshops, ecc.). L'utilizzo del fondo è dedicato per il 50% all'acquisto di farmaci orfani per malattie rare e di farmaci non ancora autorizzati, ma che rappresentano una speranza di cura per patologie gravi; e per il restante 50% alla ricerca sull'uso dei farmaci (i.e. studi clinici comparativi tra i medicinali tesi a dimostrare il valore terapeutico aggiuntivo, studi su farmaci orfani e studi sull'appropriatezza e l'informazione). Per quanto riguarda l'acquisto dei farmaci sopra specificati, le istanze di accesso al fondo vengono inoltrate all'AIFA, tramite le Regioni, dai Centri di riferimento che hanno in cura i malati, o da strutture specialistiche individuate dalle Regioni, con la definizione della diagnosi e del piano terapeutico. Anche le istanze provenienti direttamente dai singoli Centri che riportano in copia-conoscenza la propria Regione possono essere ugualmente accolte dall'AIFA per tale accesso. La documentazione necessaria per la richiesta di accesso al fondo prevede l'invio di una richiesta formale, l'eventuale letteratura scientifica a supporto, una breve relazione clinica con piano terapeutico per ciascun paziente. La richiesta di finanziamento deve essere supportata dal dosaggio per ciclo, dal numero di cicli e dal costo unitario del medicinale. L'istanza viene valutata dalla Commissione consultiva Tecnico Scientifica dell'AIFA che esprime il parere, previa verifica dell'esistenza delle condizioni previste dalla legge. L'acquisto del prodotto viene rimborsato dall'AIFA all'azienda farmaceutica, sulla base dei quantitativi indicati dal medico richiedente. Il restante 50% del fondo è dedicato alla ricerca indipendente sull'uso dei farmaci. L'AIFA è stata la prima Agenzia dei medicinali in Europa ad inserire fra i suoi compiti la promozione della ricerca indipendente sui farmaci rivolta a istituzioni pubbliche e non profit. L'esigenza nasce dal riconoscimento, sempre più frequentemente dibattuto all'interno del mondo scientifico internazionale, dell'importanza della ricerca indipendente

in aree nelle quali, pur in presenza di ricadute di salute potenzialmente molto rilevanti, manca un sufficiente interesse di tipo commerciale. Nel corso del triennio 2005-2007, un'area dei bandi AIFA è stata dedicata alle malattie rare e ai farmaci orfani, sia al fine di effettuare studi di efficacia e sicurezza su tali farmaci, sia al fine di migliorare l'assistenza di questo particolare sottogruppo di pazienti. In particolare le tematiche specifiche erano:

- valutazione del profilo beneficio/rischio dei farmaci orfani per malattie rare, approvati o designati dall'EMA
- valutazione del profilo beneficio/rischio nei trattamenti off-label nelle malattie rare.

È importante sottolineare che nel 2008 l'AIFA ha contribuito al bando sulle malattie rare effettuato dal Ministero della Salute, con un finanziamento pari a 3.000.000€ per 12 studi.

***D.M. 8 maggio 2003 “Uso terapeutico di medicinale sottoposto a sperimentazione clinica” (Uso compassionevole) [60]***

Per “uso compassionevole dei medicinali” si intende, ai sensi dell'art. 83 comma 2 del Regolamento CE N. 726/2004 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 31 Marzo 2004, attualmente vigente in ambito comunitario, “la messa a disposizione, per motivi umanitari, di un medicinale ad un gruppo di pazienti affetti da una malattia cronica o gravemente invalidante o la cui malattia è considerata potenzialmente letale, e che non possono essere curati in modo soddisfacente con un medicinale autorizzato. Il medicinale in questione deve essere oggetto di una domanda di autorizzazione all'immissione in commercio a norma dell'art. 6 del Regolamento o essere sottoposto a sperimentazione”. In Italia il DM 8/5/2003 “Uso terapeutico di medicinale sottoposto a sperimentazione clinica” rappresenta lo strumento normativo che stabilisce le procedure e le modalità di accesso a terapie farmacologiche sperimentali per il trattamento di patologie gravi, di malattie rare o di condizioni di malattia che pongono il paziente in pericolo di vita, quando, a giudizio del medico, non vi siano ulteriori valide alternative terapeutiche. L'accesso al medicinale sperimentale prevede un'autorizzazione all'uso da parte del Comitato Etico nel cui ambito di competenza tale richiesta ha avuto origine, stante la preventiva dichiarata disponibilità dell'azienda farmaceutica produttrice alla fornitura gratuita del medicinale. Il decreto necessita di un aggiornamento in relazione all'evoluzione del contesto normativo avvenuto in Italia e in Europa oltre che del recepimento delle linee guida europee riguardanti l'uso compassionevole dei medicinali che dovrebbe contribuire

ad una maggiore armonizzazione e trasparenza operativa nell'attivazione di programmi di uso compassionevole fra gli Stati Membri.

**Legge 94/98 art. 3, comma 2 (ex Legge Di Bella) [45]**

La presente normativa consente la prescrizione da parte di un medico, sotto la sua esclusiva e diretta responsabilità e dietro consenso informato del paziente, di medicinali regolarmente in commercio, per uso al di fuori delle condizioni di registrazione, per un paziente che ritiene non possa essere trattato utilmente con farmaci già approvati per quella indicazione terapeutica o via di somministrazione. Alla base di tale prescrizione devono sussistere documentazioni conformi all'impiego del farmaco attraverso studi clinici positivamente conclusi almeno di fase II (Finanziaria 2008).

---

### **Criteri di esenzione per malattie rare**

**I**l Decreto ministeriale n. 279/2001 [61] ha stabilito sotto quali condizioni le persone affette da MR hanno diritto all'esenzione dalla compartecipazione ai costi delle prestazioni erogate dal SSN. I criteri che danno diritto alla specifica esenzione sono contenuti nel Decreto legislativo 124/1998 e si riferiscono:

- alla rarità (riferita al limite di prevalenza < 5/10.000 abitanti stabilito a livello europeo)
- alla gravità clinica
- al grado di invalidità
- all'onerosità della quota di partecipazione (derivante dal costo del relativo trattamento).

Si tiene conto, poi, di due ulteriori criteri specifici: la difficoltà di formulare la diagnosi e la difficoltà di individuare le prestazioni adeguate alle necessità assistenziali spesso complesse. L'elenco delle MR esenti dalla compartecipazione è stato di recente ampliato dal Decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 12 gennaio 2017 di definizione dei nuovi Livelli Essenziali di Assistenza (LEA). L'elenco comprende attualmente 583 patologie, ma alcune Regioni hanno deliberato esenzioni per patologie ulteriori da quelle previste dal decreto 279/2001. Nel 2017 sono state aggiornate le liste dei LEA relativi alle malattie croniche, malattie rare, vaccini e servizi ospedalieri il cui costo è coperto dallo Stato. Con l'introduzione definitiva dei nuovi LEA è stato riscritto l'elenco delle malattie rare, con l'aggiunta di 110 nuove patologie. L'esenzione è sempre garantita su:

- ogni prestazione appropriata ed efficace per il trattamento ed il monitoraggio della malattia rara accertata e per la prevenzione delle invalidità
- prestazioni finalizzate alla diagnosi, eseguite presso i Presidi della Rete nazionale, sulla base di un sospetto diagnostico formulato da uno specialista del SSN
- indagini genetiche sui familiari dell'assistito eventualmente necessarie per diagnosticare, all'assistito, una malattia rara di origine genetica.

**Conflitto d'interessi.** *Gli autori dichiarano di non avere alcun conflitto d'interessi nella materia trattata.*

## ***Bibliografia***

EvaluatePharma. EvaluatePharma world preview 2017, outlook to 2022. [Online]. <http://www.evaluategroup.com/public/Reports/EvaluatePharma-World-Preview-2017.aspx>. 2017

Menon D, Stafinski T, Dunn A, Short H. Involving patients in reducing decision uncertainties around orphan and ultra-orphan drugs: a rare opportunity? *Patient*. 2015;8:29-39

O'Connor DJ Orphan drug designation – Europe, the USA and Japan. *Expert Opin. Orphan Drugs* 2013; 1, 255–259

Attwood MM, Rask-Andersen M, Schiöth HB. Orphan Drugs and Their Impact on Pharmaceutical Development. *Trends Pharmacol Sci*. 2018;39:525-535

Meekings KN, Williams CS, Arrowsmith JE. Orphan drug development: an economically viable strategy for biopharma R&D. *Drug Discov Today*. 2012;17:660-4

Hofer MP, Hedman H, Mavris M, Koenig F, Vetter T, Posch M, Vamvakas S, Regnstrom J, Aarum S. Marketing authorisation of orphan medicines in Europe from 2000 to 2013. *Drug Discov Today*. 2018;23:424-433

IQVIA Institute for Human Data Science (2017) Medicines use and spending in the U.S. A review of 2016 and outlook to 2021. [Online]. <https://www.iqvia.com/institute/reports/medicines-use-and-spending-in-the-us-a-review-of-2016>

Onakpoya IJ, Spencer EA, Thompson MJ, Heneghan CJ. Effectiveness, safety and costs of orphan drugs: an evidence-based review. *BMJ Open*. 2015 Jun 24;5(6):e007199.

Joppi R, Bertele V, Garattini S. Orphan drugs, orphan diseases. The first decade of orphan drug legislation in the EU. *Eur J Clin Pharmacol* 2013;69:1009–24.

Melnikova I. Rare diseases and orphan drugs. *Nat Rev Drug Discov*. 2012;11:267-8

U.S. Food and Drug Administration (2017) Search orphan drug designations and approvals. [Online]. <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/opdlisting/oopd/index.cfm>

Coté TR, Xu K, Pariser AR. Accelerating orphan drug development. *Nat Rev Drug Discov*. 2010;9:901-2

Bottoni C, Scambia G, Fagotti A, Petrillo M. The safety of bevacizumab for the treatment of ovarian cancer. *Expert Opin Drug Saf*. 2018;17:1107-1113.

Ruggieri M, Praticò AD, Evans DG. Diagnosis, Management, and New Therapeutic Options in Childhood Neurofibromatosis Type 2 and Related Forms. *Semin Pediatr Neurol*. 2015;22:240-58.

EvaluatePharma (2017) EvaluatePharma Orphan Drug Report 2017. [Online]. <http://www.evaluategroup.com/public/Reports/EvaluatePharma-Orphan-Drug-Report-2017.aspx>. 2017

Groft SC, Posada de la Paz M. Rare Diseases: Joining Mainstream Research and Treatment Based on Reliable Epidemiological Data. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1031:3-21

Reis ES, Mastellos DC, Yancopoulou D, Risitano AM, Ricklin D, Lambris JD. Applying complement therapeutics to rare diseases. *Clin Immunol*. 2015;161:225-40

Nakamura A. Mutation-Based Therapeutic Strategies for Duchenne Muscular Dystrophy: From Genetic Diagnosis to Therapy. *J Pers Med*. 2019;9. pii: E16

Kobayashi H. Recent trends in mucopolysaccharidosis research. *J Hum Genet*. 2019;64:127-137

Fecarotta S, Gasperini S, Parenti G. New treatments for the mucopolysaccharidoses: from pathophysiology to therapy. *Ital J Pediatr*. 2018;44:124

U.S. Food and Drug Administration (2018) What are “biologics” questions and answers. [Online]. <https://www.fda.gov/AboutFDA/CentersOffices/OfficeofMedicalProductsandTobacco/CBER/ucm133077.htm>

Fonseca DA, Amaral I, Pinto AC, Cotrim MD. Orphan drugs: major development challenges at the clinical stage. *Drug Discov Today*. 2019;24:867-872

Groft SC, Posada de la Paz M. Preparing for the Future of Rare Diseases. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1031:641-648

Kempf L, Goldsmith JC, Temple R. Challenges of developing and conducting clinical trials in rare disorders. *Am J Med Genet A*. 2018;176:773-783

Bai JP, Barrett JS, Burckart GJ, Meibohm B, Sachs HC, Yao L. Strategic biomarkers for drug development in treating rare diseases and diseases in neonates and infants. *AAPS J*. 2013;15:447-54

Sun W, Zheng W, Simeonov A. Drug discovery and development for rare genetic disorders. *Am J Med Genet A*. 2017;173:2307-2322

Xia G, Terada N, Ashizawa T. Human iPSC Models to Study Orphan Diseases: Muscular Dystrophies. *Curr Stem Cell Rep*. 2018;4:299-309

Putzeist M, Heemstra HE, Garcia JL, Mantel-Teeuwisse AK, Gispen-De Wied CC, Hoes AW, Leufkens HG. Determinants for successful marketing authorisation of orphan medicinal products in the EU. *Drug Discov Today*. 2012;17:352-8

Mariz S, Reese JH, Westermarck K, Greene L, Goto T, Hoshino T, Llinares-Garcia J, Sepodes B. Worldwide collaboration for orphan drug designation. *Nat Rev Drug Discov*. 2016;15:440-1

Groft SC, Posada de la Paz M. Preparing for the Future of Rare Diseases. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1031:641-648

Groft SC, Posada de la Paz M. Rare Diseases: Joining Mainstream Research and Treatment Based on Reliable Epidemiological Data. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1031:3-21

Zhao M, Wei DQ. Rare Diseases: Drug Discovery and Informatics Resource. *Interdiscip Sci.* 2018;10:195-204.

Whicher D, Philbin S, Aronson N. An overview of the impact of rare disease characteristics on research methodology. *Orphanet J Rare Dis.* 2018;13:14.

O'Connor DJ, Hemmings RJ. Coping with small populations of patients in clinical trials. *Expert Opinion on Orphan Drugs* 2014; 2:8

Hilgers RD, Roes K, Stallard N; IDEAl, Asterix and InSPiRe project groups. Directions for new developments on statistical design and analysis of small population group trials. *Orphanet J Rare Dis.* 2016;11:78

Martini D, Biasini B, Rossi S, Zavaroni I, Bedogni G, Musci M, Pruneti C, Passeri G, Ventura M, Galli D, Mirandola P, Vitale M, Dei Cas A, Bonadonna RC, Del Rio D. Claimed effects, outcome variables and methods of measurement for health claims on foods proposed under European Community Regulation 1924/2006 in the area of appetite ratings and weight management. *Int J Food Sci Nutr.* 2018;69:389-409

Kozarewicz P, Loftsson T. Novel excipients - Regulatory challenges and perspectives - The EU insight. *Int J Pharm.* 2018;546:176-179

Tomasi PA, Egger GF, Pallidis C, Saint-Raymond A. Enabling Development of Paediatric Medicines in Europe: 10 Years of the EU Paediatric Regulation. *Paediatr Drugs.* 2017;19:505-513.

Tambuyzer E. Rare diseases, orphan drugs and their regulation: questions and misconceptions. *Nat Rev Drug Discov.* 2010;9:921-9

Regolamento (CE) n. 847/2000 Gazzetta ufficiale 103 del 28/04/2000 pag. 0005 - 0008 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=CELEX%3A32000R0847>.

Regolamento (CE) n. 726/2004 Gazzetta ufficiale 136 del 30/04/2004 pag. 0001 - 0033 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/it/TXT/?uri=CELEX:32004R0726>

Regolamento (CE) n. 507/2006 Gazzetta Ufficiale del 29/03/2006 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/?uri=CELEX%3A32006R0507>

Legge 23 Dicembre 1996, numero 648 <http://www.parlamento.it/parlam/leggi/96648l.htm>

Legge 24 Novembre 2003, numero 326 <http://www.camera.it/parlam/leggi/03326l.htm>

Legge 8 aprile 1998, numero 94 <http://www.camera.it/parlam/leggi/98094l.htm>

Legge 8 novembre 2012, n. 189

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2012/11/10/012G0212/sg>

Decreto-legge 13 settembre 2012, n. 158

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2012/09/13/012G0180/sg>

Decreto-legge 6 luglio 2012, n. 95

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2012/08/14/12A09068/sg>

Legge 9 agosto 2013, n. 98

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2013/08/20/13G00140/sg>

Regolamento (CE) n. 1901/2006. Gazzetta Ufficiale del 27/12/2006. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/IT/TXT/PDF/?uri=CELEX:32006R1901&from=PL>

Maier WC, Christensen RA, Anderson P. Post-approval Studies for Rare Disease Treatments and Orphan Drugs. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1031:197-205

Dunoyer M. Accelerating access to treatments for rare diseases. *Nat Rev Drug Discov.* 2011;10:475-6.

Messori A. Orphan Drug Pricing: An Original Exponential Model Relating Price to the Number of Patients. *Sci Pharm.* 2016;84:618-624

Folino-Gallo P, Montilla S, Bruzzone M, Martini N. Pricing and reimbursement of pharmaceuticals in Italy. *Eur J Health Econ.* 2008;9:305-10

Picavet E, Cassiman D, Simoens S. What is known about the cost-effectiveness of orphan drugs? Evidence from cost-utility analyses. *J Clin Pharm Ther.* 2015;40:304-7

Messori A, Cicchetti A, Patregani L. Orphan drugs. Relating price determination to disease prevalence. *BMJ.* 2010;341:c4615

Medic G, Korchagina D, Young KE, Toumi M, Postma MJ, Wille M, Hemels M. Do payers value rarity? An analysis of the relationship between disease rarity and orphan drug prices in Europe. *J Mark Access Health Policy.* 2017;5:1299665

Legge 16 maggio 2014, n. 79

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2014/05/20/14G00090/sg>

Decreto legislativo 24 aprile 2006, n. 219

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2006/06/21/006G0237/sg>

Decreto 8 maggio 2003, n. 203.

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2003/08/05/003G0228/sg>

Decreto 18 maggio 2001, n. 279.

<https://www.gazzettaufficiale.it/eli/id/2001/07/12/001G0334/sg>



## L'ASSISTENZA PRIMARIA E LE MALATTIE RARE

*Antonino Gulino*

**I**l pediatra di libera scelta o, come preferiamo definirci, pediatra di famiglia, è il medico di fiducia del bambino, il professionista di **riferimento dei genitori per la salvaguardia della salute globale del proprio figlio**. Il pediatra segue il bambino nella sua crescita, da 0 a 14 anni, valuta con visite periodiche, i bilanci di salute, il suo sviluppo psico-neuro-motorio, fornisce ai genitori informazioni sanitarie, in particolare sui corretti stili di vita e sulle vaccinazioni. Il pediatra svolge inoltre un ruolo di collegamento tra il bambino – cittadino e la Sanità pubblica, permettendo di accedere a tutti i servizi e prestazioni garantiti dal Servizio sanitario nazionale (Ssn), compresi nei Livelli essenziali di assistenza (LEA). **In caso di handicap** o di patologie croniche si può richiedere una proroga dell'assistenza pediatrica fino a 16 anni di età. Questa possibilità è particolarmente importante in quanto il pediatra nel corso degli anni ha acquisito specifiche competenze rispetto alla patologia del bambino, indispensabili per garantire le migliori condizioni di assistenza. Acquisire specifiche competenze è la sfida culturale che il pediatra di famiglia deve affrontare ogni qual volta deve gestire un bambino con malattia rara. Evenienza sempre più frequente nei nostri ambulatori tenendo conto dei dati raccolti dallo specifico Registro nazionale dell'Istituto Superiore di Sanità che calcola 20 casi di malattie rare ogni 10.000 abitanti e di esse il 20% riguarda pazienti in età pediatrica (Osservatorio Malattie Rare in collaborazione con Orphanet Italia, 2017). Noi pediatri siamo abituati a confrontarci con malattie comunemente osservate e abbiamo poca o nessuna esperienza con malattie rare, ogni volta pertanto proviamo a costruire un percorso assistenziale individualizzato che tenga conto non solo della patologia ma del bambino malato, della sua famiglia e delle risorse che il territorio è in condizione di offrire. La malattia rara è quasi sempre una condizione clinica ad alta complessità assistenziale. Si calcola che circa il 30% delle patologie pediatriche gravi è costituito da una Malattia Rara, frequentemente una patologia cronica ed invalidante con un impatto familiare e sociale di grandissima rilevanza sanitaria. Nostro compito è individuare precocemente i bambini affetti da malattia rara e seguirli nel miglior modo possibile. Alcune malattie rare vengono diagnosticate alla nascita con screening neonatali, altre esordiscono in età pediatrica; la diagnosi in questi casi non è semplice, si aspetta dai 3 ai 6 anni e spesso ci confrontiamo con malattie "orfane": malattie che restano senza diagnosi o di cui si continua a ignorare la causa. Oggi grazie ad indagini genetiche particolarmente sofisticate si riesce ad identificare la causa della malattia in una buona percentuale dei casi avviati

alla ricerca. Il pediatra di famiglia deve conoscere queste nuove opportunità non solo diagnostiche ma anche terapeutiche per indirizzare i genitori verso percorsi virtuosi, aiutandoli a evitare improbabili soluzioni provenienti da informazioni attinte da siti della rete informatica poco controllati e poco controllabili. Nostro impegno è anche informare i genitori sulle prospettive di vita e qualità di vita del bambino, compatibilmente con le sue problematiche biomediche, senza trascurare un aspetto non irrilevante quale il rischio di ricorrenza della malattia. Il nostro principale obiettivo è sempre quello di promuovere la salute ed il benessere del bambino e della sua famiglia in vista di una vita da adulto la più autonoma e felice possibile, ma per rendere realizzabile tutto questo è necessario “fare rete”. Il “problema” va affrontato non solo dal territorio o dall’ospedale ma richiede una comunicazione e collaborazione tra strutture Sanitarie e sociali e tra Enti ed Istituzioni al fine di offrire una reale continuità dell’assistenza al bambino – cittadino. Il quotidiano ci pone costantemente di fronte a delle criticità, continuiamo a constatare un ritardo nella “presa in carico” del neonato da parte del pediatra di famiglia, dovuta a difficoltà essenzialmente di tipo organizzativo o di comunicazione. Il nostro lavoro è inoltre complicato dalla mancanza di strumenti operativi ed organizzativi che permettano la trasmissione di notizie tra Ospedali e PLS e tra Ospedali e Istituzioni territoriali, senza dimenticare la disomogeneità in ambito regionale, aziendale e talora distrettuale riguardo alle modalità di gestione del paziente con malattia rara. Ancora oggi nella realtà in cui mi trovo ad operare, di fronte a patologie “importanti” si cercano risposte più nella buona volontà del singolo o nella rete di contatti che ciascuno di noi ha costruito negli anni. Fortunatamente negli ultimi anni la situazione sta mutando: la nascita del Centro Nazionale Malattie Rare, la possibilità di contattare facilmente un esperto attraverso un numero verde, condividere informazioni, farmaci, conoscere quali associazioni dei malati insistono sul territorio o quali centri si occupano di una determinata patologia ci ha aiutato ad affrontare queste malattie. L’assistenza primaria intesa come metodologia di ricerca di percorsi sanitari individualizzati nei vari contesti sociali e clinici non è comunque facilmente realizzabile e necessita da parte del pediatra di famiglia dell’assunzione di un ruolo di regista-coordinatore della cura e soprattutto di un impegno personale che tenga conto non solo delle esigenze mediche (quali farmaci ? quale dieta? quali vaccinazioni?) ma anche di quelle personali del bambino e della famiglia (la possibilità di fruire della legge 104, quali presidi utilizzare, l’esenzione dal pagamento del ticket sanitario, ecc.). Pertanto preferisco affrontare l’argomento attraverso la narrazione della mia esperienza personale, sicuramente parziale e migliorabile ma più sincera di una semplice elencazione di buone prassi o meglio di buone intenzioni.

Le malattie rare con cui ci confrontiamo possono essere divise in tre categorie:

- Le malattie rare annunciate;
- Le malattie rare sospettate e diagnosticate;
- Le malattie rare sospettate ma senza una diagnosi.

---

## Le malattie rare annunciate

**L**e malattie rare annunciate sono un gruppo eterogeneo di patologie individuate precocemente attraverso gli screening pre- natali e neonatali. Le malformazioni congenite sono quelle con le quali ci confrontiamo più frequentemente; il bambino giunge alla nostra osservazione con una diagnosi, spesso dopo un periodo più o meno lungo presso un ospedale. In questo gruppo possono essere inseriti i due casi clinici da me affrontati.

### La storia di Agata

Agata è nata alla 33° settimana di gestazione da TC di emergenza per riscontro di polidramnios. Pesava kg 1.960, lunghezza 45 cm, circonferenza cranica 32 cm. Le condizioni generali apparivano compromesse. Alla nascita veniva aspirata ma si evidenziava l'impossibilità di far procedere il sondino naso-gastrico oltre il livello T3. Un esame ecografico effettuato in 27° settimana aveva posto il dubbio diagnostico di "atresia esofagea" e il controllo radiologico effettuato alla nascita confermava la diagnosi. La piccola in considerazione dell'instabilità del quadro clinico veniva ricoverata in UTIN e posta in assistenza ventilatoria meccanica invasiva, veniva contattato il referente della Chirurgia pediatrica e si programmava iter terapeutico. Il giorno successivo alla nascita veniva sottoposta a intervento chirurgico di "chiusura della fistola tracheo-esofagea ed anastomosi dei monconi esofagei, intervento chirurgico di funduplicatio secondo Nissen e confezionamento di gastrostomia". Nel post-operatorio la piccola posta in termoculla, ha necessitato di assistenza ventilatoria per oltre un mese, ha presentato diversi episodi di crisi di desaturazione con cianosi e bradicardia. Ha effettuato fototerapia per il riscontro di iperbilirubinemia neonatale. Durante la degenza è stata sottoposta a ripetute valutazioni infettivologiche e degli indici di flogosi che hanno consentito di isolare "Klebsiella Pneumoniae" al tampone faringeo e alla coltura dell'aspirato tracheale, pertanto è stata sottoposta ad antibiotico-terapia mirata. Si è alimentata inizialmente per via infusoriale, successivamente per via parenterale totale, poi per gavage e infine al poppatoio. In

progressivo miglioramento clinico la piccola veniva dimessa con il peso di 3,640 dopo tre mesi di ricovero.

La presa in carico: I genitori su consiglio di amici avevano pensato di affidarmi in cura la bambina. Primo incontro: difficile, i genitori in tre mesi avevano sviluppato un rapporto di dipendenza con i medici della struttura, facevano fatica ad ascoltare una fonte diversa, ma soprattutto erano terrorizzati all'idea di gestire a casa la propria figlia. L'arrivo di un figlio è sempre un momento emozionante, ma alla felicità si associa spesso la paura di non essere in grado di svolgere la propria funzione genitoriale. La paura prende il sopravvento quando il proprio figlio è nato con una malattia che ha messo in pericolo la sua stessa vita, il suo futuro.

La gestione di Agata non è stata semplice a partire dall'alimentazione: quanto latte? quando usare il poppatoio? quando usare la PEG (Percutaneous Endoscopic Gastrostomy)? come gestire la PEG? La valutazione della crescita fisica è stata continua e necessaria, assieme alla valutazione della crescita neuromotoria. I genitori in queste condizioni si perdono tra una serie di controlli clinici e strumentali, la visita chirurgica, la valutazione cardiologica, l'ecografia delle anche, le fotoemissioni, la visita oculistica, l'esofagografia. Il trattamento riabilitativo, la PEG, i vaccini, il contatto con il mondo esterno, tutto questo fa parte della gestione di Agata. Il ruolo del pediatra in queste situazioni è quello di accompagnare e supportare i genitori, evitare che la stanchezza diventi cura inadeguata. Costruire insieme ai genitori un percorso che permetta di usare al meglio le opportunità del territorio, individuare l'atteggiamento più idoneo per evitare cortocircuiti genitoriali, ma soprattutto un allontanamento da una bambina troppo complicata.



Gestione quotidiana: Valutazione della deglutizione (capacità di ingerire il latte evitando il soffocamento), gestione della PEG, calcolo dell'intake energetico tenendo conto che la bimba si alimenta sia attraverso la peg che per suzione autonoma. Fisiokinesiterapia.

Patologie intercorrenti: diarrea, flogosi delle alte vie respiratorie, reflusso gastro-esofageo, febbre.

***L'Atresia esofagea è una malformazione congenita dell'esofago che colpisce 1 bambino su 3500 nati vivi e si determina tra la 3a e la 5a settimana di vita del feto.*** Si tratta di un'anomalia congenita di separazione tra esofago e trachea, si ha una interruzione dell'esofago spesso associata alla presenza di una comunicazione con la trachea, come nel nostro caso. Il problema è risolvibile nel 90% dei casi grazie all'intervento chirurgico che consiste nella chiusura della comunicazione tra esofago e trachea e nel congiungimento dei due monconi dell'esofago che terminavano a fondo cieco. Rif. Orphanet.

### La storia di Gabriel

Gabriel è nato a termine da taglio cesareo in seguito a presentazione podalica, gestazione decorsa normalmente. Alla nascita presentava una sindrome polimalformativa caratterizzata da gravi malformazioni degli arti superiore ed inferiore destro, organi genitali maschili con testicolo destro non palpabile, ano imperforato, scoliosi deformante, ipoplasia del bacino destro. Nel corso delle prime 24 ore di vita veniva sottoposto a colostomia derivativa. Il sensorio appariva torpido con lieve ipertono degli arti superiore ed inferiore sinistro. Gabriel viene ricoverato immediatamente in UTIN dove viene eseguita una Rx Total Body, che confermava emivertebre toraciche, coste soprannumerarie, all'arto superiore destro ipoplasia ulna, agenesia radio, malformazione mano, all'arto inferiore destro ipoplasia grave del femore, aplasia di fibula e tibia, piede malformato, ipoplasia del bacino. Inoltre all'ecografia cardiaca si evidenziava arco aortico destro posto, insufficienza della valvola tricuspide e dilatazione del ventricolo destro, l'eco renale mostrava ipoplasia del rene destro con megaurettere destro refluyente, all'RX toracica ipoplasia del polmone destro. La RMN della colonna mostrava grave scoliosi deformante del tratto dorso-lombare con malformazioni costo-vertebrali e del bacino. Cariotipo nella norma. Analisi array-CGH nella norma. Il piccolo è stato più volte operato per la malformazione al retto per canalizzazione. È stato sottoposto a nefrectomia destra e orchietomia destra. Durante il ricovero in UTIN è stato affetto da numerose infezioni delle vie urinarie. Nonostante il



percorso estremamente travagliato ed i numerosi ricoveri in chirurgia pediatrica, il bambino è cresciuto, ha uno sviluppo cognitivo nella norma, è molto intelligente e pur con molte difficoltà riesce a muoversi nello spazio.

Commento: la gestione di Gabriel è stata ed è molto complessa, le numerose infezioni delle vie urinarie, la colostomia, la ricerca di una dieta adeguata, le terapie intercorrenti tra un ricovero ed un altro hanno comportato numerose difficoltà. La madre è stata mia paziente, seguo il fratellino maggiore ed ho cercato di dare supporto medico ma anche ho cercato e trovato la collaborazione dei colleghi prima dell'UTIN e poi della Chirurgia Pediatrica.

Difficoltà: la richiesta dei genitori è stata innanzitutto cercare una ragione alla patologia del proprio figlio; ho supportato la madre ed i suoi immotivati sensi di colpa. Ho cercato centri di riferimento per la gestione di problematiche emergenti, ho tuttora difficoltà a gestire la grave scoliosi nel timore di una probabile sofferenza midollare.

---

## Le malattie rare sospettate e diagnosticate

**L**e malattie rare sospettate dal pediatra di famiglia e diagnosticate dal pediatra stesso sono quelle che rafforzano il ruolo dello stesso e lo gratificano umanamente oltre che professionalmente. Il limite può essere, come nel caso di Francesca, rappresentato da una chiusura della famiglia ad un contributo da parte delle istituzioni, viste spesso lontane ed inadeguate. Il tentativo di gestire in relazione alla gravità della patologia tutto all'interno del proprio nucleo relazionale è espressione di difesa del proprio figlio. La malattia viene percepita come diversità o peggio inferiorità e allontana da contesti sociali che invece possono aiutare l'inserimento del bambino con un handicap.

### La storia di Francesca

Francesca è secondogenita, presenta anamnesi familiare negativa per patologie degne di nota. È nata alla 37<sup>a</sup> settimana, gravidanza fisiologica esitata in parto cesareo, motivato da pregresso cesareo. Peso neonatale 2150 gr, lunghezza 41 cm, cc. 31 cm. Indice di Apgar a 5 m. 9. Allattamento misto fin dalla nascita. Nel primo anno di vita ha presentato numerosi episodi di IRR, durante le ore notturne venivano riferite crisi di apnea. La valutazione neurologica eseguita al bilancio di salute del 12<sup>o</sup> mese evidenziava un ritardo NM di modica entità. La facies mostrava lieve asimmetria del volto, naso a sella e basso impianto dei padiglioni auricolari.

Francesca ha eseguito numerosi controlli specialistici: ecotransfontanellare, otoemissioni, ecg, ecocardiogramma, visita oculistica, tutti nella norma. La

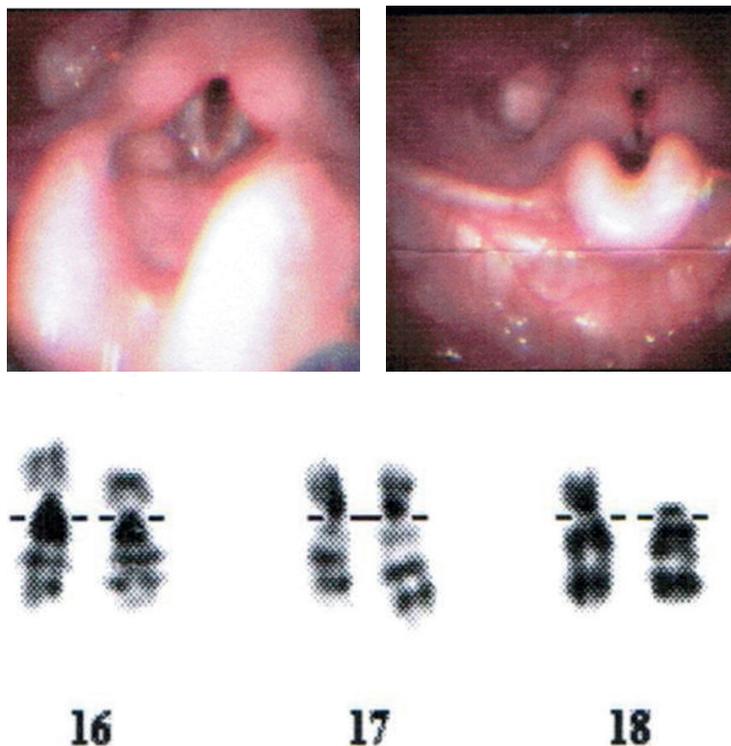
crescita staturò-ponderale si è mantenuta al di sotto del 3° percentile, decisamente inferiore al target genetico. Per tale ragione vengono eseguiti alcuni esami di laboratorio di routine quali l'Emocromo, la VES, l'azotemia, la creatinemia, le transaminasi, es. urine urinocoltura ma anche la transglutaminasi, gli anticorpi anti-endomisio e gli ormoni tiroidei. Gli esami di laboratorio sono nella norma ma la bimba non mi convince: non cresce ed ha una facies decisamente strana, richiedo il cariotipo. L'analisi delle metafasi linfocitarie, eseguita mediante FISH con sonde specifiche per le regioni subtelomeriche di ogni cromosoma, ha evidenziato la presenza di una delezione terminale parziale del braccio corto di un cromosoma 18.

***Definizione: 18p- è stata descritta la prima volta nel 1960. Da allora, oltre 100 case report sono stati pubblicati, descrivendo le caratteristiche della 18p-.***

La Sindrome 18p- è ancora relativamente poco conosciuta ed i sintomi descritti sono molteplici e possono variare da un caso all'altro.

- Circa il 60% dei bambini portatori della delezione sono femmine.
- Il ritardo mentale, di vario grado, è una caratteristica molto frequente, così come i problemi di linguaggio. I bambini sono spesso più bassi della media e possono avere caratteristiche somatiche particolari, come alterazioni dei padiglioni auricolari e alcune caratteristiche facciali.
- In circa il 67% dei casi si osserva l'oloprosencefalia (una malformazione dello sviluppo del cervello che ha un ampio grado di severità: dalla malformazione ciclopica al ponte nasale piatto). Rif.Orphanet.





Consiglio di eseguire anche una Polisonnografia per le frequenti crisi di apnea notturne che conferma i problemi respiratori. Viene eseguita una laringoscopia che mostra: Flaccidità delle aritenoidi come da laringomalacia.

Francesca ha presentato un modico ritardo nello sviluppo psicomotorio. Ha impiegato più tempo per imparare a rotolare, sedersi, strisciare, camminare. Le competenze linguistiche si sono sviluppate più tardi rispetto ai coetanei. Dall'età di 12 mesi segue terapia riabilitativa, psicomotricità, dall'età di due anni segue un programma di recupero logopedico.

Francesca a tre anni inizia a presentare algie pauciartrali ricorrenti; viene posta diagnosi di artrite reumatoide, tale patologia è stata associata sporadicamente alla sindrome 18p-. È stata trattata per due anni con methotrexate, interrotto per importante ipertransaminasemia, da un anno ha iniziato trattamento con terapia biologica con buoni risultati.

**Considerazioni:** La diagnosi di Francesca è stata sospettata e diagnosticata dal pediatra, ciò ha facilitato il follow-up della patologia, che nel corso degli anni si è aggravato con la comparsa di patologie poco prevedibili quali l'ar-

trite reumatica. Ma i genitori hanno una certa diffidenza ad affidarsi a strutture ospedaliere. La terapia biologica che necessita di pre-ricovero è stata iniziata tardivamente, ma anche la terapia di supporto logopedica e fisioterapica è stata effettuata privatamente, quasi a chiudere in una cerchia ristretta la malattia della propria figlia.

Le malattie rare sospettate dal pediatra di famiglia e diagnosticate presso un ospedale di riferimento possono allontanare la famiglia dal pediatra, ma non mettono in discussione il suo ruolo di pediatra di fiducia con il quale confrontarsi per ottenere informazioni “decodificate” in quanto spesso il medico della struttura sanitaria non usa gli stessi canali relazionali che si sono costruiti all’interno del dialogo genitori - pediatra di famiglia. La dimissione dall’ospedale, il ritorno a casa è un momento di gioia per i genitori ma anche di grande apprensione in quanto il bambino deve iniziare un follow-up necessario ma complicato. Il centro di riferimento è spesso lontano e non sempre le famiglie hanno le risorse economiche per affrontare il trasferimento. Solitamente il pediatra concorda con il centro di effettuare i controlli clinici necessari nel proprio ambulatorio e le indagini strumentali in strutture anche private vicine alla residenza del bambino. Il compito non è semplice anche perché il pediatra affronta per la prima volta quella patologia e deve pertanto iniziare un dialogo non sempre agevole con l’ospedale. Le fonti scientifiche sono spesso contraddittorie e poco utili; il numero verde dell’ISS per le malattie rare diventa il nostro più prezioso presidio, nonostante ciò l’assistenza primaria diventa un percorso ad ostacoli, dove ogni complicanza o malattia intercorrente è fonte di dubbi e preoccupazioni.

### La storia di Francesco

Francesco è nato a termine da TC per mancato impegno, primogenito, allattamento materno. A partire dal primo mese viene riferita dalla madre la comparsa di strani movimenti oculari spontanei. A due mesi viene portato per la prima volta alla mia osservazione, effettivamente il bambino non presenta aggancio visivo e mostra dei movimenti oculari strani, ruota gli occhi in modo caotico, i globi oculari mi sembrano più grandi. Invio a controllo oculistico ma il collega mi rimanda indietro il paziente, “...nulla di importante, tutto normale” il suo commento.

Rivedo il bambino al terzo mese, la situazione non è cambiata, i movimenti oculari sono sempre più strani. Chiedo nuovo consulto specialistico. Il collega in questa occasione fa diagnosi di **Glaucoma congenito!** inizia il trattamento specifico ma al successivo controllo oculistico programmato, la situ-

azione si aggrava, si evidenzia “atrofia ottica bilaterale”. Ricovero il bambino presso ospedale cittadino, vengono fatti vari accertamenti compresa una RM encefalo che mette in evidenza marcati segni di sclerosi. Viene posta ipotesi diagnostica di “OSTEOPETROSI”: Francesco viene trasferito in centro di riferimento fuori dalla nostra regione dove vengono eseguiti numerosi accertamenti, la TC Cerebrale e delle orbite evidenzia “...discreta riduzione di calibro dei canali dei nervi ottici (2 mm bilateralmente), i Potenziali Evocati Visivi mostrano rallentamento della conduzione retino – corticale, la valutazione oculistica rileva “cheratopatia da erosione bilaterale...subatrofia ottica bilaterale...non segni di glaucoma congenito... importante deficit visivo bilaterale...”

Rx arti inferiori, colonna, cranio evidenziano marcata sclerosi. Dopo Studio genetico viene posta diagnosi di: ***Osteopetrosi maligna autosomica recessiva da doppia mutazione del gene TCIRG1.***

L’***osteopetrosi maligna infantile*** è una malattia congenita rara del riassorbimento dell’osso, caratterizzata da un aumento generalizzato della densità dello scheletro. L’incidenza è stimata in 1/200.000 nati vivi. I segni tipici della malattia durante la vita fetale o nella prima infanzia consistono nell’insufficienza midollare, nelle fratture e nel **deficit visivo**.

Il mancato rimodellamento dell’osso causa un restringimento dei forami dei nervi cranici e una compressione nervosa secondaria, soprattutto del nervo ottico.

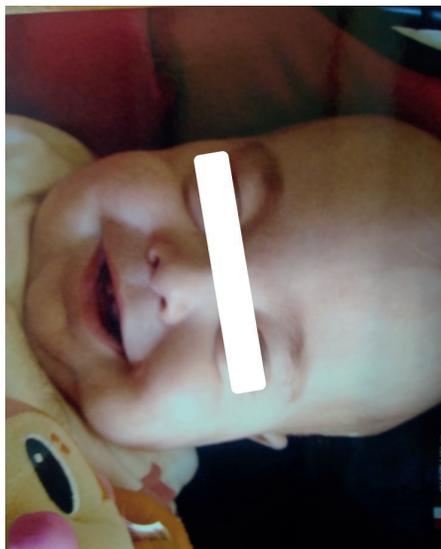
La trasmissione dell’osteopetrosi maligna infantile è autosomica recessiva. La malattia è eterogenea. Più del 50% dei casi è dovuto a mutazioni nel gene TCIRG1 e il 10% a mutazioni nel gene OSTM1. La diagnosi si basa su criteri clinici e radiologici.

La biopsia ossea è in grado di confermare la diagnosi, ma di solito non è necessaria.

Trattamento: I pazienti necessitano di emotrasfusioni, terapia antinfettiva e trattamenti mirati per i disturbi della visione e dello sviluppo.

Il trapianto di midollo osseo può attenuare i sintomi della malattia, ma deve essere eseguito precocemente, per limitare le lesioni al nervo ottico. La prognosi è spesso abbastanza soddisfacente, quando il trapianto di midollo viene attuato precocemente.

Francesco viene sottoposto a trapianto di cellule staminali emopoietiche da cordone ombelicale non consanguineo con graduale miglioramento delle condizioni cliniche. Inizia un lungo periodo di follow-up, faccio eseguire al



di fuori dell'ambiente ospedaliero i periodici controlli ematologici, oculistici, ortopedici e odontoiatrici. Il timing delle vaccinazioni è stato modificato in relazione al trapianto e alla successiva terapia. Oggi Francesco ha dieci anni, è un bel ragazzo, intelligente, sveglio, studia con passione, è cieco ma ciò nonostante va in bici, nuota, vive pienamente.

**Considerazioni:** Ogni segno clinico osservato non può essere trascurato. La relazione con la famiglia è stata fondamentale sia in fase pre-diagnostica che per la gestione del post-trapianto.

La consulenza genetica è indispensabile, oggi Francesco ha un fratellino (sano) ma superare i dubbi dei genitori non è stato semplice.

### Le malattie rare sospettate ma senza una diagnosi

**L**e malattie rare che restano senza diagnosi o di cui si continua ad ignorare la causa sono certamente quelle più difficili da gestire. Le famiglie sono spesso lasciate sole ad affrontare una patologia sconosciuta e dalle conseguenze imprevedibili, disagio e sensazione di abbandono sono spesso causa di rifiuto della medicina ufficiale. I genitori iniziano un percorso di ricerca di soluzioni che porta a consultazioni mediche frequenti e spesso poco affidabili, ad ipotesi diagnostiche fai-da-te che allontanano dal percorso diagnostico più ragionevole determinando ulteriori problemi di gestione. Il nostro ruolo è quello di recuperare la fiducia nelle istituzioni e nei progressi della medicina.

### La storia di Ludovica

Ludovica, secondogenita, è nata alla 38° settimana di gestazione da parto spontaneo col peso di kg 2,950. La gravidanza è stata caratterizzata da minacce d'aborto sin dai primi mesi. Anamnesi familiare negativa per patologie degne di nota. Allattamento materno, spesso integrato con latte adattato. All'esame obiettivo eseguito in decima giornata di vita presso il mio ambulatorio presentava microcefalia, plagiocefalia, facies asimmetrica, rime palpebrali ad andamento orizzontale, padiglioni auricolari ruotati posteriormente, bocca piccola, micrognatia, lieve ipotonia. Conosco i genitori da molto tempo, ho già in cura il loro primogenito, non senza difficoltà comunico loro le mie perplessità sulla situazione clinica della bambina; insieme decidiamo di avviare degli approfondimenti clinici. La condivisione di ogni atto medico tra il pediatra e i genitori sarà l'elemento costante nella presa in carico e nella gestione di Ludovica. All'età di due mesi viene effettuato il primo ricovero presso un reparto cittadino nel sospetto di una patologia genetica, nell'ambito del quale vengono eseguiti fra l'altro ECG, Ecocardio e visita ORL risultati nella norma. Si sospetta una Mandibulo-Facial Disostosis (Sindrome di Treacher-Collins), ma la Consulenza genetica, cariotipo e CGH-Array non danno risposta al dubbio diagnostico. Si evidenzia in questa occasione un ipotiroidismo che viene trattato con terapia sostitutiva con L-Tiroxina.



### ***Sindrome di Treacher-Collins***

La sindrome di Treacher-Collins è una malattia congenita dello sviluppo craniofacciale caratterizzata da displasia otomandibolare bilaterale e simmetrica, senza anomalie degli arti, associata a diverse anomalie della testa e del collo. L'intelligenza di solito è normale. Nei primi anni di vita possono insorgere difficoltà respiratorie ed alimentari, a causa della riduzione delle dimensioni delle vie respiratorie superiori e della limitata apertura della bocca. La sindrome è dovuta alle mutazioni del gene TCOF1(5q32-q33.1), che codifica per la fosfoproteina nucleolare Treacle, o dei geni POLR1C (6p21.1) e POLR1D (13q12.2), che codificano per le subunità delle RNA polimerasi I e III.

### **Rif: Orphanet**

All'età di 11 mesi dopo febbre post-vaccinale presenta un primo episodio convulsivo caratterizzato da ipotono, tremori e cianosi periorale. Nell'anno successivo si presentano altri due episodi di convulsioni febbrili trattati con Diazepam. A due anni e sei mesi si osservano due episodi convulsivi di lunga durata (30' - 90') con componente tonica in apiressia. La bambina viene ricoverata in centro di riferimento in altra regione dove viene eseguito Video-EEG che evidenzia "disregolazione diffusa dell'attività elettrica in veglia e sonno in assenza di franche anomalie parossistiche" si decide di iniziare terapia con Sodio Valproato. Si pone l'ipotesi diagnostica di Sindrome di Rubinstein-Taybi, viene ripetuta l'analisi array-CGH ma non si evidenzia la presenza di riarrangiamenti genomici.

### ***Sindrome di Rubinstein-Taybi***

La sindrome di Rubinstein-Taybi è una sindrome malformativa rara, caratterizzata da anomalie congenite (microcefalia, facies caratteristica, pollici e alluci larghi e ritardo della crescita postnatale), bassa statura, disabilità cognitiva e disturbi comportamentali. La sindrome di Rubinstein-Taybi può essere dovuta alla microdelezione del cromosoma 16p13.3, alle mutazioni della proteina che lega CREB (CREBBP, 16p13.3) e alle mutazioni della proteina che lega E1A (EP300, 22q13). CREBBP e EP300 presentano un grado elevato di omologia e svolgono un ruolo importante, in quanto sono co-attivatori globali della trascrizione. La patogenesi della sindrome non è nota. Non è stata individuata una correlazione genotipo-fenotipo significativa, anche se i soggetti con la mutazione di EP300 sembrano presentare un miglior quadro

funzionale e difetti meno marcati nella porzione distale degli arti.

### **Rif. Orphanet**

A complicare la situazione, dopo digiuno la bambina presenta acidosi metabolica che richiedono trattamento ospedaliero d'urgenza; gli esami metabolici effettuati non danno alcun riscontro utile alla diagnosi. Le convulsioni in apiressia nonostante la terapia si ripetono, così come frequenti sono i ricoveri in ospedale. A distanza di due anni dopo ulteriore ricovero in struttura fuori dalla nostra regione ed ulteriore EEG si pone diagnosi di Epilessia e inizia il trattamento con Carbamazepina. La piccola ha mostrato un accrescimento staturo-ponderale al di sotto del target familiare, ritardo neuromotorio, ha raggiunto il controllo del capo dopo i 4 mesi, non ha mai gattonato, ha acquisito deambulazione autonoma a 22 mesi, prime parole a circa 30 mesi, controllo sfinterico a 6 anni. Oggi la bambina ha sette anni, presenta goffaggine psicomotoria, comprende semplici ordini, ma si esprime solo con qualche frase semplice, mostra atteggiamenti oppositivi-provocatori marcati con tendenza all'auto e all'etero aggressività. La piccola è stata ed è sottoposta a trattamenti riabilitativi. Frequenta la scuola ed è seguita da un'insegnante di sostegno. Le crisi convulsive si sono diradate con un ultimo episodio un anno addietro; in atto continua la terapia con carbamazepina e L-Tiroxina.

**Considerazioni:** Ludovica ha certamente una malattia rara, ma non si riesce ad individuare la diagnosi. I genitori attendono una risposta, un po' rassegnati, un po' delusi inseguono tra una chat e l'altra possibili soluzioni (sindrome post vaccinica! Dieta senza glutine!), che proviamo ad esaminare assieme. La loro speranza è che la diagnosi dia l'avvio ad una possibile terapia. Nel frattempo il quotidiano vagare tra riabilitazione e pastoie burocratiche riempie la loro vita, tanto che il fratello maggiore ha cominciato a presentare disturbi comportamentali.

Compito del pediatra di famiglia: Gestire le patologie intercorrenti, monitorare le terapie in corso, collaborare con i centri di riferimento e non trascurare l'aggiornamento.

### **Bibliografia:**

*Tutti i riferimenti bibliografici sono tratti dal portale Orphanet*

**Conflitti di interesse.** *L'autore Gulino Antonino dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*

**Studi condotti su esseri umani e animali.** *L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte dell'autore.*

**TERZA PARTE:**

**MALATTIE RARE NEL GIOVANE ADULTO  
FIBROSI POLMONARE E MALATTIE  
RESPIRATORIE INTERSTIZIALI**

# FIBROSI POLMONARE E MALATTIE RESPIRATORIE INTERSTIZIALI

*Sebastiano Emanuele Torrisi, Carlo Vancheri*

## Le malattie respiratorie interstiziali

**L**e malattie respiratorie interstiziali (ILD) costituiscono un gruppo eterogeneo di patologie caratterizzate dalla presenza di alterazioni a carico dell'interstizio polmonare. Ad oggi se ne riconoscono circa 200 entità patologiche diverse, caratterizzate da vari gradi di infiammazione e/o fibrosi. LeILD possono essere distinte in due principali categorie: le forme a causa nota come quelle secondarie all'assunzione di alcuni farmaci (amiodarone, bleomicina, etc.), a malattie del connettivo (Artrite Reumatoide, Sclerosi Sistemica, etc), all'inalazione di alcuni antigeni (polmonite da ipersensibilità) o alla presenza di disordini del sistema immunitario (sarcoidosi) e un altro gruppo, senza una causa eziologica evidente, e per questo definite idiopatiche [1].

Fino a non molto tempo fa si riteneva che leILD fossero patologie molto rare, tuttavia recenti studi epidemiologici hanno di fatto dimostrato che esse sono più frequenti di quanto non fosse stato riconosciuto in passato. Si stima infatti che la prevalenza delleILD si attesti a circa 80,9 casi su 100.000 maschi e 67,2 casi su 100.000 femmine negli Stati Uniti, con un'incidenza di 31,5 nuovi casi diagnosticati ogni 100.000 maschi all'anno e 26,1 nuovi casi diagnosticati ogni 100.000 femmine all'anno. LeILD sono malattie che colpiscono prevalentemente soggetti in età adulta sebbene, alcune di esse, come la sarcoidosi, l'istiocitosi a cellule di Langerhans e leILD associate a disordini del sistema immunitario tendano a colpire con maggiore frequenza soggetti più giovani [1].

La Fibrosi Polmonare Idiopatica (IPF) rappresenta una delle forme più note diILD e, certamente, la più aggressiva. Essa si caratterizza per la comparsa di una fibrosi cronica e progressiva del parenchima polmonare associata a un declino inesorabile della funzione polmonare, insufficienza respiratoria progressiva ed elevata mortalità [2]. Nei paragrafi successivi verranno descritte le caratteristiche salienti, le attuali modalità di trattamento e le future prospettive terapeutiche di questa così grave entità patologica.

## Fibrosi Polmonare Idiopatica

### Definizione

**L**a Fibrosi Polmonare Idiopatica (IPF) è una patologia respiratoria cronica, a carattere progressivo e a causa non nota, che colpisce individui adulti, limitata ai polmoni ed associata al pattern radiologico e/o

istologico di “usual interstitial pneumonia” (UIP). Per la diagnosi è richiesta inoltre l'esclusione di altre patologie interstiziali idiopatiche o secondarie ad esposizione ambientale o professionale, a farmaci o a malattie sistemiche [2]. I dati epidemiologici riportano tassi di incidenza che variano considerevolmente tra le varie regioni del globo probabilmente a causa delle differenze nell'approccio diagnostico. In generale comunque si stima un'incidenza di circa 8-16 casi di IPF per 100.000 abitanti all'anno nel Nord America ed in Europa con tassi più bassi in Asia e Sud America [3-5]. È interessante sottolineare inoltre che un certo grado di variazione nei tassi di incidenza e prevalenza si riscontra spesso anche all'interno della stessa nazione. Ciò probabilmente è da attribuire a una differente esposizione a fattori di rischio ambientali e professionali. È inoltre ormai dimostrato che l'incidenza della malattia risulta essere globalmente in aumento. Un recente studio effettuato nel Regno Unito ha infatti stimato un aumento dell'incidenza di circa il 78% tra il 2000 e il 2012, oltre che un raddoppio della prevalenza [6].

L'IPF è una patologia grave, caratterizzata dalla presenza di alterazioni della normale architettura del parenchima polmonare tali da causare un progressivo deficit della funzione polmonare fino alla comparsa dell'insufficienza respiratoria ed in definitiva della morte, che avviene con una mediana di circa 3-5 anni dal momento della diagnosi [2].

### **Patogenesi e Fattori di rischio**

Negli ultimi anni numerosi progressi sono stati compiuti nella ricerca e nella migliore comprensione dei meccanismi patogenetici. Ancor più importante, alla luce delle nuove scoperte si è assistito ad una revisione dell'ipotesi patogenetica della malattia che, inizialmente vista come il risultato di un'inflammatione cronica, viene ora invece considerata come il risultato di una complessa interazione tra il substrato genetico di un individuo e il danno tissutale promosso da alcuni fattori di rischio quali il fumo, i virus (Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, HCV e herpes virus-8), il reflusso gastroesofageo (GERD) o l'eventuale esposizione ambientale o professionale ad alcuni agenti [7-11]. L'azione ripetuta di questi fattori di rischio, unitamente all'invecchiamento, alla comparsa di mutazioni epigenetiche e, probabilmente, alla presenza di un diverso microbioma, giocano un ruolo importante nella genesi di un danno cronico a carico delle cellule epiteliali alveolari [12-14]. Questi meccanismi sono quindi causa di un'alterata risposta agli stimoli che porta verso un processo di riparazione fibrotica eccessivo e ridondante e in definitiva, alla progressiva distruzione del parenchima polmonare [11].

## Diagnosi

La diagnosi di ILD è complessa, pertanto le linee guida suggeriscono che i pazienti vengano valutati in centri esperti seguendo un approccio multidisciplinare. Tale approccio prevede la presenza di diverse figure quali lo pneumologo, il radiologo, il patologo, il reumatologo e altre specialità affini in modo da ridurre al minimo la variabilità inter-osservatore e raggiungere il più alto livello di confidenza diagnostica [15-19].

La diagnosi di IPF richiede un setting clinico appropriato, l'esclusione di cause note di ILD e la presenza di un pattern di "usual interstitial pneumonia" (UIP) alla TC ad alta risoluzione del torace (HRCT) e/o alla biopsia [2].

I sintomi d'esordio dell'IPF sono rappresentati dalla tosse prevalentemente secca e dalla dispnea ingravescente [2]. Essi sono tuttavia aspecifici e, quindi, spesso causa di un notevole ritardo nella diagnosi, a volte anche di diversi anni. Il riscontro dei rantoli crepitanti tipo velcro, auscultabili in corrispondenza delle regioni postero-basali dei polmoni, rappresenta invece un segno clinico frequente, anche nelle fasi iniziali della malattia. Essi sono espressione dello stretching del parenchima polmonare fibrotico durante gli atti del respiro e, se presenti, devono indirizzare il clinico verso il sospetto di una patologia fibrosante del parenchima polmonare [20].

Un ruolo centrale nell'algoritmo diagnostico dell'IPF è ricoperto dalla valutazione radiologica. È noto ormai da tempo che l'utilizzo della tradizionale radiografia del torace nella diagnostica dell'IPF è estremamente limitato [2,21]. Pertanto, l'approccio radiologico standard si basa sostanzialmente sull'esame TC eseguito con tecnica ad alta risoluzione (HRCT) che è diventato una pietra miliare nel percorso diagnostico dell'IPF.

Il pattern radiologico di una IPF "tipica" è quello di "Usual Interstitial Pneumonia". Esso si caratterizza per la presenza di "honeycombing", spazi aerei cistici spesso riuniti in cluster, bronchiectasie da trazione e reticolazioni con una predominanza subpleurica e basale. In questo setting radiologico ed in assenza di una chiara causa di ILD, la diagnosi di IPF può essere posta sulla base della sola HRCT [2,21].

Secondo il recente aggiornamento del 2018 delle linee guida, sono tuttavia identificabili altre tre possibili categorie: "probable UIP", "indeterminate for UIP" e quadri suggestivi di "alternative diagnosis". Nel caso del riscontro radiologico di una di queste categorie si raccomanda l'esecuzione di una biopsia polmonare [2].

Diversi studi hanno comunque dimostrato che pazienti con quadro radiologico di "probable UIP" hanno un'alta probabilità (fino al 90-100%) di presentare anche all'istologia un quadro UIP, nonostante l'assenza di un honeycombing

radiologico [22]. Quindi, mentre le linee guida internazionali pongono una “conditioned recommendation” all’ eseguire una biopsia in questa categoria di pazienti, un recente documento della Fleischner Society suggerisce un approccio più conservativo, limitando l’ esecuzione di una biopsia solo a specifici casi [2,23].

Tuttavia, l’HRCT è sufficiente a supportare la diagnosi in meno del 50% dei casi di IPF [24]. Nella restante metà, il riscontro di pattern differenti, non esclude una diagnosi di IPF e suggerisce l’ esecuzione di metodiche più invasive.

Le evidenze dimostrano che il lavaggio bronco-alveolare (BAL) ha un ruolo marginale nella diagnosi dell’IPF poiché con questa procedura non risulta possibile identificare elementi specifici della malattia. Pertanto, il BAL nell’IPF si configura come elemento di supporto del clinico per l’ esclusione di altre cause di ILD (polmonite da ipersensibilità, sarcoidosi, ecc.) che entrano in diagnosi differenziale con l’IPF [2].

Nonostante gli innegabili passi in avanti nelle tecniche diagnostiche, la biopsia polmonare chirurgica (SLB) rimane ancora il “Gold Standard” per la diagnosi di IPF e, in generale, per tutte le ILD, quando i dati clinici e radiologici non sono sufficienti per una diagnosi di IPF [2,25]. Questo approccio tuttavia, data la sua invasività, è riservato solo a quei casi in cui l’ età, la funzione polmonare, la presenza di comorbidità o altre condizioni non rappresentino una controindicazione. Ci sono infatti alcuni rischi non trascurabili legati a questa procedura come l’ eventuale comparsa di pneumotorace, emotorace, versamento pleurico, empiema, la necessità di una ventilazione prolungata e persino l’ eventualità di accelerazione della progressione della malattia [25,26]. Diversi studi hanno tuttavia dimostrato che un’ attenta selezione dei pazienti può ridurre il tasso di mortalità legato alla procedura, passando dal 16% all’ 1,7% [25,26]. Recentemente è stato proposto anche un approccio meno invasivo alla biopsia polmonare tradizionale “open lung” rappresentato dalla chirurgia toracoscopica video-assistita “awake”. I dati relativi a questa metodica sono tuttavia ancora limitati ma, al tempo stesso, estremamente promettenti [27].

Il grande passo avanti compiuto negli ultimi anni verso un approccio meno invasivo è invece rappresentato dall’ applicazione della criobiopsia transbronchiale (CTTB) in pazienti con ILD. Questa tecnica mini-invasiva presenta importanti vantaggi in quanto permette il prelievo di campioni di tessuto di maggiori dimensioni rispetto alla biopsia trans-bronchiale tradizionale, utili alla diagnostica delle ILD con una performance diagnostica superiore all’ 80%, ed è relativamente sicura e ben tollerata. Inoltre, il tasso di mortalità legato alla metodica è significativamente più basso rispetto alla SLB tradi-

zionale (0,1% vs 1-3%). Pertanto, la CTTB può essere considerata una valida alternativa alla tradizionale SLB, specialmente nei casi in cui quest'ultima non è raccomandata [28,29].

## Terapia

Nonostante i ripetuti sforzi compiuti nella ricerca di farmaci efficaci, fino a qualche anno fa l'unica possibilità per i pazienti con IPF rimaneva il trapianto polmonare. Negli ultimi anni tuttavia, grazie ai numerosi passi avanti nella ricerca e alla maggiore comprensione dei meccanismi patogenetici, si è assistito ad un cambiamento epocale nella storia della IPF con l'avvento dei primi due farmaci efficaci nel ridurre il declino della funzionalità polmonare.

## Pirfenidone

Il Pirfenidone è il primo farmaco ad essere stato approvato per il trattamento dell'IPF. Esso possiede caratteristiche antinfiammatorie, antiossidanti ed antifibrotiche, inibendo diverse molecole coinvolte nel processo di fibrogenesi fra cui il TGF- $\beta$ . Sulla base di queste peculiarità, il pirfenidone è stato inizialmente testato "in vitro" e successivamente sull'uomo, dapprima in uno studio di feasibility e due studi giapponesi di fase II e III e, successivamente, in due trial clinici internazionali, gli studi CAPACITY (004 e 006), dimostrando per la prima volta una significativa riduzione del declino della funzione polmonare in pazienti affetti da IPF [30-33].

Sulla base di questi risultati il farmaco è stato messo in commercio in Europa. Tuttavia, a causa di una discrepanza nei risultati degli studi CAPACITY (studio 006), un terzo studio, denominato ASCEND, è stato successivamente lanciato negli Stati Uniti. I risultati dello studio ASCEND pubblicati nel 2014 hanno definitivamente confermato l'efficacia del pirfenidone nel rallentare il declino della funzione polmonare e nel migliorare il "progression free survival" nei pazienti affetti da IPF [34]. Questi risultati sono stati confermati anche in successive analisi pooled le quali hanno inoltre dimostrato una riduzione della mortalità per tutte le cause del 48% a 1 anno (HR 0,52,  $p = 0,01$ ) e una riduzione della mortalità per cause correlate all'IPF (treatment-emergent IPF-related) del 68% a 1 anno (HR 0,32;  $p = 0,006$ ) nel gruppo trattato con pirfenidone [35]. In uno studio più recente di Nathan et al. tali risultati sulla riduzione della mortalità sono stati ulteriormente confermati [36].

Ulteriori posthoc analisi hanno dimostrato l'efficacia del pirfenidone anche in diversi sottogruppi confrontando ad esempio pazienti con funzione maggiormente preservata (FVC  $\geq 80\%$  o GAP stadio I) rispetto a pazienti più gravi

(FVC <80% or GAP stage II–III) [37,38]. Ulteriori benefici sull'utilizzo del pirfenidone sono stati inoltre riscontrati anche in pazienti che presentavano un declino della FVC  $\geq 10\%$  a 6 mesi [39].

Il pirfenidone ha inoltre dimostrato di avere un buon profilo di sicurezza e tollerabilità sia negli studi registrativi che nella "real life". Gli effetti indesiderati più frequentemente riscontrati sono di natura gastrointestinale (nausea 35,5%, diarrea 24,6%, dispepsia 17,8%, vomito 12,7%) e cutanei (rash 29,2%). Essi sono tuttavia generalmente transitori, di entità lieve-moderata e raramente causano l'interruzione del trattamento [40].

### **Nintedanib**

Il Nintedanib è un triplo inibitore delle tirosin chinasi diretto verso i recettori  $\alpha$  e  $\beta$  del fattore di crescita derivato dalle piastrine (PDGFR), verso i recettori 1, 2 e 3 del fattore di crescita fibroblastico (FGFR) e verso i recettori 1, 2 e 3 del fattore di crescita endoteliale vascolare (VEGFR) [41,42]. Studi in vitro hanno dimostrato che il Nintedanib riduce la proliferazione, la migrazione e la differenziazione dei fibroblasti in miofibroblasti, contribuendo infine a rallentare la deposizione della matrice extracellulare.

Dopo i promettenti risultati degli studi in vitro, il Nintedanib è stato studiato inizialmente in uno studio randomizzato di fase II (TOMORROW) e successivamente in due studi paralleli randomizzati e in doppio cieco di fase III (INPULSIS-1 e INPULSIS-2). Questi studi hanno dimostrato l'efficacia e la sicurezza del Nintedanib nel rallentare il declino della funzionalità polmonare, portando così alla nascita del secondo farmaco efficace nel trattamento dell'IPF [43,44].

Anche nel caso del nintedanib è stata descritta una riduzione significativa del rischio di mortalità durante il trattamento. Inoltre successive analisi hanno dimostrato anche una riduzione del 47% del tempo alla prima esacerbazione di malattia (HR 0,53,  $p = 0,0047$ ) [45].

Così come nel caso del pirfenidone, anche l'efficacia del nintedanib è stata valutata in diversi sottogruppi dimostrando un'efficacia simile sia considerando il tasso di declino annuale della FVC che il punteggio nei questionari della salute (questionario di St George) o il tempo alla prima esacerbazione [46,47]. Inoltre, il nintedanib si è dimostrato efficace anche nel ridurre il declino funzionale in pazienti con funzione polmonare più compromessa (FVC <50% predetto) [48].

Similmente al pirfenidone, anche il nintedanib si è dimostrato sicuro e ben tollerato. Gli effetti collaterali coinvolgono maggiormente il tratto gastrointestinale e sono per lo più rappresentati dalla diarrea (62,4% dei casi). Questo

effetto collaterale tuttavia è nella maggioranza dei casi di grado lieve-moderato e risolvibile senza una riduzione della dose o interruzione del trattamento (78,6%) nella maggior parte dei casi. In una percentuale minore si riportano anche altri effetti collaterali quali nausea (24,5%), vomito (11,6%) e alterazione degli enzimi epatici. Similmente alla diarrea, anche questi eventi sono ugualmente di lieve entità e transitori nella maggior parte dei casi [43,44].

### **Terapia di combinazione**

Sia il pirfenidone che il nintedanib hanno dimostrato di ridurre significativamente il declino della funzionalità polmonare, pertanto, visto il loro diverso meccanismo d'azione, l'idea di combinare i farmaci è sembrata la conseguenza più logica [49]. I primi risultati di tale combinazione sono giunti dallo studio INJOURNEY, studio che prevedeva di esplorare il profilo di sicurezza e tollerabilità del pirfenidone in aggiunta al nintedanib rispetto alla sola terapia con nintedanib (NCT02579603). Lo studio ha dimostrato che la combinazione dei due farmaci presentava un buon profilo di sicurezza e tollerabilità. Inoltre, sebbene lo studio non fosse stato disegnato per valutare l'efficacia, è stata osservata una significativa riduzione del declino della funzionalità polmonare nel gruppo trattato con terapia di combinazione [50]. Similmente, un altro studio ha valutato il profilo di sicurezza e tollerabilità dell'aggiunta di nintedanib a pazienti già in trattamento con pirfenidone. Come nel precedente studio, la combinazione dei due farmaci si è rivelata sicura e tollerata [51]. Questi iniziali risultati positivi pongono le basi per ulteriori e più ampi studi volti ad indagare la sicurezza e l'efficacia di questa combinazione.

### **Futuri trattamenti**

L'avvento dei primi due farmaci efficaci nel trattamento dell'IPF ha portato negli ultimi anni ad un sempre maggiore interesse nella sperimentazione di nuove molecole.

Risultati estremamente incoraggianti derivano ad esempio dalla sperimentazione di analoghi della Pentraxin-2 (PTX-2). La PTX-2 è una proteina normalmente presente nel sangue e svolge un ruolo cruciale nella regolazione della guarigione delle ferite. Essa regola la differenziazione dei monociti circolanti in fibrociti e macrofagi pro-fibrotici (M2). Un iniziale studio di fase I e più recentemente uno studio di fase II (NCT02550873) che hanno testato l'azione della PRM-151 (equivalente ricombinante della PTX-2) hanno dimostrato l'efficacia di questa nuova molecola nel ridurre il declino funzionale

dei pazienti con IPF [52-54].

Allo stesso modo anche il fattore di crescita del tessuto connettivo (CTGF o CCN2) è stato considerato come un potenziale target terapeutico. Esso è uno dei principali fattori profibrotici coinvolti nella patogenesi dell'IPF insieme al TGF- $\beta$ . Recentemente, il pamrevlumab, un antagonista del CTGF, è stato valutato in uno studio fase II (NCT01890265) dimostrando una riduzione significativa del declino funzionale a 48 settimane [55-57]. Un nuovo farmaco denominato PBI-4050 che ha dimostrato proprietà antifibrotiche riducendo i livelli di CTGF, è attualmente in corso di valutazione in un altro studio di fase 2.

Come queste, molte altre molecole che hanno come target leucotrieni, interleuchine 4 e 13, integrine, protein-chinasi, autotaxine, alcune vie di trasduzione del segnale come PI3K/Akt e il microbioma sono correntemente in corso di valutazione e potrebbero rappresentare futuri trattamenti efficaci.

---

## Conclusioni

**L**a diagnosi e la gestione delle malattie interstiziali e, in particolar modo, dell'IPF sono estremamente complessi e richiedono un approccio multidisciplinare. L'IPF nello specifico costituisce il prototipo delle malattie interstiziali fibrosanti e rappresenta purtroppo l'entità patologica più diffusa e grave di questo gruppo di malattie. La continua ricerca nel corso degli anni e la migliore comprensione dei meccanismi patogenetici hanno portato alla nascita dei primi due farmaci efficaci nel trattamento dell'IPF. Nuove e numerose molecole, dirette verso diversi target patogenetici, sono comunque in corso di valutazione e potrebbero rappresentare nuove possibilità terapeutiche nel prossimo futuro.

È auspicabile quindi che il futuro dell'IPF preveda la comparsa di nuove armi farmacologiche che permettano di rallentare ulteriormente, bloccare o, magari, far regredire la malattia nella prospettiva di una terapia sempre più efficace e personalizzata.

***Conflitti di interesse.** Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse e che l'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.*

## **Bibliografia**

Travis WD, Costabel U, Hansell DM, et al. An official American Thoracic Society/European Respiratory Society statement: update of the international multidisciplinary classification of the idiopathic interstitial pneumonias. *Am J Respir Crit Care Med* 2013; 188: 733–748.

Raghu G, Remy-Jardin M, Myers JL, Richeldi L, Ryerson CJ, Lederer DJ, Behr J, Cottin V, Danoff SK, Morell F, Flaherty KR, Wells A, Martinez FJ, Azuma A, Bice TJ, Bouros D, Brown KK, Collard HR, Duggal A, Galvin L, Inoue Y, Jenkins RG, Johkoh T, Kazerooni EA, Kitaichi M, Knight SL, Mansour G, Nicholson AG, Pipavath SNJ, Buendía-Roldán I, Selman M, Travis WD, Walsh S, Wilson KC; American Thoracic Society, European Respiratory Society, Japanese Respiratory Society, and Latin American Thoracic Society. Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. An Official ATS/ERS/JRS/ALAT Clinical Practice Guideline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Sep 1;198(5):e44-e68. doi: 10.1164/rccm.201807-1255ST.

Raghu, G.; Chen, S.Y.; Yeh,W.S.; Maroni, B.; Li, Q.; Lee, Y.C.; Collard, H.R. Idiopathic pulmonary fibrosis in US Medicare beneficiaries aged 65 years and older: Incidence, prevalence, and survival, 2001–11. *Lancet Respir. Med*. 2014, 2, 566–572.

Hopkins, R.B.; Burke, N.; Fell, C.; Dion, G.; Kolb, M. Epidemiology and survival of idiopathic pulmonary fibrosis from national data in Canada. *Eur. Respir. J*. 2016, 48, 187–195.

Strongman, H.; Kausar, I.; Maher, T.M. Incidence, Prevalence, and Survival of Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis in the UK. *Adv. Ther*. 2018, 35, 724–736.

Navaratnam V, Fleming KM, West J, Smith CJ, Jenkins RG, Fogarty A, Hubbard RB. The rising incidence of idiopathic pulmonary fibrosis in the U.K. *Thorax*. 2011 Jun;66(6):462-7. doi: 10.1136/thx.2010.148031. Epub 2011 Apr 27.

Selman M, King TE, Pardo A. Idiopathic pulmonary fibrosis: prevailing and evolving hypotheses about its pathogenesis and implications for therapy. *Ann Intern Med* 2001; 134: 136–151.

Lee JS. The role of gastroesophageal reflux andmicroaspiration in idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Pulm Med* 2014;21(2): 81–85

Lee JS. The role of gastroesophageal reflux andmicroaspiration in idiopathic pulmonary fibrosis. *Clin Pulm Med* 2014;21(2): 81–85

Macneal K, Schwartz DA. The genetic and environmental causes of pulmonary fibrosis. *Proc Am Thorac Soc* 2012;9(3):120–125.

Puglisi S, Torrisi SE, Giuliano R, et al. What we know about the pathogenesis of idiopathic pulmonary fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med* 2016; 37: 358–367.

Leung J, Cho Y, Lockey RF, Kolliputi N. The role of aging in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lung* 2015;193(4):605–610

Han MK, Zhou Y, Murray S, et al. Lung microbiome and disease progression in idiopathic pulmonary fibrosis: an analysis of the COMET study. *Lancet Respir Med* 2014; 2: 548-56.

Tzouvelekis A, Kaminski N. Epigenetics in idiopathic pulmonary fibrosis. *Biochem Cell Biol* 2015;93(2):159–170

Flaherty KR, King TE Jr, Raghu G, et al. Idiopathic interstitial pneumonia: what is the effect of a multidisciplinary approach to diagnosis? *Am J Respir Crit Care Med*. 2004;170(8):904-910.

De Sadeleer LJ, Meert C, Yserbyt J, et al. Diagnostic ability of a dynamic multidisciplinary discussion in interstitial lung diseases: a retrospective observational study of 938 cases. *Chest*. 2018;153(6): 1416-1423.

Nicholson AG, Addis BJ, Bharucha H, et al. Inter-observer variation between pathologists in diffuse parenchymal lung disease. *Thorax* 2004;59(6):500–505.

Watadani T, Sakai F, Johkoh T, et al. Interobserver variability in the CT assessment of honeycombing in the lungs. *Radiology* 2013;266(3):936–44.

Walsh SLF, Calandriello L, Sverzellati N, Wells AU, Hansell DM, Observer UIP. Interobserver agreement for the ATS / ERS / JRS / ALAT criteria for a UIP pattern on CT. *Thorax* 2016;71(1):45–51

Vincent Cottin, Jean-François Cordier. Velcro crackles: the key for early diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis? *European Respiratory Journal* 2012 40: 519-521; DOI: 10.1183/09031936.00001612

Palmucci S, Roccasalva F, Puglisi S, Torrisi SE, Vindigni V, Mauro LA, Ettore GC, Piccoli M, Vancheri C. Clinical and radiological features of idiopathic interstitial pneumonias (IIPs): a pictorial review. *Insights Imaging*. 2014 Jun;5(3):347-64. doi: 10.1007/s13244-014-0335-3.

Raghu G, Lynch D, Godwin JD, et al. Diagnosis of idiopathic pulmonary fibrosis with high-resolution CT in patients with little or no radiological evidence of honeycombing: secondary analysis of a randomised, controlled trial. *Lancet Respir Med* 2014; 2: 277–84.

Lynch DA, Sverzellati N, Travis WD, Brown KK, Colby TV, Galvin JR, et al. Diagnostic criteria for idiopathic pulmonary fibrosis: a Fleischner Society white paper. *Lancet Respir Med* [online ahead of print] 15 Nov 2017; DOI: 10.1016/S2213-2600(17)30433-2.

Sverzellati N, Wells AU, Tomassetti S, Desai SR, Copley SJ, Aziz ZA, Zompatori M, Chilosi M, Nicholson AG, Poletti V, Hansell DM. Biopsy-proved idiopathic pulmo-

nary fibrosis: spectrum of nondiagnostic thin-section CT diagnoses. *Radiology*. 2010 Mar;254(3):957-64. doi: 10.1148/radiol.0990898.

Hutchinson JP, McKeever TM, Fogarty AW, Navaratnam V, Hubbard RB. Surgical lung biopsy for the diagnosis of interstitial lung disease in England: 1997-2008. *Eur Respir J*. 2016 Nov;48(5):1453-1461

Hutchinson JP, McKeever TM, Fogarty AW, Navaratnam V, Hubbard RB. Surgical lung biopsy for the diagnosis of interstitial lung disease in England: 1997-2008. *Eur Respir J*. 2016 Nov;48(5):1453-1461

Pompeo E, Rogliani P, Cristino B, Schillaci O, Novelli G, Saltini C. Awake thoracoscopic biopsy of interstitial lung disease. *Ann Thorac Surg*. 2013 Feb;95(2):445-52. doi:10.1016/j.athoracsur.2012.10.043. Epub 2012 Dec 13.

Colby TV, Tomassetti S, Cavazza A, Dubini A, Poletti V. Transbronchial Cryobiopsy in Diffuse Lung Disease: Update for the Pathologist. *Arch Pathol Lab Med*. 2017 Jul;141(7):891-900. doi: 10.5858/arpa.2016-0233-RA. Epub 2016 Sep 2.

Tomassetti S, Wells AU, Costabel U, Cavazza A, Colby TV, Rossi G, Sverzellati N, Carloni A, Carretta E, Buccoli M, Tantalocco P, Ravaglia C, Gurioli C, Dubini A, Piciocchi S, Ryu JH, Poletti V. Bronchoscopic Lung Cryobiopsy Increases Diagnostic Confidence in the Multidisciplinary Diagnosis of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016 Apr 1;193(7):745-52. doi: 10.1164/rccm.201504-0711OC.

Raghu G, Johnson WC, Lockhart D, Mageto Y. Treatment of idiopathic pulmonary fibrosis with a new antifibrotic agent, pirfenidone: results of a prospective, open-label Phase II study. *Am J Respir Crit Care Med*. 1999 Apr;159(4 Pt 1):1061-9.

Azuma A, Nukiwa T, Tsuboi E, Suga M, Abe S, Nakata K, Taguchi Y, Nagai S, Itoh H, Ohi M, Sato A, Kudoh S. Double-blind, placebo-controlled trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005 May 1;171(9):1040-7. Epub 2005 Jan 21.

Taniguchi H, Ebina M, Kondoh Y, et al. Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J* 2010; 35:821-829.

Noble PW, Albera C, Bradford WZ, et al. Pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis (CAPACITY): two randomised trials. *Lancet* 2011; 377: 1760-1769.

King TE Jr, Bradford WZ, Castro-Bernardini S, et al. A phase 3 trial of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2014; 370: 2083-2092.

Noble PW, Albera C, Bradford WZ, et al. Pirfenidone for idiopathic pulmonary fibrosis: analysis of pooled data from three multinational phase 3 trials. *Eur Respir J* 2016; 47: 243-253.

Nathan SD, Albera C, Bradford WZ, et al. Effect of pirfenidone on mortality: pooled analyses and meta-analyses of clinical trials in idiopathic pulmonary fibrosis. *Lancet*

Respir Med 2017; 5: 33–41.

Albera C, Costabel U, Fagan EA, et al. Efficacy of pirfenidone in patients with idiopathic pulmonary fibrosis with more preserved lung function. *Eur Respir J* 2016; 48: 843–851.

Torrisi SE, Pavone M, Vancheri A, Vancheri C. When to start and when to stop antifibrotic therapies. *Eur Respir Rev.* 2017 Oct 3;26(145). pii: 170053. doi: 10.1183/16000617.0053-2017.

Nathan SD, Albera C, Bradford WZ, et al. Effect of continued treatment with pirfenidone following clinically meaningful declines in forced vital capacity: analysis of data from three phase 3 trials in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Thorax* 2016; 71: 429–435.

Costabel U, Bendstrup E, Cottin V, Dewint P, Egan JJ, Ferguson J, Groves R, Hellström PM, Kreuter M, Maher TM, Molina-Molina M, Nordlind K, Sarafidis A, Vancheri C. Pirfenidone in idiopathic pulmonary fibrosis: expert panel discussion on the management of drug-related adverse events. *Adv Ther.* 2014 Apr;31(4):375-91. doi: 10.1007/s12325-014-0112-1. Epub 2014 Mar 18.

Wollin L, Maillet I, Quesniaux V, Holweg A, Ryffel B. Anti-fibrotic and anti-inflammatory activity of the tyrosine kinase inhibitor nintedanib in experimental models of lung fibrosis. *J Pharmacol Exp Ther* 2014;349:209-220

Hilberg F, Roth GJ, Krssak M, et al. BIBF 1120: triple angiokinase inhibitor with sustained receptor blockade and good antitumor efficacy. *Cancer Res* 2008;68:4774-4782

Richeldi L, Costabel U, Selman M, et al. Efficacy of a tyrosine kinase inhibitor in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1079–1087.

Richeldi L, du Bois RM, Raghu G, et al. Efficacy and safety of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis. *N Engl J Med* 2014; 370: 2071–2082.

Richeldi L, Cottin V, du Bois RM, et al. Nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: combined evidence from the TOMORROW and INPULSIS trials. *Respir Med* 2016; 113: 74–79.

Costabel U, Inoue Y, Richeldi L, et al. Efficacy of nintedanib in idiopathic pulmonary fibrosis across prespecified subgroups in INPULSIS. *Am J Respir Crit Care Med* 2016; 193: 178–185.

Kolb M, Richeldi L, Behr J, et al. Nintedanib in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and preserved lung volume. *Thorax* 2017; 72: 340–346.

Wuyts WA, Kolb M, Stowasser S, Stansen W, Huggins JT, Raghu G. First Data on Efficacy and Safety of Nintedanib in Patients with Idiopathic Pulmonary Fibrosis and Forced Vital Capacity of  $\leq 50\%$  of Predicted Value. *Lung.* 2016 Oct;194(5):739-43. doi: 10.1007/s00408-016-9912-1.

Wuyts WA, Antoniou KM, Borensztajn K, Costabel U, Cottin V, Crestani B, Grutters JC, Maher TM, Poletti V, Richeldi L, Vancheri C, Wells AU. Combination therapy: the future of management for idiopathic pulmonary fibrosis? *Lancet Respir Med*. 2014 Nov;2(11):933-942. doi: 10.1016/S2213-2600(14)70232-2.

Vancheri C, Kreuter M, Richeldi L, Ryerson CJ, Valeyre D, Grutters JC, Wiebe S, Stansen W, Quaresma M, Stowasser S, Wuyts WA; INJOURNEY Trial Investigators. Nintedanib with Add-on Pirfenidone in Idiopathic Pulmonary Fibrosis. Results of the INJOURNEY Trial. *Am J Respir Crit Care Med*. 2018 Feb 1;197(3):356-363. doi: 10.1164/rccm.201706-1301OC.

Flaherty KR, Fell CD, Huggins JT, Nunes H, Sussman R, Valenzuela C, Petzinger U, Stauffer JL, Gilberg F, Bengus M, Wijsenbeek M. Safety of nintedanib added to pirfenidone treatment for idiopathic pulmonary fibrosis. *Eur Respir J*. 2018 Aug 2;52(2). pii: 1800230. doi: 10.1183/13993003.00230-2018. Print 2018 Aug.

Pilling D, Gomer RH. Regulatory pathways for fibrocyte differentiation. In: Bucala R, editor. *Fibrocytes: new insights into tissue repair and systemic fibroses*. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd; 2007. p. 37e60.

van den Blink B, Dillingh MR, Ginns LC, Morrison LD, Moerland M, Wijsenbeek M, Trehu EG, Bartholmai BJ, Burggraaf J. Recombinant human pentraxin-2 therapy in patients with idiopathic pulmonary fibrosis: safety, pharmacokinetics and exploratory efficacy. *Eur Respir J*. 2016 Mar;47(3):889-97. doi: 10.1183/13993003.00850-2015.

Raghu G, van den Blink B, Hamblin MJ, Brown AW, Golden JA, Ho LA, Wijsenbeek MS, Vasakova M, Pesci A, Antin-Ozerkis DE, Meyer KC, Kreuter M, Santin-Janin H, Mulder GJ, Bartholmai B, Gupta R, Richeldi L. Effect of Recombinant Human Pentraxin 2 vs Placebo on Change in Forced Vital Capacity in Patients With Idiopathic Pulmonary Fibrosis: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2018 Jun 12;319(22):2299-2307. doi: 10.1001/jama.2018.6129.

Bonnaud P, Martin G, Margetts PJ, et al. Connective tissue growth factor is crucial to inducing a profibrotic environment in "fibrosis-resistant" BALB/c mouse lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2004; 31(5):510-516.

Wang X, Wu G, Gou L, et al. A novel single-chain-Fv antibody against connective tissue growth factor attenuates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice. *Respirology* 2011; 16(3):500-7.

Eduard Gorina, Luca Richeldi, Ganesh Raghu, et al. PRAISE, a randomized, placebo-controlled, double-blind Phase 2 clinical trial of pamrevlumab (FG-3019) in IPF patients. *European Respiratory Journal* 2017 50: OA3400; DOI: 10.1183/1393003.congress-2017.OA3400 \*Phase 2 result of Pamrevlumab



## LE VASCULITI: UNA VISIONE D'INSIEME

Salvatore Corrao, Luigi Calvo, Giovanni Pistone, Irene Ruggeri, Christiano Argano

### Introduzione

Con il termine vasculite si intende un processo infiammatorio che interessa le pareti dei vasi sanguigni determinando alterazioni del flusso ematico e danno all'integrità del vaso stesso. L'infiammazione delle pareti dei vasi sanguigni, almeno durante il corso della malattia, è una caratteristica comune di tutte i tipi di vasculite. I vasi interessati dal processo infiammatorio possono essere di diverso tipo o calibro con conseguenze su uno o più organi o apparati.

Negli ultimi trent'anni sono state proposte diverse classificazioni nel tentativo di inquadrare in modo univoco le sindromi vasculitiche quali quelle suggerite dall'American College of Rheumatology (ACR) o quella della Chapel Hill Consensus Conference (CHCC). Il confronto tra la classificazione dell'ACR e quella della CHCC, ha evidenziato una discordanza significativa tra questi due sistemi.

La classificazione della CHCC ha il merito fondamentale di fornire degli indirizzi su quando sospettare una determinata patologia, dove eseguire la biopsia nell'approccio diagnostico ai singoli quadri clinici ed è basata sulla dimensione dei vasi prevalentemente colpiti dal processo infiammatorio [Fig 1]. La classificazione a cui si fa riferimento è la CHCC del 2012 [Tab 1].

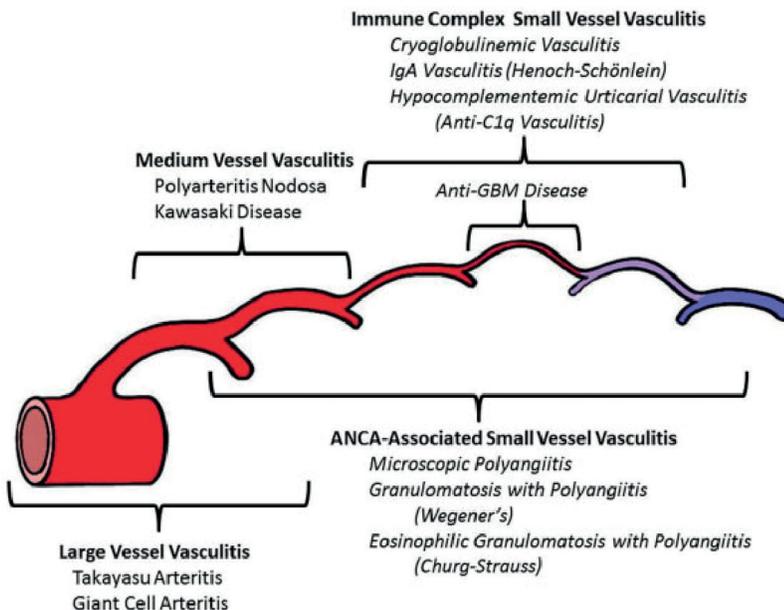


Fig. 1.

<b>Vasculiti dei vasi di grosso calibro</b>	Vasculiti che interessano più spesso le grandi arterie. Le arterie di grosso calibro sono l'aorta ed i suoi rami principali. Può essere colpita un'arteria di qualsiasi dimensione.
<b>Arterite di Takayasu</b>	Arterite, spesso granulomatosa, prevalentemente a carico dell'aorta e/o dei suoi rami principali. Nei pazienti l'insorgenza è di solito nei pazienti di età inferiore ai 50 anni.
<b>Arterite a cellule giganti</b>	Arterite, spesso granulomatosa, che colpisce di solito l'aorta e/o i suoi rami maggiori, con una predilezione per il ramo della carotide e le arterie vertebrali. Spesso coinvolge l'arteria temporale. L'insorgenza è di solito nei pazienti di età superiore ai 50 anni ed è spesso associata alla polimialgia reumatica.
<b>Vasculiti dei vasi di medio calibro</b>	Vasculite che colpisce prevalentemente le arterie di medio calibro definite come le principali arterie viscerali ed i loro rami. Arterie di qualsiasi dimensione possono essere interessate dal processo infiammatorio. Stenosi infiammatorie ed aneurismi sono comuni.
<b>Poliarterite nodosa</b>	Arterite necrotizzante delle arterie di medio o piccolo calibro senza glomerulonefrite o vasculite che interessano le arteriole, i capillari, o le venule, non associato a anticorpi citoplasmatici antineutrofilici (ANCA).
<b>Malattia di Kawasaki</b>	Arterite associata alla sindrome del linfonodo mucocutaneo che colpisce prevalentemente le arterie di piccolo e medio calibro. Le arterie coronarie sono spesso coinvolte. L'aorta e le grandi arterie possono essere coinvolte. Di solito si verifica nei neonati e nei bambini piccoli.
<b>Vasculiti dei vasi di piccolo calibro</b>	Vasculite che colpisce prevalentemente i vasi di piccolo calibro come le piccole
<b>Vasculiti ANCA associate</b>	Vasculiti necrotizzanti, con pochi o assenza di depositi immuni, che colpiscono prevalentemente i piccoli vasi (capillari, venule, arteriole e piccole arterie) associate alla positività di anti mieloperossidasi (MPO-ANCA) o anti proteinasi 3 (PR3-ANCA). Non tutti i pazienti hanno positività per ANCA.
<b>Poliangiite microscopica</b>	E'una vasculite necrotizzante, con pochi o nessun deposito immunitario, che colpisce prevalentemente i piccoli vasi (cioè capillari, venule o arteriole). Possono essere presenti arterite necrotizzante che coinvolge arterie piccole e medie. La glomerulonefrite necrotizzante è molto comune. Spesso è presente una capillarite polmonare. E' assente la flogosi granulomatosa.

<b>Poliangioite con granulatosi (Wegener)</b>	È un'inflammatione granulomatosa necrotizzante che di solito coinvolge il tratto respiratorio superiore e inferiore e colpisce prevalentemente vasi di piccole e medie dimensioni (capillari, venule, arteriole ed arterie). E' frequente la glomerulonefrite necrotizzante.
<b>Poliangioite con granulatosi eosinofila (Churg-Strauss)</b>	La poliangioite con granulatosi eosinofila è una vasculite necrotizzante predominante dei vasi di piccolo e medio calibro associata ad asma ed eosinofilia caratterizzata da un'inflammatione granulomatosa ricca di eosinofili. L'espressione degli ANCA è più frequente quando è presente la glomerulonefrite.
<b>Vasculiti dei vasi di piccolo calibro da immunocomplessi</b>	Gruppo di vasculiti caratterizzate da moderati a marcati depositi di immunoglobuline e/o complemento, che interessano prevalentemente i piccoli vasi (cioè capillari, venule, arteriole e piccole arterie). La glomerulonefrite è frequente.
<b>La malattia anti membrana basale glomerulare (anti-GBM)</b>	Vasculite che interessa i capillari glomerulari, i capillari polmonari o entrambi, caratterizzata dalla deposizione di autoanticorpi anti-membrana basale sulla membrana basale. Il coinvolgimento polmonare provoca emorragia polmonare e il coinvolgimento renale causa glomerulonefrite con necrosi e semilune.
<b>Vasculite crioglobulinemica</b>	Vasculite caratterizzata da deposito di immunocomplessi costituiti da crioglobuline a livello dei vasi di piccolo calibro (capillari, venule, arteriole) associata a presenza di crioglobuline sieriche. Spesso sono coinvolti i glomeruli, i nervi periferici e la pelle
<b>Vasculite da IgA (porpora di Henoch-Schonlein).</b>	E' una vasculite con predominante deposito di IgA1 con interessamento dei vasi di piccolo calibro (capillari, venule, arteriole). Spesso interessa la cute, il tratto gastrointestinale e frequentemente si accompagna ad artrite. La glomerulonefrite, quando presente, è indistinguibile dalla glomerulonefrite da nefropatia IgA.
<b>Vasculite orticarioide ipocomplementemica anti-C1q</b>	E'una vasculite che si accompagna ad orticaria ed ipocomplementemia con interessamento dei piccoli vasi ed è associata ad anticorpi anti C1q. La glomerulonefrite, l'artrite, la malattia polmonare ostruttiva e l'inflammatione oculare sono caratteristiche comuni.

<b>La malattia di Behcet</b>	La vasculite nella malattia di Behcet è una vasculite che si verifica in pazienti con malattia di Behcet e può interessare arterie e vene. La malattia di Behcet è caratterizzata da aftosi ricorrenti orali e genitali accompagnate da manifestazioni cutanee, oculari, articolari, gastrointestinali e del sistema nervoso centrale. Possono essere presenti vasculite dei piccoli vasi, tromboangioite, trombosi arteriosa e venosa, arterite ed aneurismi arteriosi.
<b>Sindrome di Cogan</b>	Vasculite caratterizzata da manifestazioni infiammatorie oculari che includono la cheratite interstiziale, uveite, episclerite, otite media, ipoacusia neurosensoriale, disfunzione vestibolare. Le manifestazioni vasculitiche (coinvolgenti piccole, medie o grosse arterie) possono dare aortite, aneurismi infiammatori aortici, valvulite aortica e mitralica.
<b>Vasculiti di un singolo organo</b>	Sono vasculiti di arterie e vene di qualsiasi dimensioni che interessano singoli organi senza aspetti clinici sistemici (per esempio vasculite dei piccoli vasi cutanei, vasculite testicolare, vasculite del SNC) La distribuzione di malattia all'interno dell'organo può essere diffusa o localizzata. Alcune forme isolate possono evolvere in vasculiti sistemiche.
<b>Vasculite associata a malattia sistemica</b>	Sono vasculiti associate o secondarie a malattie sistemiche quali artrite reumatoide, lupus ed altre.
<b>Vasculite associata a probabile eziologia</b>	Sono vasculiti associate ad uno specifico agente causale (ad esempio poliangerite microscopica associata a idralazina, poliartrite nodosa associata al virus dell'epatite B, vasculite crioglobulinemica associata al virus dell'epatite C, sifilide-aortite associata, vasculite del complesso immune associata a malattia del siero, vasculite associata al cancro e molti altri).

**Tab. 1.** Schema semplificato delle varie fasi previste per l'analisi Array-CGH.

## Vasculiti dei vasi di grande calibro

**L**e vasculiti dei grandi vasi sono delle vasculiti che colpiscono più spesso le grandi arterie rispetto alle altre vasculiti. Le due principali varianti sono rappresentate dall'arterite di Takayasu e dall'arterite a cellule giganti.

Le caratteristiche istopatologiche dell'arterite di Takayasu e dell'arterite a cellule giganti non sono distinguibili. Sia l'arterite di Takayasu che l'arterite a cellule giganti si presentano prevalentemente nelle donne. L'età di esordio è utilizzata per distinguere le due malattie. L'arterite di Takayasu è una malattia che colpisce prevalentemente gli individui più giovani mentre l'arterite a cellule giganti è una malattia che interessa prevalentemente le persone più anziane.

**L'arterite di Takayasu:** L'arterite di Takayasu è una arterite, spesso granulomatosa, che colpisce prevalentemente l'aorta e/o i suoi rami principali. L'insorgenza di solito si verifica prima dei 50 anni.

**L'arterite a Cellule Giganti:** L'arterite a cellule giganti è una arterite, spesso granulomatosa e di solito colpisce l'aorta e/o i suoi rami principali, con una predilezione per i rami della carotide e delle arterie vertebrali. L'esordio si verifica di solito dopo i 50 anni. Le cellule giganti sono spesso ma non sempre osservate nei campioni biotici di pazienti con arterite a cellule giganti in fase attiva. Il termine "arterite temporale" non è un'alternativa adatta per l'arterite a cellule giganti perché non tutti i pazienti hanno un coinvolgimento temporale delle arterie e altre categorie di vasculite possono influenzare le arterie temporali.

Sebbene la vasculite dei grandi vasi colpisca le arterie molto più spesso rispetto alla vasculite di qualsiasi altra categoria, in casi particolari, le grandi arterie potrebbero non essere il tipo predominante di vaso interessato, poiché per ogni grande arteria interessata possono esserci molti rami più piccoli interessati (specialmente le arterie medie). Ad esempio, alcuni studi angiografici con fluoresceina e imaging hanno dimostrato che il coinvolgimento oculare nell'arterite a cellule giganti può influenzare non solo le arterie oftalmiche, ma anche le arterie retiniche e le arterie ciliari multiple (arterie medie) e anche i rami più piccoli delle arterie ciliari e retiniche (piccole arterie). Secondo queste evidenze la lesione delle grandi arterie può non essere la causa di morbidità più significativa, come per esempio nel caso della cecità che è dovuta a lesioni dei rami più piccoli delle arterie oftalmiche.

---

## Vasculiti dei vasi di medio calibro

**L**e vasculiti dei vasi medi sono delle vasculiti che colpiscono prevalentemente le arterie medie, definite come le principali arterie viscerali ed i loro rami. La Poliarterite nodosa e la Malattia di Kawasaki sono le principali varianti. Nelle vasculiti dei vasi medi l'inizio dell'infiammazione è più acuto e più necrotizzante rispetto all'insorgenza dell'infiammazione nelle vasculiti dei grandi vasi.

**Poliarterite nodosa:** La poliarterite nodosa è una arterite necrotizzante delle piccole o medie arterie, non associata a anticorpi citoplasmatici anti-neutrofili (ANCA), senza glomerulonefrite o interessamento delle arteriole, dei capillari o delle venule. Sebbene il ruolo di ANCA nella patogenesi della vasculite non sia stato completamente chiarito, molti studi hanno confermato che ANCA è un marker affidabile per una categoria clinicamente e patologicamente distinta della vasculite dei piccoli vasi, e che è tipicamente assente in pazienti con poliarterite nodosa. Questo è uno strumento utile poiché la vasculite ANCA associata e la poliarterite nodosa possono presentare arterite necrotizzante delle piccole e medie arterie clinicamente e patologicamente indistinguibili.

**Malattia di Kawasaki:** La Malattia di Kawasaki è un tipo di arterite associata alla sindrome del linfonodo mucocutaneo che colpisce prevalentemente le piccole e medie arterie. Le arterie coronarie sono spesso coinvolte; l'aorta e grandi arterie possono essere coinvolti. La Malattia di Kawasaki di solito si verifica nei neonati e nei bambini piccoli.

---

### Vasculiti dei vasi di piccolo calibro

**L**e vasculiti dei piccoli vasi sono delle vasculiti che colpiscono prevalentemente i piccoli vasi ed includono le piccole arterie intraparenchimali, le arteriole, i capillari e le venule. Possono essere colpite anche le arterie e le vene di dimensione media. Tutti i vasi intraparenchimali sono piccoli vasi, ad eccezione dei primi rami penetranti delle arterie medie.

**Vasculiti ANCA associate:** Le vasculiti ANCA associate sono vasculiti necrotizzanti, con pochi o assenza di depositi immuni, che colpiscono prevalentemente i piccoli vasi (capillari, venule, arteriole e piccole arterie) associate alla positività di anti-mieloperossidasi (MPO-ANCA) o anti-proteinasi 3 (PR3-ANCA). Non tutti i pazienti sono ANCA positivi. La vasculite ANCA negativa rappresenta un analogo del lupus sieronegativo o dell'artrite reumatoide sieronegativa nella misura in cui questa definizione viene adoperata quando il paziente soddisfa la definizione di vasculite ANCA associata ma i test sierologici per ANCA risultano negativi.

Il piccolo numero o la mancanza di depositi immunitari nelle pareti dei vasi che è caratteristico delle vasculiti ANCA associate differisce dalla deposizione immunitaria, da moderata a marcata del complesso immunitario, della parete vascolare che è caratteristica del vasculiti dei vasi di piccolo calibro.

**Poliangioite microscopica:** È una vasculite necrotizzante, con pochi o nessun deposito immunitario, che colpisce prevalentemente i piccoli vasi (cioè capillari, venule o arteriole). Possono essere presenti arterite necrotizzante

che coinvolge le arterie piccole e medie. La glomerulonefrite necrotizzante è molto comune. Spesso è presente una capillarite polmonare. E' assente la flogosi granulomatosa.

**Poliangioite con granulomatosi (Wegener):** La poliangioite con granulomatosi è un'inflammazione granulomatosa necrotizzante che di solito coinvolge il tratto respiratorio superiore e inferiore e colpisce prevalentemente vasi di piccole e medie dimensioni (capillari, venule, arteriole ed arterie). E' frequente la glomerulonefrite necrotizzante. Sono frequenti la vasculite oculare e la capillarite polmonare con emorragia. Possono verificarsi quadri di malattia limitati al tratto respiratorio superiore o inferiore o all'occhio. Questi pazienti potrebbero non avere evidenza di vasculite sistemica, ma quando mostrano alterazioni cliniche e patologiche identiche a quelle osservate nel coinvolgimento del tratto respiratorio della poliangioite con granulomatosi, specialmente se sono ANCA positivi, dovrebbero essere inclusi nella categoria poliangioite con granulomatosi

**Poliangioite con granulomatosi eosinofila (Churg-Strauss):** La poliangioite con granulomatosi eosinofila è una vasculite necrotizzante predominante dei vasi di piccolo e medio calibro associata ad asma ed eosinofilia caratterizzata da un'inflammazione granulomatosa ricca di eosinofili. I polipi nasali sono comuni. L'espressione degli ANCA è più frequente quando è presente la glomerulonefrite.

Possono verificarsi espressioni limitate della malattia limitate al tratto respiratorio superiore o inferiore. Molti pazienti non hanno glomerulonefrite. È interessante notare che solo il 25% dei pazienti con poliangioite con granulomatosi eosinofila che non hanno malattia renale sono ANCA positivi, mentre il 75% con malattia renale e il 100% con glomerulonefrite necrotizzante hanno positività per ANCA.

---

### Vasculiti dei vasi di piccolo calibro da immunocomplessi

**C**on questo termine si identificano un gruppo di vasculiti caratterizzate da moderati a marcati depositi di immunoglobuline e/o complemento, che interessano prevalentemente i piccoli vasi (cioè capillari, venule, arteriole e piccole arterie). La glomerulonefrite è frequente. Il coinvolgimento arterioso è molto meno frequente rispetto alle vasculiti ANCA associate. Rientrano in questo gruppo la malattia anti membrana basale glomerulare, la vasculite crioglobulinemica, la vasculite da IgA (porpora di Henoch-Schonlein) e la vasculite orticariode ipocomplementemica.

**La malattia anti membrana basale glomerulare (anti-GBM):** La malattia anti-GBM è una vasculite che interessa i capillari glomerulari, i capil-

lari polmonari o entrambi, caratterizzata dalla deposizione di autoanticorpi anti-membrana basale sulla membrana basale. Il coinvolgimento polmonare provoca emorragia polmonare e il coinvolgimento renale causa glomerulonefrite con necrosi e semilune. Con il termine sindrome di Goodpasture si identifica l'espressione combinata sia polmonare che renale della malattia anti-GBM. La malattia anti-GBM è basata sulla formazione in situ di immunocomplessi composti da autoanticorpi legati alla membrana basale nei capillari alveolari glomerulari e polmonari. Sebbene le lesioni emorragiche polmonari spesso non presentino infiltrazione leucocitaria evidente, la malattia anti-GBM è una vasculite perché i meccanismi infiammatori cellulari e bioimmorali sono responsabili della lesione.

**Vasculite crioglobulinemica:** È una vasculite con deposito da immunocomplessi costituiti da crioglobuline a livello dei vasi di piccolo calibro (capillari, venule, arteriole) associata a presenza di crioglobuline sieriche. Spesso sono coinvolti i glomeruli, i nervi periferici e la pelle. Il termine "idiopatico" o "essenziale" può essere usato come prefisso per indicare che l'eziologia della vasculite crioglobulinemica è sconosciuta. Come con altre vasculiti, quando si conosce l'eziologia, quest'ultima può essere indicata nella diagnosi, come per esempio la vasculite crioglobulinemica associata all'epatite C.

**Vasculite da IgA (porpora di Henoch-Schonlein):** È una vasculite con predominante deposito di IgA con interessamento dei vasi di piccolo calibro (capillari, venule, arteriole). Spesso interessa la cute, il tratto gastrointestinale e frequentemente si accompagna ad artrite. Qualsiasi segmento del tratto gastrointestinale può essere colpito, ma il coinvolgimento dell'intestino tenue è più comune. La glomerulonefrite, quando presente, è indistinguibile dalla glomerulonefrite da nefropatia IgA.

Come con altre vasculiti, la vasculite da IgA può presentarsi come una vasculite ad interessamento di un singolo organo. La vasculite da IgA cutanea isolata è analoga alla IgA senza malattia sistemica. I pazienti con IgA limitata ad interessamento renale o cutaneo possono successivamente sviluppare una vasculite da IgA di tipo sistemico. La vasculite da IgA può essere associata e probabilmente causata da altre malattie, come la malattia del fegato, la malattia infiammatoria intestinale e la spondilite anchilosante. L'insorgenza di una vasculite IgA sintomatica è spesso associata ad una infezione del tratto respiratorio superiore o ad una infezione gastrointestinale.

**Vasculite orticarioide ipocomplementemica anti-C1q:** È una vasculite che si accompagna ad orticaria ed ipocomplementemia con interessamento dei piccoli vasi ed è associata ad anticorpi anti C1q. La glomerulonefrite, l'artrite, la malattia polmonare ostruttiva e l'infiammazione oculare sono caratteristiche comuni. Gli anticorpi anti-C1q sono uno dei marker distintivi

della patologia. L'ipocomplementemia e, in misura minore, l'orticaria si verificano anche in altre vasculiti dei piccoli vasi da immunocomplessi, come la vasculite lupica.

La Malattia Di Behcet e la Sindrome di Cogan sono due tipi di vasculite senza un predominante tipo di vaso coinvolto. Infatti possono essere colpiti arterie, vene e capillari di qualsiasi dimensione (piccola, media e grande).

**La malattia di Behcet:** La vasculite nella malattia di Behcet è una vasculite che si verifica in pazienti con BD e può interessare arterie e vene. La malattia di Behcet è caratterizzata da aftosi ricorrenti orali e genitali accompagnate da manifestazioni cutanee, oculari, articolari, gastrointestinali e del sistema nervoso centrale. Possono essere presenti vasculite dei piccoli vasi, tromboangiite, trombosi arteriose e venose, arterite ed aneurismi arteriosi.

**Sindrome di Cogan:** La vasculite nella sindrome di Cogan è una vasculite caratterizzata da manifestazioni infiammatorie oculari che includono la cheratite interstiziale, uveite, episclerite, otite media, ipoacusia neurosensoriale, disfunzione vestibolare. Le manifestazioni vasculitiche (coinvolgenti piccole, medie o grosse arterie) possono dare aortite, aneurismi infiammatori aortici, valvulite aortica e mitralica. Il bersaglio vascolare oculare primario per l'infiammazione è rappresentato dai piccoli vasi negli strati vascolarizzati del globo anteriore, cioè dall'esterno verso l'interno: congiuntiva (congiuntivite), episclera (episclerite), sclera (sclerite) e uvea (uveite). I piccoli vasi sanguigni infiammati invadono lo stroma corneale normalmente avascolarizzata adiacente e causano la cheratite interstiziale, caratteristica distintiva della sindrome di Cogan.

---

## Vasculiti di un singolo organo

**S**ono vasculiti di arterie e vene di qualsiasi dimensioni che interessano singoli organi senza aspetti clinici sistemici (per esempio vasculite dei piccoli vasi cutanei, vasculite testicolare, vasculite del sistema nervoso centrale) La distribuzione della malattia all'interno dell'organo può essere diffusa o localizzata. Alcune forme isolate possono evolvere in vasculiti sistemiche. Esiste una forma distintiva di vasculite di un singolo organo del sistema nervoso centrale (vasculite primaria del sistema nervoso centrale) che non è un'espressione isolata di una vasculite sistemica. La diagnosi di vasculite primaria del sistema nervoso centrale richiede che la vasculite del sistema nervoso centrale non sia una componente di una vasculite sistemica (quale per esempio arterite a cellule giganti, malattia di Behcet, poliangiote microscopica, poliangiote con granulomatosi di Wegener, poliangiote con granulomatosi di Churg-Strauss), non sia causata da una infezione (ad

esempio, sifilide), o non sia associata ad una malattia sistemica quale ad esempio il lupus, la sarcoidosi). L'aortite isolata può anche essere associata a un'infezione (ad esempio la sifilide) o ad una malattia sistemica. Ad esempio, alcuni pazienti con malattia sistemica correlata a IgG4 sviluppano aortite come unica manifestazione vasculitica.

---

### Vasculite associata a malattia sistemica

Sono vasculiti associate o secondarie a malattie sistemiche quali artrite reumatoide, lupus ed altre.

---

### Vasculite associata a probabile eziologia

**S**ono vasculiti associate ad uno specifico agente causale (ad esempio poliangerite microscopica associata a idralazina, poliartrite nodosa associata al virus dell'epatite B, vasculite crioglobulinemica associata al virus dell'epatite C, sifilide-aortite associata, vasculite del complesso immune associata a malattia del siero, vasculite associata al cancro e molte altre). Le neoplasie ematologiche e solide, i disordini linfoproliferativi delle cellule B clonali e la sindrome mielodisplastica possono essere associati a vasculite.

---

### Conclusioni

**L**e vasculiti sono un quadro eterogeneo di condizioni che corrispondono a quadri clinici sindromici in cui l'abilità e l'esperienza del medico sono fondamentali per un approccio alla complessità clinica che li caratterizza. Spesso i quadri sono confondenti e il laboratorio di immunologia solo un supporto. Bisogna ricordare il ruolo comunque importante del servizio di anatomia patologica che deve però prevedere figure altamente specializzate in questo settore in grado di interagire con il clinico per il corretto inquadramento diagnostico del quadro sindromico. Un capitolo a parte è la terapia che prevede oltre l'uso del cortisone anche altri farmaci immunosoppressivi in attesa di nuove terapie che tra qualche anno permetteranno di dare sempre migliori risposte migliorando la qualità e l'aspettativa di vita dei pazienti affetti da vasculite.

***Conflitti di interesse.** Gli autori Salvatore Corrao, Luigi Calvo, Giovanni Pistone, Irene Ruggeri, Christiano Argano dichiarano di non avere alcun conflitto di interesse.*

## **Bibliografia**

Jennette JC, Falk RJ, Andrassy K, Bacon PA, Churg J, Gross WL, Hagen EC, Hoffman GS, Hunder GG, Kallenberg CGM, McCluskey RT, Sinico RA, Rees AJ, van Es LA, Waldherr R, Wiik A. Nomenclature of systemic vasculitides: The proposal of an international consensus conference. *Arthritis Rheum.* 1994; 37:187–192.

Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, Flores-Suarez LF, Gross WL, Guillevin L, Hagen EC, Hoffman GS, Jayne DR, Kallenberg CGM, Lamprecht P, Langford CA, Luqmani RA, Mahr AD, Matteson EL, Merkel PA, Ozen S, Pusey CD, Rasmussen N, Rees AJ, Scott DGI, Specks U, Stone JH, Takahashi K, Watts RA. 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013; 65:1–11.

Guillevin L, Lhote F, Amouroux J, Gherardi R, Callard P, Casassus P. Antineutrophil cytoplasmic antibodies, abnormal angiograms and pathological findings in polyarteritis nodosa and Churg–Strauss syndrome: indications for the classification of vasculitides of the polyarteritis Nodosa Group. *Br J Rheumatol.* 1996; 35:958–64.

Jennette JC, Falk RJ, Hu P, Xiao H. Pathogenesis of Anti-neutrophil Cytoplasmic Autoantibody Associated Small Vessel Vasculitis. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2013; 8:139–60.

Lyons PA, Rayner TF, Trivedi S, Holle JU, Watts RA, Jayne DR, Baslund B, Brenchley P, Bruchfeld A, Chaudhry AN, Cohen Tervaert JW, Deloukas P, Feighery C, Gross WL, Guillevin L, Gunnarsson I, Harper L, Hrušková Z, Little MA, Martorana D, Neumann T, Ohlsson S, Padmanabhan S, Pusey CD, Salama AD, Sanders JS, Savage CO, Segelmark M, Stegeman CA, Tesař V, Vaglio A, Wiczorek S, Wilde B, Zwerina J, Rees AJ, Clayton DG, Smith KG. Genetically distinct subsets within ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med.* 2012; 367:214–23.

Lionaki S, Blyth ER, Hogan SL, Hu Y, Senior JBA, Jennette CE, Nachman PH, Jennette JC, Falk RJ. Classification of antineutrophil cytoplasmic autoantibody vasculitides: The role of antineutrophil cytoplasmic autoantibody specificity for myeloperoxidase or proteinase 3 in disease recognition and prognosis. *Arthritis Rheum.* 2012; 64:3452–62.

Falk RJ, Gross WL, Guillevin L, Hoffman G, Jayne DRW, Jennette JC, et al. “Granulomatosis with polyangiitis (Wegener’s)”: an alternative name for “Wegener’s granulomatosis”. A joint proposal of the American College of Rheumatology, the American Society of Nephrology, and the European League Against Rheumatism. *Ann Rheum Dis.* 2011; 70:704. [PubMed: 21372195] *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22:587–8. [PubMed: 21372208] *Arth Rheum.* 2011; 63:863–4.

Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, Tosoni C, Bottero P, Sabadini E, et al. Renal

involvement in Churg-Strauss syndrome. *Am J Kidney Dis.* 2006; 47:770–9.

Suzuki H, Kirylyuk K, Novak J, Moldoveanu Z, Herr AB, Renfrow MB, et al. The pathophysiology of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2011; 22:1795–803.

TAN JA, DEGHAN N, CHEN W, XIE H, ESDAILE JM, AVINA-ZUBIETA JA: Mortality in ANCA-associated vasculitis: a meta-analysis of observational studies. *Ann Rheum Dis* 2017; 76: 1566-74.

MACKIE SL, DASGUPTA B: Vasculitis syndromes: Dealing with increased vascular risk and mortality in GCA. *Nat Rev Rheumatol* 2014; 10: 264-5.

LITTLE MA, NIGHTINGALE P, VERBURGH CA et al.: Early mortality in systemic vasculitis: relative contribution of adverse events and active vasculitis. *Ann Rheum Dis* 2010; 69: 1036-43.

## LE EPILESSIE RARE DELL'ADULTO

Vito Sofia, Loretta Giuliano

### Introduzione

**L**e epilessie rare sono un gruppo di patologie che hanno tipicamente un esordio in età infantile e sono spesso associate alla presenza di altri deficit neurologici, comorbidità psichiatriche e complicanze sistemiche. In quanto rare, solo per alcune di esse esistono delle affidabili stime epidemiologiche. Le epilessie rare dell'adulto sono dunque in genere un continuum clinico dall'infanzia all'età adulta e solo raramente esordiscono nel soggetto adulto. Esistono infatti molte sindromi epilettiche rare che hanno un esordio nell'infanzia e che possono quindi essere poco conosciute dai neurologi ed epilettologi dell'età adulta, con il rischio di una mancata diagnosi e di una conseguente inappropriata gestione (1). Appare dunque evidente come la "transizione" dei pazienti con epilessie rare dall'infanzia o adolescenza nell'età adulta sia una sfida sia per i pazienti che per gli operatori sanitari coinvolti nella cura del paziente, dovuta alla varietà di epilessie esistenti e alle multiple comorbidità (2). Infatti, anche l'utilizzo di approcci terapeutici validati e frequentemente utilizzati in età infantile, come la dieta chetogena, diventano nell'adulto affetto da un'epilessia rara, un'opzione difficile da praticare. Inoltre, la frequente presenza di comorbidità, tra cui la disabilità intellettiva e le comorbidità psichiatriche, che sono globalmente gestite dal pediatra o dal neuropsichiatra infantile, richiedono in età adulta una gestione multidisciplinare da parte di diverse figure specialistiche. Al fine di una organizzazione didattica di tali patologie abbiamo scelto di seguire la classificazione ILAE delle epilessie del 2017 (3) che ha suddiviso le epilessie in relazione alla loro eziologia.

### Epilessie da cause genetiche

#### Epilessia da mutazione di un singolo gene

*Deficit di GLUT-1 (Trasportatore del Glucosio Tipo 1)*

**L**a *sindrome da deficit di GLUT1* è una patologia causata da un alterato trasporto del glucosio al cervello per mutazioni nel gene SLC2A1. Il trasporto del glucosio attraverso la barriera ematoencefalica è infatti garantito dal solo Trasportatore del Glucosio Tipo 1 a livello delle cellule endoteliali. Dunque una sua alterazione determina tipicamente la presenza di ipoglicorrachia con normali livelli di glicemia. La maggior parte delle mu-

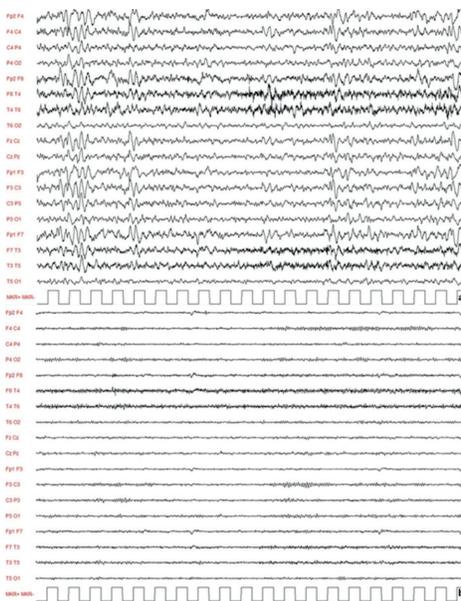
tazioni del gene SLC2A1 sono mutazioni de novo ma è stata anche descritta una trasmissione autosomica dominante o recessiva (4–6).

La sindrome da deficit di GLUT1 è caratterizzata dalla presenza di diverse manifestazioni cliniche con differenti sintomi neurologici, in particolare microcefalia acquisita, disordini del movimento episodici ed epilessia farmacoresistente (7–9).

Esiste un'ampia variabilità nella presentazione clinica di questa patologia, che dovrebbe essere sospettata, per esempio, in pazienti con discinesie indotte dall'esercizio o in pazienti con assenze ad esordio precoce farmacoresistenti. Sono stati anche descritti casi di debolezza muscolare periodica ad esordio in età adulta (10). L'epilessia è comunque il sintomo di presentazione più frequente.

I pazienti possono presentare diversi tipi di crisi anche contemporaneamente: crisi generalizzate tonico-cloniche, crisi di assenza, crisi focali, crisi miocloniche, crisi con caduta, spasmi infantili (11). Per tale variabilità fenotipica, una percentuale significativa di pazienti riceve spesso una diagnosi errata, tra cui le più frequenti sono l'epilessia tipo assenze dell'infanzia e l'epilessia mioclonico-tonica. Molti pazienti con diagnosi di epilessia generalizzata farmacoresistente, ad esordio precoce, dovrebbero dunque essere rivalutati alla ricerca di una mutazione del gene SCL2A1.

Il quadro elettroencefalografico è variabile tra diversi pazienti e nello stesso paziente in momenti diversi della sua storia clinica, con cambiamenti anche nel corso della giornata, dipendenti dall'introito di glucosio (10) (**Fig. 1**).



**Fig. 1.** EEG effettuato prima (a) e dopo (b) il pasto in un paziente con sindrome da deficit di GLUT-1.

Il deficit di GLUT-1 è una patologia curabile, per tale ragione è di particolare importanza essere in grado di riconoscerla precocemente al fine di instaurare un trattamento.

Il trattamento di elezione è rappresentato dalla dieta chetogena (12). Purtroppo tale opzione terapeutica è spesso difficile per i pazienti, soprattutto in età adulta, e si rende spesso necessario il ricorso a terapie alternative, soprattutto per l'epilessia.

Diversi farmaci antiepilettici possono essere utilizzati, seppur con scarso beneficio, nei pazienti affetti da questa patologia, ma è stato dimostrato come l'utilizzo di fenobarbital, acido valproico e benzodiazepine possa esacerbare le crisi in pazienti con sindrome da deficit di GLUT-1(13–15).

Dunque, nonostante il deficit di GLUT-1 sia una malattia neurologica ad esordio precoce, in genere entro il primo anno di età, molti pazienti con esordio tardivo dei sintomi o con errata diagnosi di epilessia generalizzata idiopatica potrebbero beneficiare di una rivalutazione, con possibili importanti implicazioni terapeutiche.

### **Mutazione del gene protocaderina 19 (PCDH19)**

*La mutazione del gene protocaderina 19 (PCDH19)* è una causa ormai ampiamente riconosciuta di epilessia ad esordio precoce in soggetti di sesso femminile. Tale patologia si associa inoltre, frequentemente alla presenza di disabilità intellettiva e disturbi psichiatrici con tratti autistici. Presenta una particolare modalità di trasmissione in quanto, pur essendo X-linked, soltanto le donne presentano le tipiche caratteristiche cliniche mentre i maschi, non affetti, la trasmettono. Una possibile spiegazione è data dalla possibile patogenicità della sola combinazione di cellule PCDH19 positive e negative, come dimostrato dalla descrizione di maschi affetti con mosaicismo (16, 17). Le manifestazioni cliniche sono piuttosto eterogenee ma la caratteristica principale è rappresentata dalla presenza di crisi ad esordio precoce, generalmente in cluster, ad insorgenza durante febbre, spesso caratterizzate da paura. Il fenotipo varia però da un'epilessia non invalidante ad un quadro conclamato di encefalopatia epilettica. Spesso nel corso degli anni, durante l'adolescenza, le crisi tendono a ridursi in frequenza e a non presentarsi più in corso di febbre. Per tale motivo, la diagnosi in età adulta diventa più difficile ed in tali pazienti le comorbidità cognitive e psichiatriche diventano spesso il problema principale (18).

Le diagnosi differenziali più importanti sono le seguenti: epilessia focale, sindrome di Dravet, epilessia generalizzata con crisi febbrili plus (GEFS+). L'EEG intercritico mostra spesso un rallentamento dell'attività di fondo e la

presenza di anomalie epilettiformi multifocali. L'EEG critico mostra frequentemente anomalie a partenza dal lobo temporale (19).

Il trattamento si avvale dei comuni farmaci antiepilettici ma è stata dimostrata una buona efficacia con l'utilizzo di fenitoina, topiramato, bromidi, acido valproico e clobazam (20, 21).

### Malattie mitocondriali

*Le malattie mitocondriali* sono un gruppo di malattie multisistemiche causate da mutazioni del DNA mitocondriale (mtDNA). I mitocondri sono la maggiore fonte di ATP delle cellule ed infatti è comune a tutte le malattie mitocondriali la vulnerabilità di tessuti altamente dipendenti da energia come i muscoli e il cervello (22). Sono delle malattie rare che si presentano in circa 1:4.300 della popolazione generale (23).

Mutazioni del mtDNA possono presentarsi lungo tutto il corso della vita, anche in età adulta con alterazioni genetiche autosomiche dominanti, recessive, X-linked (24).

Esistono delle differenze tra le malattie mitocondriali che si manifestano nel bambino e quelle nel giovane adulto. Negli adulti con malattie mitocondriali è in genere presente declino cognitivo, emicrania ed epilessia. Inoltre, nei pazienti adulti il tipo di epilessia raramente è indicativo del genotipo sottostante, in quanto spesso non è riconoscibile un fenotipo clinico tipico di una sindrome ben definita, a differenza di quanto si riscontra nei bambini. Altre differenze riguardano inoltre la frequenza, il tipo di crisi ed il loro outcome (25).

Alcune mutazioni però, anche nell'adulto, sono tipiche di specifiche sindromi, tra cui le più comuni sono la MELAS (Encefalopatia Mitocondriale, Acidosi Lattica ed episodi Stroke-like) e la MERRF (Epilessia Mioclonica con Fibre Rosse Raggiate).

*La MELAS* è una malattia multisistemica con diverse manifestazioni cliniche: ripetuti episodi di encefalopatia e sintomi stroke-like, crisi focali a partenza dal lobo parietale o occipitale e talora stati di male generalizzati, deterioramento cognitivo, miopatia, cefalea, sordità, diabete e bassa statura. L'EEG non è patognomonico ma mostra in genere un rallentamento dell'attività di fondo e la presenza di anomalie epilettiformi sia focali che generalizzate (26). Il trattamento è sintomatico ma alcuni studi hanno dimostrato che la l-arginina può ridurre gli episodi stroke-like (27).

La MERRF si caratterizza per la presenza di crisi generalizzate, mioclono e atassia ad esordio variabile, associata a mutazioni puntiformi del mtDNA (28). L'EEG mostra in genere un rallentamento del ritmo di fondo con anom-

alie epilettiformi generalizzate e talora una risposta fotoparossistica alla stimolazione luminosa intermittente (29).

Altre rare malattie mitocondriali associate ad epilessia nell'adulto sono quelle correlate a mutazioni del gene POLG (30). In genere i pazienti non presentano un fenotipo specifico ma piuttosto un continuum di sintomi clinici, dalla malattia di Alpers (polidistrofia infantile progressiva) ad una sindrome miopatica dell'adulto. In tali forme, l'epilessia è molto frequente anche nei pazienti adulti (30).

Il trattamento dei pazienti con malattie mitocondriali è prevalentemente sintomatico e dovrebbe coinvolgere, soprattutto nell'adulto, un team multidisciplinare. Il trattamento delle crisi epilettiche si avvale dei comuni antiepilettici, tra cui raccomandati sono il levetiracetam, la lamotrigina, il gabapentin e la lacosamide, con eccezione dei farmaci antiepilettici noti per avere un effetto tossico sui mitocondri. In particolare l'acido valproico è il farmaco maggiormente implicato e dovrebbe essere in ogni caso evitato in pazienti con malattie mitocondriali per i possibili effetti collaterali fatali o per un possibile peggioramento delle crisi (25).

---

## Cromosomopatie

### Sindrome di Down

**L**a *sindrome di Down* è la causa genetica più frequente di disabilità intellettiva (1 su 730 nati vivi) dovuta alla presenza di una copia extra del cromosoma 21. I pazienti con sindrome di Down presentano in genere le seguenti caratteristiche cliniche: multipli dismorfismi, ipotonia, disabilità intellettiva e disturbi comportamentali, epilessia e possibile coinvolgimento multisistemico con malformazioni cardiache congenite, alterazioni endocrine, disturbi oculari e sordità (31).

La prevalenza di epilessia in pazienti con sindrome di Down varia dal 1 al 13% con una tipica distribuzione trifasica nel corso della vita: una forma dell'infanzia, una dell'età adulta precoce ed una distinta entità nei pazienti con più di 50 anni di età. Nei pazienti adulti le crisi focali sono le più frequenti mentre le crisi generalizzate si distribuiscono lungo tutto il corso della vita (32).

Una più lunga aspettativa di vita ha portato al riconoscimento di una maggiore incidenza di malattia di Alzheimer e crisi in pazienti anziani con sindrome di Down ed al riconoscimento di una entità nosologica definita "Epilessia mioclonica senile" (33, 34).

## Sindromi del cromosoma 14 e 20 ad anello

*La sindrome del cromosoma 14 ad anello* è una sindrome cromosomica rara dovuta ad un riarrangiamento ad anello di un cromosoma 14, in genere associato a delezioni di misura variabile del materiale genetico. Si caratterizza per epilessia farmaco-resistente ad esordio precoce, disabilità intellettiva, disordini dello spettro autistico, dismorfismi facciali tipici e anomalie retiniche. Le crisi sono sia generalizzate tonico-cloniche, miocloniche o toniche che focali ad origine dal lobo temporale o frontale, in genere al risveglio o all'addormentamento. Frequente lo stato epilettico. Le crisi inizialmente frequenti si riducono nel tempo per migliorare durante l'adolescenza. L'EEG è caratterizzato da attività di fondo lenta e destrutturata sia in veglia che in sonno con onde lente e asincrone sulle regioni frontali o posteriori e punte-onda sulle regioni occipitali (35, 36).

*La sindrome del cromosoma 20 ad anello* è una rara sindrome cromosomica caratterizzata da epilessia ad esordio precoce farmaco-resistente, spesso accompagnata da deterioramento cognitivo e disturbi comportamentali. L'epilessia si caratterizza per la presenza di crisi focali motorie, spesso durante sonno, o crisi discognitive con frequente evoluzione verso un'encefalopatia epilettica con stato epilettico non convulsivo. Gli stati non convulsivi sono una caratteristica tipica della sindrome e sono caratterizzati da episodi confusionali di lunga durata con riduzione della coscienza ad andamento fluttuante. Frequenti e tipiche, nei pazienti con cromosoma 20 ad anello, le crisi con paura associate ad allucinazioni terrifiche (37, 38). Riconosciuta inoltre l'eterogeneità delle crisi durante il sonno: crisi focali a partenza dal lobo frontale, temporale, occipitale e parietale e stati di male non convulsivo (39). Nonostante la grande variabilità delle manifestazioni cliniche, il quadro EEG è piuttosto tipico: l'EEG critico è caratterizzato da onde theta ritmiche prevalenti sulle regioni fronto-temporali, non modificate dall'apertura degli occhi o dall'uso di benzodiazepine; l'EEG intercritico è invece caratterizzato da diffuso rallentamento dell'attività di fondo con onde delta e punte-onda prevalenti sulle regioni frontali (40). La RM encefalo è solitamente normale. La diagnosi è possibile mediante l'analisi del cariotipo (**Fig. 2**) con un'alta conta cellulare perché molti pazienti presentano un quadro di mosaicismo. Entrambe queste due entità cliniche sono accomunate dalla presenza di una elevata eterogeneità nella presentazione clinica, con conseguenti importanti difficoltà diagnostiche, soprattutto quando il paziente viene valutato per la prima volta in età adulta.

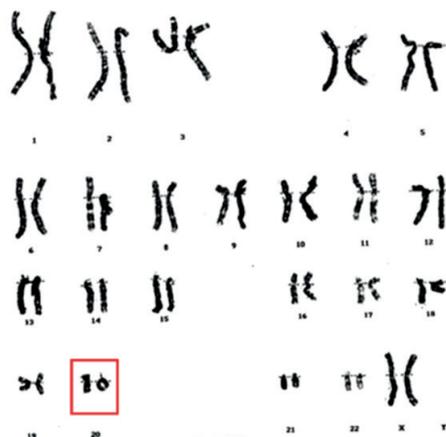


Fig. 2. Cariotipo di una sindrome del cromosoma 20 ad anello.

### Sindrome InvDup(15)

La sindrome *InvDup(15)* o duplicazione invertita del cromosoma 15, è una delle più comuni anomalie cromosomiche associate ad epilessia, caratterizzata da ipotonia precoce, ritardo nello sviluppo psicomotorio, disabilità intellettiva e disturbi dello spettro autistico. I dismorfismi sono lievi e non presenti in tutti i pazienti. Le crisi sono frequenti e molto eterogenee, con esordio tra i 6 mesi e i 9 anni di vita. Sono presenti crisi generalizzate tonico-cloniche, crisi focali, crisi miocloniche, crisi atoniche, crisi con assenze atipiche con variabilità inter ed intra-individuale (41, 42). È stata descritta una forma meno severa, ad esordio in età adulta con crisi di assenza e cadute del capo e crisi generalizzate tonico-cloniche (43).

L'EEG è tipicamente alterato con parossismi generalizzati di punta e poli-punta-onda.

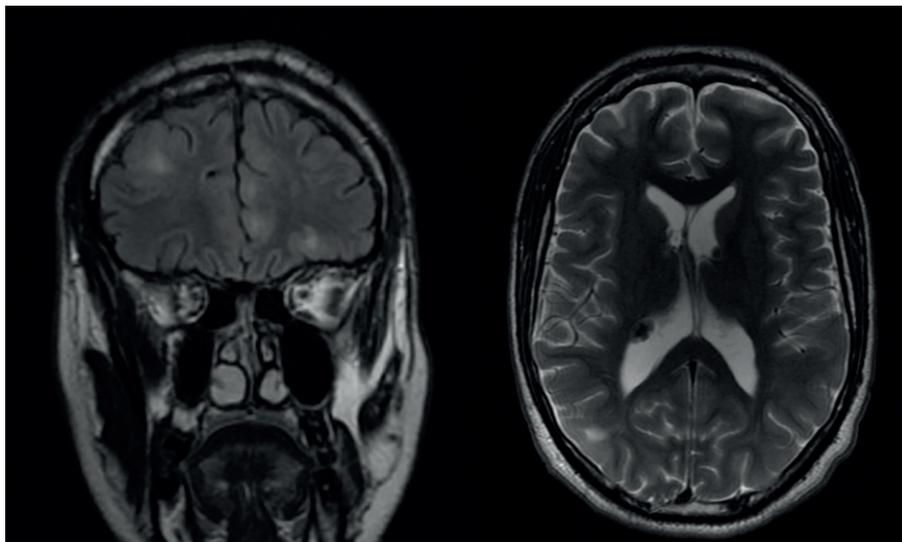
La diagnosi di *InvDup(15)* si ottiene mediante citogenetica standard e FISH; anche lo studio dei microsatelliti dei genitori e l'analisi della metilazione del DNA del probando si utilizzano per stabilire la modalità di trasmissione (44). Il trattamento delle crisi è variabile: l'acido valproico, la lamotrigina, il levetiracetam e il topiramato vengono in genere utilizzati per le crisi generalizzate e la carbamazepina in associazione ad altri antiepilettici per le crisi focali, con risultati diversi nei vari pazienti a causa del variabile grado di farmacoresistenza (42).

## Sindromi neurocutanee

**L**e sindromi neurocutanee sono un gruppo di disordini congeniti caratterizzati da anomalie dello sviluppo del neuroectoderma e talora del mesoderma, con tipico coinvolgimento della pelle, degli occhi e del sistema nervoso centrale. Le sindromi neurocutanee che più spesso sono associate alla presenza di epilessia nell'adulto sono la Sclerosi Tuberosa e la sindrome di Sturge-Weber (45, 46).

### Sclerosi tuberosa

La sclerosi tuberosa (TSC) è la seconda più comune sindrome neurocutanea dopo la neurofibromatosi. È una malattia genetica con interessamento multisistemico e prevalente coinvolgimento cutaneo e cerebrale. Attualmente circa 6.000 persone nel mondo ne sono affette. Nell'85% dei casi viene riscontrata una mutazione dei geni TSC1 e TSC2 con variabilità fenotipica nell'ambito della stessa mutazione. Tali geni producono componenti coinvolti nella cascata mTOR (mammalian target of rapamycin). Il 90% dei pazienti presenta crisi epilettiche nel corso della loro vita e per il 70% l'esordio si verifica nel primo anno di vita. Circa 1/3 dei pazienti con TSC presenta spasmi infantili e i 2/3 svilupperà un'epilessia farmaco-resistente. Inoltre circa una metà dei pazienti presenta disabilità intellettiva, ed altri presentano disordini dello spettro autistico e disturbo ossessivo compulsivo (45-47). L'esordio dell'epilessia durante l'adolescenza o l'età adulta è piuttosto raro ma viene riportato. Alcuni soggetti con TSC possono nel tempo diventare liberi da crisi e sospendere la terapia antiepilettica. Dunque i quadri di malattia nel paziente adulto con TSC possono essere molto diversi. In particolare, la disabilità intellettiva e le crisi tendono a persistere, le conseguenze del coinvolgimento renale e polmonare diventano più importanti, l'impatto estetico e sociale delle lesioni cutanee, in particolare gli angiofibromi facciali e i fibromi periungueali, diventa più invalidante così come gli aspetti cognitivi e comportamentali (48). Tipico il quadro RM con tubercoli corticali e noduli subependimali (**Fig. 3**). Dal punto di vista terapeutico, esistono delle recenti raccomandazioni, in particolare per la TSC in età infantile, secondo cui il vigabatrin può essere utilizzato nei bambini con beneficio ed inoltre la terapia aggiuntiva con everolimus può avere indicazione nei pazienti con crisi farmaco-resistenti; necessaria in ogni caso una precoce valutazione chirurgica (49) specie se in presenza di astrocitoma subependimale a cellule giganti. È comunque intuitivo che, al fine di fornire una cura ottimale ai pazienti con TSC, è necessaria una presa in carico di lunga durata con un approccio multidisciplinare.



**Fig. 3.** Immagini RM di un paziente con sclerosi tuberosa, che mostrano nelle sequenze T2 FLAIR i tuber corticali e nelle sequenze T2 FRFSE i noduli subependimali.

### Sindrome di Sturge-Weber

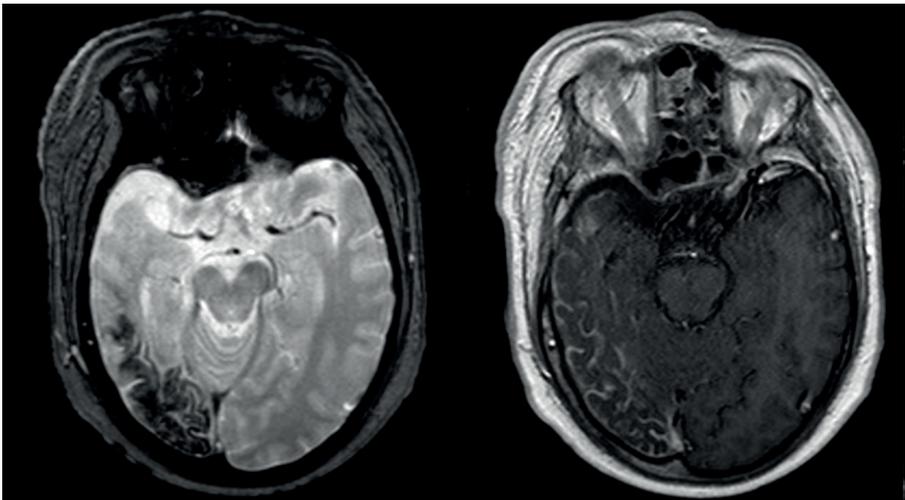
La *sindrome di Sturge-Weber* è la terza più comune malattia neurocutanea, dopo la neurofibromatosi e la sclerosi tuberosa, interessando circa 1 su 20.000 nati vivi. Non è una malattia ereditaria ma sporadica dovuta ad una mutazione somatica attivante del gene *GNAQ*.

Si presenta clinicamente sin dalla nascita con una malformazione capillare sul volto (macchia color vino porto) e solo successivamente si giunge alla diagnosi con il riscontro di una malformazione vascolare che interessa il distretto oculare ed encefalico e delle complicanze correlate: l'angioma leptomeningeo, calcificazioni intracraniche e glaucoma (**Fig. 4**).

I segni neurologici più tipici includono crisi focali, disabilità intellettiva, segni neurologici focali come emiparesi ed emianopsia, e cefalea (50). Le lesioni tipiche della malattia, così come i sintomi clinici, hanno in genere un decorso progressivo durante l'infanzia con un miglioramento ed una stabilizzazione in età adulta. Le crisi inoltre possono esordire dalla nascita fino a circa 10 anni di età. Sono caratterizzate da episodi focali talora con diffusione bilaterale, spesso precipitati da febbre ed infezioni ed accompagnate dalla comparsa di deficit focali (51).

Un adeguato controllo delle crisi è possibile in circa il 40% dei casi. Non esistono linee guida sull'uso dei farmaci antiepilettici in questa sindrome né

una raccomandazione sul momento più opportuno per cominciare la terapia. I farmaci antiepilettici più utilizzati sono carbamazepina, fenitoina e fenobarbital, mentre topiramato e valproato sono possibili terapie aggiuntive. Inoltre, dato il rischio di crisi in cluster, è consigliabile l'utilizzo di terapie al bisogno come le benzodiazepine. Un'altra possibile opzione è quella chirurgica, ovvero l'emisferectomia, in genere praticata in età infantile. Infine, appare fondamentale la gestione dell'aspetto emotivo e psicosociale in questi pazienti, a causa dell'imbarazzo correlato alla presenza della lesione cutanea al volto (52).



**Fig. 4.** *Quadro RM encefalo di un paziente con sindrome di Sturge-Weber visibile come ipointensità di segnale sulle regioni parieto-occipitali dell'emisfero destro nelle sequenze T2 FFE, con impregnazione post-contrastografica nelle sequenze T1.*

### Epilessie miocloniche progressive

**L**e epilessie miocloniche progressive sono un gruppo di malattie neurodegenerative rare ed eterogenee caratterizzate dalla presenza di mioclono d'azione, crisi epilettiche e declino neurologico progressivo con atassia, segni piramidali, neuropatia o miopatia. Esordiscono generalmente, ma non esclusivamente, nei bambini con prognosi tipicamente infausta. Le più comuni sono: la malattia di Unverricht-Lundborg, la malattia di Lafora, diverse forme di ceroidolipofuscinosi, le sialidosi tipo 1 e 2 e l'epilessia mioclonica con fibre rosse raggiate (MERRF), già menzionata prima tra le malattie mitocondriali (53, 54).

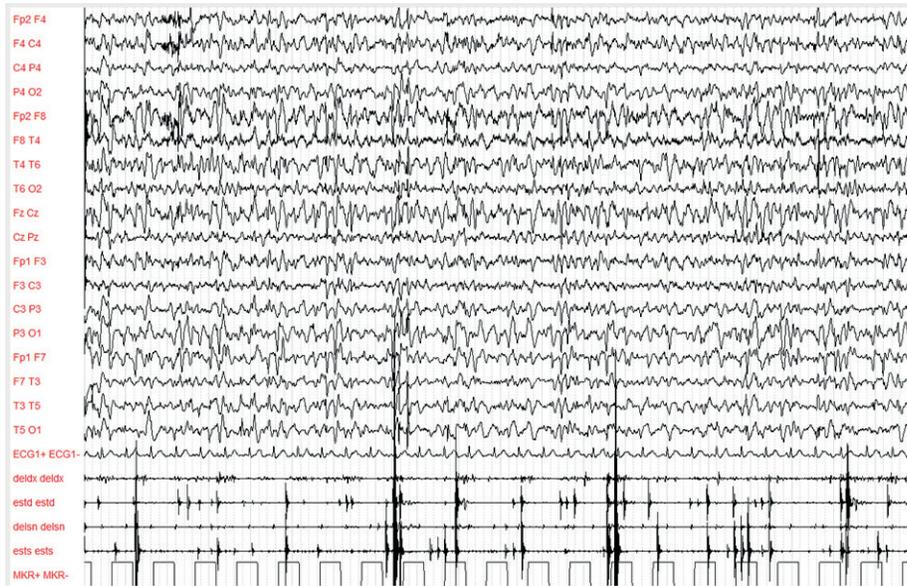
## Malattia di Unverricht-Lundborg

La malattia di Unverricht-Lundborg è una malattia autosomica recessiva ed è la singola più comune causa di epilessia mioclonica progressiva. È molto frequente nella popolazione finlandese ma è anche presente nelle regioni mediterranee; veniva infatti chiamata precedentemente “*mioclono Baltico*” e “*mioclono Mediterraneo*”. È causata da una mutazione nel gene CSTB ed è attualmente classificata con la sigla di EPM1. Clinicamente si caratterizza per un esordio compreso tra i 6 ed i 16 anni, mioclono d'azione, stimolo sensibile, e crisi epilettiche generalizzate tonico-cloniche. I pazienti presentano inoltre atassia, disartria, tremore intenzionale e lieve declino cognitivo (55, 56). Tipicamente le anomalie EEG sono più pronunciate al momento della diagnosi per poi diminuire e stabilizzarsi, anche grazie alla terapia antiepilettica (57). La terapia è sintomatica e comprende un approccio riabilitativo e supporto psicosociale. L'acido valproico è la prima terapia di scelta perché agisce sia sul mioclono che sulle crisi. Anche il clonazepam ed il levetiracetam sono efficaci sul mioclono, così come topiramato e zonisamide. Il perampanel sembra essere un farmaco promettente (58). I farmaci bloccanti del sodio ed i GABAergici dovrebbero essere invece evitati. Grazie ai nuovi farmaci antiepilettici l'aspettativa di vita è aumentata con variazioni interindividuali nella gravità e nella rapidità di progressione della malattia (59).

## Malattia di Lafora

La malattia di Lafora è una malattia neurodegenerativa a trasmissione autosomica recessiva dovuta a mutazioni del gene EPM2A sul cromosoma 6q24.3 ed EPM2B (NHLRC1) sul cromosoma 6p22.3, con conseguente deficit di Laforina e Malina rispettivamente. PRMD8 è un nuovo gene recentemente scoperto che può associarsi alla malattia di Lafora ad esordio precoce. La malattia è frequente nel Mediterraneo, in nord Africa ed in Asia centrale con una prevalenza di circa 4 casi per 1.000.000 di persone. Presenta un esordio compreso tra gli 11 e i 18 anni con una progressione variabile ed il raggiungimento di grave disabilità e morte dopo circa 10 anni dall'esordio. Il mioclono, peggiorato dall'azione e dalla fotostimolazione, è il sintomo più invalidante, e diventa nel tempo generalizzato e continuo. Le crisi epilettiche sono crisi miocloniche e crisi focali a partenza dal lobo occipitale; più rare le crisi generalizzate tonico-cloniche, le crisi di assenza atipica o le crisi atoniche. Comune l'occorrenza di stato di male. Il declino cognitivo comincia precocemente nel corso della malattia, insieme a sintomi psichiatrici. La diagnosi è possibile tramite una biopsia di cute, di muscolo o epatica perché

le particelle di poliglucosano PAS positive si accumulano in questi tessuti e nel cervello. L'EEG progredisce nel corso della malattia con scomparsa della normale attività di fondo e punte e polipunte generalizzate, asimmetriche, con fotosensibilità (60) (Fig. 5).



**Fig. 5.** *Quadro EEG di un paziente con malattia di Lafora con punte e polipunte multifocali con prevalenza anteriore, associate a correlato poligrafico di mioclonie agli arti superiori.*

La terapia è sintomatica con farmaci antiepilettici per il mioclono e le crisi: l'acido valproico, il clonazepam, il levetiracetam, il fenobarbital, il topiramato e la zonisamide vengono in genere utilizzati con buoni risultati. I più recenti brivaracetam e perampanel hanno dimostrato efficacia. Anche lo stimolatore del nervo vago è stato utilizzato con qualche risultato (59–63).

### Ceroidlipofuscinosi neuronali

Le ceroidlipofuscinosi neuronali (NCL) sono un gruppo di malattie neurodegenerative dovute all'accumulo di materiale "autofluorescente" nei neuroni ed in altri tipi cellulari. In genere hanno una trasmissione autosomica recessiva e si caratterizzano per la presenza di crisi epilettiche, declino cognitivo progressivo, disturbi visivi e prognosi infausta. Le ceroidlipofuscinosi



## Sialidosi

Le *sialidosi* sono malattie a trasmissione autosomica recessiva dovute a mutazioni del gene della neuraminidasi con accumulo di glicolipidi ed oligosaccaridi sialidati. Il gene NEU1 si trova sul cromosoma 6p21.3. La sialidosi è classificata in due tipi: tipo 1 o normomorfica, tipo 2 o dismorfica.

**La sialidosi tipo 1** è anche conosciuta come sindrome “macchia rosso ciliegia-mioclono”. Ha un decorso clinico meno severo con sintomi ad esordio nella seconda o terza decade di vita: alterazioni della marcia, disturbi visivi, lieve disabilità intellettiva, mioclono progressivo peggiorato dall’azione e dagli stimoli acustici. Possono esserci anche tremore intenzionale, atassia cerebellare e segni piramidali. La diagnosi è possibile tramite il riscontro di oligosaccaridi urinari, riscontro di anormali accumuli nei linfociti nel sangue periferico, dimostrazione in colture di cute di deficit dell’attività della neuraminidasi e studi enzimatici. La conferma diagnostica si ottiene tramite il whole genome sequencing. La severità e la progressione dipendono dal livello di attività enzimatica residua (65).

**La sialidosi tipo 2** si divide nei sottotipi congenito, infantile e giovanile. Si associano a disabilità intellettiva ed alterazioni a carico dello scheletro, in genere disostosi multiple. Le forme giovanili sono maggiormente progressive e con segni dismorfici meno marcati, angiocheratodermi e macchia rosso ciliegia sul fondo dell’occhio. Durante l’adolescenza possono insorgere deficit cerebellari, segni piramidali e neuropatia periferica (65). Inoltre recentemente sono state riscontrate mutazioni del gene NEU1 in pazienti con mioclono corticale ad esordio nella terza decade di vita, con decorso lieve e lentamente progressivo (66).

Attualmente non esistono terapie specifiche per le sialidosi ma, considerando la presentazione tardiva di malattia con presenza di sintomi lievi nei pazienti con sialidosi di tipo I, gli studi su nuovi trattamenti dovrebbero essere indirizzati a questi pazienti che, più di altri, potrebbero beneficiare di una terapia, con miglioramento della qualità di vita e prolungamento della sopravvivenza (67).

---

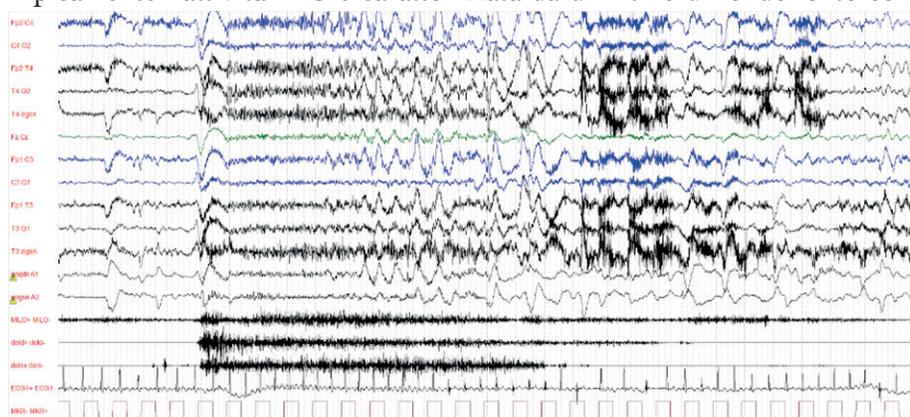
## Epilessie da cause strutturali o sconosciute

### Sindrome di Lennox-Gastaut

**L**a *sindrome di Lennox-Gastaut* (LGS) è una rara encefalopatia epilettica con un’età di insorgenza in genere prima degli 8 anni ed un picco tra i 3 e i 5 anni. Infatti i tassi di prevalenza variano ampiamente dall’1

al 10% di tutte le epilessie dell'infanzia. L'eziologia della LGS viene classicamente suddivisa in due gruppi: sintomatica, quando è presente una causa identificabile, o criptogenica quando non è possibile identificare una causa apparente (68, 69). Secondo la nuova classificazione delle epilessie dell'ILAE si parla di epilessia da causa strutturale o metabolica o genetica nel primo caso o di epilessia di origine sconosciuta nel secondo (70). La LGS è caratterizzata da crisi multiple farmacoresistenti sia focali che generalizzate: le crisi toniche (**Fig. 7**) e le assenze atipiche sono le più frequenti ma sono presenti anche crisi miocloniche, crisi atoniche con caduta, crisi generalizzate tonico cloniche, stati di male non convulsivi e, più raramente, crisi cloniche unilaterali o focali con o senza diffusione bilaterale (68, 69). Tutti i pazienti presentano crisi toniche durante il sonno, una caratteristica tipica della sindrome.

Tipicamente l'attività EEG è caratterizzata da un ritmo di fondo lento con



**Fig. 7.** Registrazione di una crisi tonica durante veglia in un paziente con sindrome di Lennox-Gastaut. Presenza di attività rapida basso-voltata diffusa seguita da onde lente ritmiche associata ad incremento del tono sui muscoli deltoidi.

scariche di punta-onda lenta generalizzate. Considerata l'eterogeneità clinica ed eziologica della LGS, la misdiagnosi è frequente, anche perché le suddette caratteristiche cliniche e dell'EEG possono non essere presenti sin dall'esordio di malattia. Sebbene tipicamente la LGS esordisca durante l'infanzia, la diagnosi può essere formulata anche molti anni dopo l'esordio, in età adulta (71). Inoltre, molto raramente è stato descritto un esordio tardivo, durante l'adolescenza o l'età adulta (72). Poiché le caratteristiche cliniche tipiche tendono ad evolversi e a cambiare nel tempo, può essere difficile riconoscere la sindrome in età adulta. Anche la gestione del paziente varia nel tempo

adattandosi alle sue diverse esigenze, comprendendo il management delle condizioni associate, oltre che delle crisi epilettiche.

Infatti la presenza di problemi cognitivi e comportamentali, di disabilità fisica e disturbi del sonno richiede un approccio individualizzato e globale alla cura del paziente (71).

Il trattamento della LGS è finalizzato ad una riduzione della frequenza delle crisi, seppur la libertà da crisi sia un obiettivo difficile da raggiungere in questo contesto. Infatti, è necessario prendere in considerazione il potenziale beneficio di ciascuna terapia in relazione agli effetti avversi relativi a comportamento e cognitivtà. Una recente review (73) dimostra come non esiste un farmaco altamente efficace in questa sindrome. In ogni caso la rufinamide, la lamotrigina, il topiramato ed il felbamato possono essere utili come terapie aggiuntive, specialmente per il compenso delle catastrofiche crisi con caduta.

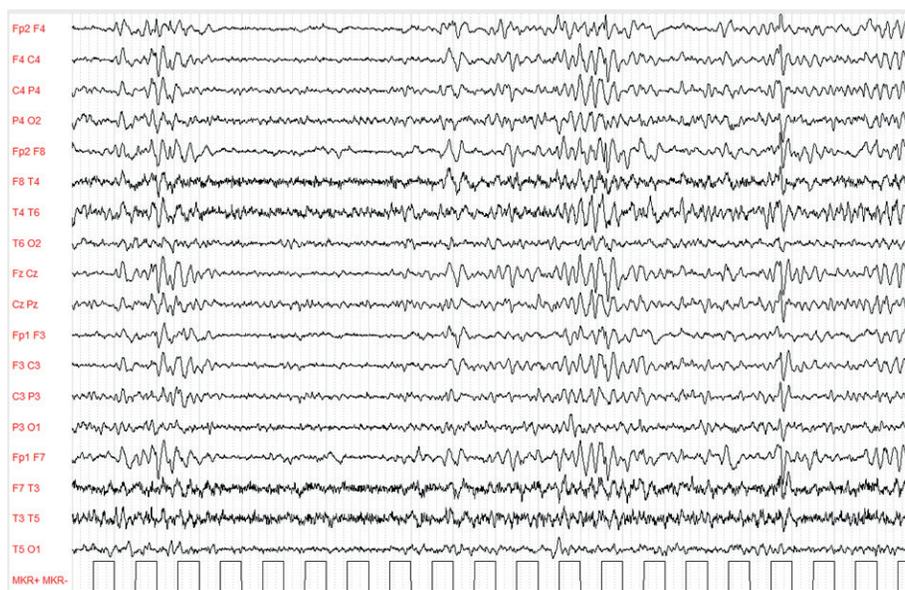
### **Amartomi ipotalamici**

*Gli amartomi ipotalamici* sono delle malformazioni congenite eterotopiche non neoplastiche formate da neuroni e cellule gliali, a frequenza molto rara (1: 200.000). Solitamente si localizzano in vicinanza dell'ipotalamo posteriore, del tuber cinereum o dei corpi mammillari (74). La diagnosi neuroradiologica si basa sulla conferma dei seguenti parametri: un amartoma ipotalamico peduncolato o sessile a livello ipotalamico senza presa di contrasto alla RM o alla TC encefalo, e assenza di evoluzione radiologica in valutazioni successive (75, 76).

Nel 5-10% dei casi si presentano nel contesto di sindromi ben definite come la sindrome di Pallister–Hall, McKusick–Kaufman (77), Prader–Willi (78), and Waardenburg (79). Le manifestazioni cliniche più frequenti sono rappresentate da pubertà precoce, ritardo mentale e crisi epilettiche, in particolare crisi gelastiche. In realtà però la presenza di amartoma ipotalamico può essere associata ad un ampio spettro di condizioni cliniche, da forme meno invalidanti con “voglia di ridere” e assenza di deficit cognitivi fino a forme gravi caratterizzate da encefalopatia severa con crisi gelastiche ad esordio precoce, pubertà precoce e disabilità intellettiva. Inoltre, in quasi tutti i pazienti, nel corso della malattia, si sviluppa un'epilessia farmacoresistente con crisi focali o generalizzate (80). L'EEG è spesso alterato con un ritmo di fondo lento che riflette il grado di encefalopatia epilettica (**Fig. 8**).

Dal punto di vista terapeutico, devono essere presi in considerazione diversi aspetti. Nei pazienti con pubertà precoce, la terapia con GRH (ormone rilasciante le gonadotropine) è efficace. I pazienti con epilessia sono in genere re-

sistenti alla terapia con farmaci antiepilettici e spesso è necessario ricorrere alla terapia chirurgica: una chirurgia resettiva, di disconnessione, l'utilizzo di gamma knife, di radiochirurgia, di termocoagulazione con radiofrequenze o la stimolazione vagale sono tutte opzioni da considerare (81). L'utilizzo di tecniche mininvasive si rende necessaria per la sicurezza del paziente, a causa della sua localizzazione profonda e della vicinanza a strutture importanti (82).



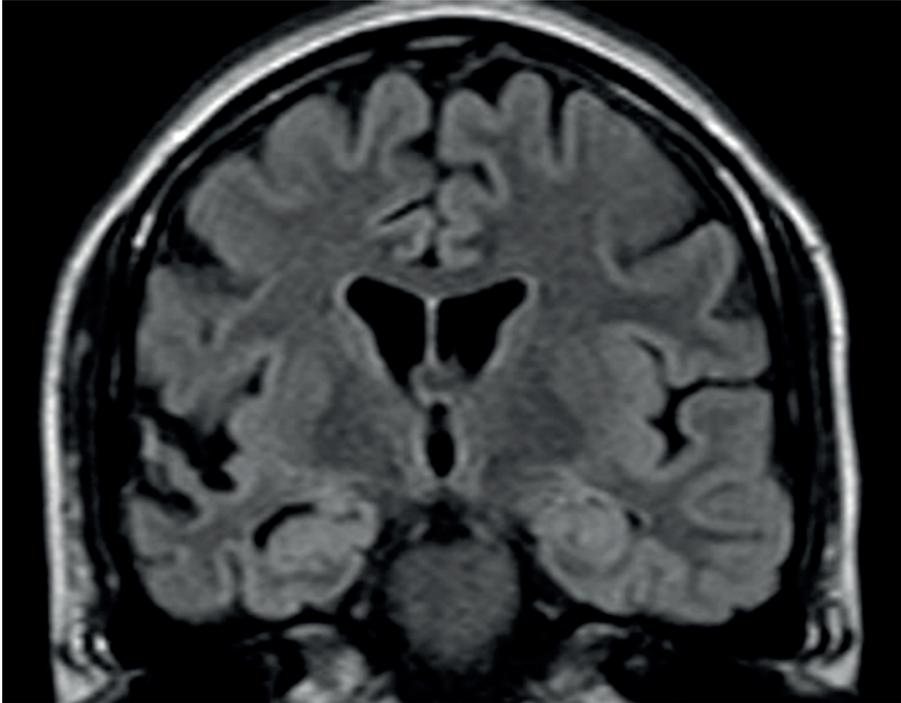
**Fig. 8.** EEG di un paziente con amartoma ipotalamico che mostra un'attività di fondo lenta con anomalie lente diffuse.

## Epilessie da causa immuno-mediata

### Encefalite di Rasmussen

L'encefalite di Rasmussen (RE) è una malattia rara di natura infiammatoria, a verosimile genesi immuno-mediata, che tipicamente interessa un solo emisfero cerebrale. È caratterizzata dalla presenza di deficit neurologici progressivi e crisi epilettiche farmacoresistenti, che spesso si manifestano nella forma di epilessia parziale continua o stato epilettico ricorrente. L'EEG mostra un rallentamento uniemisferico ed attività epilettiforme unilaterale con esordio focale unilaterale delle crisi. Presenta delle caratter-

istiche distintive alla RM encefalica che spesso permettono di orientare la diagnosi: progressiva atrofia focale unilaterale e iperintensità di segnale cortico-sottocorticale, prevalentemente in area perisilviana, con coinvolgimento dei gangli della base (83) (**Fig. 9**).



**Fig. 9.** RM encefalo di una paziente con encefalite di Rasmussen, a distanza di circa 2 anni dall'esordio. Presenza di atrofia focale a carico dell'insula di destra nelle sequenze FLAIR.

In una percentuale di casi si riscontra la positività per gli anticorpi anti GluR3.

Tipicamente la RE presenta un esordio precoce ma sono state descritte, seppur rare, presentazioni in età adulta (84, 85).

Nelle forme tipiche ad esordio precoce si riconoscono tre fasi: una fase prodromica con lieve emiparesi e crisi rare, una fase acuta con crisi focali frequenti o epilessia focale continua e una fase finale con residui deficit motori e cognitivi.

A confronto con la tipica forma ad esordio precoce, la RE che si presenta nell'adolescenza o in età adulta sembra presentare delle caratteristiche dif-

ferenti che ne rendono più difficile la diagnosi e le scelte terapeutiche: più frequenti crisi focali con compromissione della consapevolezza (con sintomi motori, visivi, olfattivi o dismnesici), una minore frequenza di epilessia focale continua nel corso della malattia, una più lenta evoluzione e una minore compromissione cognitiva con una prognosi migliore. Inoltre sembra non esserci una specifica associazione con i tipici markers autoimmuni, spesso riscontrata nelle forme tipiche (85). I casi di RE in età adulta descritti mostrano una buona risposta alle terapie immunomodulanti, anche quando cominciate tardivamente (86). Dunque, a differenza che nei bambini, dove l'esclusione chirurgica dell'emisfero affetto rappresenta una buona opzione terapeutica, nell'adulto viene in genere preferita la terapia medica e l'emisferectomia viene considerata una scelta estrema (85).

La gestione di un paziente con RE ad esordio in età adulta dovrebbe far fronte a tutti i bisogni medici e psicosociali del paziente costretto a vivere con una disabilità cronica. Tale approccio richiede una gestione multidisciplinare.

### ***Ringraziamenti***

Un ringraziamento al tecnico di Neurofisiopatologia, Giuseppe Miano, per la preziosa iconografia ed a tutti i collaboratori del Centro Epilessia della Clinica Neurologica del Policlinico Vittorio Emanuele di Catania.

***Conflitti di interessi.*** *Gli autori Vito Sofia e Loretta Giuliano dichiarano di non aver alcun conflitto d'interesse.*

## ***Bibliografia***

Nabbout R, Andrade DM, Bahi-Buisson N, Cross H, Desquerre I, Dulac O, et al. Outcome of childhood-onset epilepsy from adolescence to adulthood: Transition issues. *Epilepsy Behav EB*. 2017; 69:161–9.

Nabbout R, Camfield P. Transition in adulthood: the challenge of epilepsies. *Epilepsia*. 2014 Aug; 55 Suppl 3:1–2.

Scheffer IE, Berkovic S, Capovilla G, Connolly MB, French J, Guilhoto L, et al. ILAE classification of the epilepsies: Position paper of the ILAE Commission for Classification and Terminology. *Epilepsia*. 2017 Apr; 58(4):512–521.

Rotstein M, Engelstad K, Yang H, Wang D, Levy B, Chung WK, et al. Glut1 deficiency: inheritance pattern determined by haploinsufficiency. *Ann Neurol*. 2010 Dec; 68(6):955–8.

Klepper J, Scheffer H, Elsaid MF, Kamsteeg E-J, Leferink M, Ben-Omran T. Autosomal recessive inheritance of GLUT1 deficiency syndrome. *Neuropediatrics*. 2009 Oct; 40(5):207–10.

Klepper J, Willemsen M, Verrips A, Guertsen E, Herrmann R, Kutzick C, et al. Autosomal dominant transmission of GLUT1 deficiency. *Hum Mol Genet*. 2001 Jan 1; 10(1):63–8.

Rotstein M, Doran J, Yang H, Ullner PM, Engelstad K, De Vivo DC. Glut1 deficiency and alternating hemiplegia of childhood. *Neurology*. 2009 Dec 8; 73(23):2042–4.

Schneider SA, Paisan-Ruiz C, Garcia-Gorostiaga I, Quinn NP, Weber YG, Lerche H, et al. GLUT1 gene mutations cause sporadic paroxysmal exercise-induced dyskinesias. *Mov Disord Off J Mov Disord Soc*. 2009 Aug 15; 24(11):1684–8.

De Vivo DC, Leary L, Wang D. Glucose transporter 1 deficiency syndrome and other glycolytic defects. *J Child Neurol*. 2002 Dec; 17 Suppl 3:3S15–23; discussion 3S24–25.

Giliberto C, Reggio E, Sofia V, Giuliano L, Lo Fermo S, Barone R, et al. Electroclinical features of a patient with GLUT1 deficiency syndrome and adult onset periodic weakness. *Eur J Neurol*. 2016 Jan; 23(1):e1–3.

Pong AW, Geary BR, Engelstad KM, Natarajan A, Yang H, De Vivo DC. Glucose transporter type I deficiency syndrome: epilepsy phenotypes and outcomes. *Epilepsia*. 2012 Sep; 53(9):1503–10.

Klepper J, Scheffer H, Leiendecker B, Gertsen E, Binder S, Leferink M, et al. Seizure control and acceptance of the ketogenic diet in GLUT1 deficiency syndrome: a 2- to 5-year follow-up of 15 children enrolled prospectively. *Neuropediatrics*. 2005 Oct; 36(5):302–8.

Klepper J, Fischbarg J, Vera JC, Wang D, De Vivo DC. GLUT1-deficiency: barbiturates potentiate haploinsufficiency in vitro. *Pediatr Res*. 1999 Dec; 46(6):677–83.

Klepper J, Flörcken A, Fischbarg J, Voit T. Effects of anticonvulsants on GLUT1-mediated glucose transport in GLUT1 deficiency syndrome in vitro. *Eur J Pediatr*. 2003 Feb; 162(2):84–9.

Wong HY, Chu TS, Lai JC, Fung KP, Fok TF, Fujii T, et al. Sodium valproate inhibits glucose transport and exacerbates Glut1-deficiency in vitro. *J Cell Biochem*. 2005 Nov 1; 96(4):775–85.

Dibbens LM, Tarpey PS, Hynes K, Bayly MA, Scheffer IE, Smith R, et al. X-linked protocadherin 19 mutations cause female-limited epilepsy and cognitive impairment. *Nat Genet*. 2008 Jun; 40(6):776–81.

Depienne C, Bouteiller D, Keren B, Cheuret E, Poirier K, Trouillard O, et al. Sporadic infantile epileptic encephalopathy caused by mutations in PCDH19 resembles Dravet syndrome but mainly affects females. *PLoS Genet*. 2009 Feb; 5(2):e1000381.

Camacho A, Simón R, Sanz R, Viñuela A, Martínez-Salio A, Mateos F. Cognitive and behavioral profile in females with epilepsy with PDCH19 mutation: two novel mutations and review of the literature. *Epilepsy Behav* EB. 2012 May; 24(1):134–7.

Specchio N, Marini C, Terracciano A, Mei D, Trivisano M, Sicca F, et al. Spectrum of phenotypes in female patients with epilepsy due to protocadherin 19 mutations. *Epilepsia*. 2011 Jul; 52(7):1251–7.

Higurashi N, Nakamura M, Sugai M, Ohfu M, Sakauchi M, Sugawara Y, et al. PCDH19-related female-limited epilepsy: further details regarding early clinical features and therapeutic efficacy. *Epilepsy Res*. 2013 Sep; 106(1–2):191–9.

Lotte J, Bast T, Borusiak P, Coppola A, Cross JH, Dimova P, et al. Effectiveness of antiepileptic therapy in patients with PCDH19 mutations. *Seizure*. 2016 Feb; 35:106–10.

Whittaker RG, Devine HE, Gorman GS, Schaefer AM, Horvath R, Ng Y, et al. Epilepsy in adults with mitochondrial disease: A cohort study. *Ann Neurol*. 2015 Dec; 78(6):949–57.

Gorman GS, Schaefer AM, Ng Y, Gomez N, Blakely EL, Alston CL, et al. Prevalence of nuclear and mitochondrial DNA mutations related to adult mitochondrial disease. *Ann Neurol*. 2015 May; 77(5):753–9.

Chinnery PF. Mitochondrial disease in adults: what's old and what's new? *EMBO Mol Med*. 2015 Dec; 7(12):1503–12.

Finsterer J, Zarrouk Mahjoub S. Mitochondrial epilepsy in pediatric and adult patients. *Acta Neurol Scand*. 2013 Sep; 128(3):141–52.

Lee HN, Eom S, Kim SH, Kang H-C, Lee JS, Kim HD, et al. Epilepsy Characteristics and Clinical Outcome in Patients With Mitochondrial Encephalomyopathy, Lactic

- Acidosis, and Stroke-Like Episodes (MELAS). *Pediatr Neurol*. 2016;64:59–65.
- El-Hattab AW, Adesina AM, Jones J, Scaglia F. MELAS syndrome: Clinical manifestations, pathogenesis, and treatment options. *Mol Genet Metab*. 2015 Oct;116(1–2):4–12.
- Mancuso M, Orsucci D, Angelini C, Bertini E, Carelli V, Comi GP, et al. Phenotypic heterogeneity of the 8344A>G mtDNA “MERRF” mutation. *Neurology*. 2013 May 28;80(22):2049–54.
- Lorenzoni PJ, Scola RH, Kay CSK, Arndt RC, Silvado CE, Werneck LC. MERRF: Clinical features, muscle biopsy and molecular genetics in Brazilian patients. *Mitochondrion*. 2011 May;11(3):528–32.
- Desguerre I, Hully M, Rio M, Nabbout R. Mitochondrial disorders and epilepsy. *Rev Neurol (Paris)*. 2014 May;170(5):375–80.
- Agarwal Gupta N, Kabra M. Diagnosis and management of Down syndrome. *Indian J Pediatr*. 2014 Jun;81(6):560–7.
- Verrotti A, Cusmai R, Nicita F, Pizzolorusso A, Elia M, Zamponi N, et al. Electroclinical features and long-term outcome of cryptogenic epilepsy in children with Down syndrome. *J Pediatr*. 2013 Dec;163(6):1754–8.
- De Simone R, Puig XS, Gélisse P, Crespel A, Genton P. Senile myoclonic epilepsy: delineation of a common condition associated with Alzheimer’s disease in Down syndrome. *Seizure*. 2010 Sep;19(7):383–9.
- Larner AJ. Senile myoclonic epilepsy in Down syndrome. *Seizure*. 2011 Jul;20(6):512.
- Specchio N, Trivisano M, Serino D, Cappelletti S, Carotenuto A, Claps D, et al. Epilepsy in ring 14 chromosome syndrome. *Epilepsy Behav EB*. 2012 Dec;25(4):585–92.
- Giovannini S, Marangio L, Fusco C, Scarano A, Frattini D, Della Giustina E, et al. Epilepsy in ring 14 syndrome: a clinical and EEG study of 22 patients. *Epilepsia*. 2013 Dec;54(12):2204–13.
- Elens I, Vanrykel K, De Waele L, Jansen K, Segeren M, Van Paesschen W, et al. Ring chromosome 20 syndrome: electroclinical description of six patients and review of the literature. *Epilepsy Behav EB*. 2012 Apr;23(4):409–14.
- Vignoli A, Bisulli F, Darra F, Mastrangelo M, Barba C, Giordano L, et al. Epilepsy in ring chromosome 20 syndrome. *Epilepsy Res*. 2016;128:83–93.
- Giuliano L, Fatuzzo D, Mainieri G, Sofia V, Zappia M. Phenotypical heterogeneity of morpheic seizures in ring chromosome 20 syndrome: a videopolysomnographic evidence. *Neurol Sci Off J Ital Neurol Soc Ital Soc Clin Neurophysiol*. 2017 Feb 8;
- Freire de Moura M, Flores-Guevara R, Gueguen B, Biraben A, Renault F. Long-term EEG in patients with the ring chromosome 20 epilepsy syndrome. *Epilepsia*. 2016; 57(5):e94–96.

Matricardi S, Darra F, Spalice A, Basti C, Fontana E, Dalla Bernardina B, et al. Electroclinical findings and long-term outcomes in epileptic patients with inv dup (15). *Acta Neurol Scand*. 2018 Jun; 137(6):575–81.

Verrotti A, Sertorio F, Matricardi S, Ferrara P, Striano P. Electroclinical features of epilepsy in patients with InvDup(15). *Seizure*. 2017 Apr; 47:87–91.

Chifari R, Guerrini R, Pierluigi M, Cavani S, Sgrò V, Elia M, et al. Mild generalized epilepsy and developmental disorder associated with large inv dup(15). *Epilepsia*. 2002 Sep; 43(9):1096–100.

Battaglia A. The inv dup (15) or idic (15) syndrome (Tetrasomy 15q). *Orphanet J Rare Dis*. 2008 Nov 19;3:30.

Klar N, Cohen B, Lin DDM. Neurocutaneous syndromes. *Handb Clin Neurol*. 2016; 135:565–89.

Little H, Kamat D, Sivaswamy L. Common Neurocutaneous Syndromes. *Pediatr Ann*. 2015 Nov; 44(11):496–504.

DiMario FJ, Sahin M, Ebrahimi-Fakhari D. Tuberous sclerosis complex. *Pediatr Clin North Am*. 2015 Jun; 62(3):633–48.

Thiele EA, Granata T, Matricardi S, Chugani HT. Transition into adulthood: tuberous sclerosis complex, Sturge-Weber syndrome, and Rasmussen encephalitis. *Epilepsia*. 2014 Aug; 55 Suppl 3:29–33.

Curatolo P, Nabbout R, Lagae L, Aronica E, Ferreira JC, Feucht M, et al. Management of epilepsy associated with tuberous sclerosis complex: Updated clinical recommendations. *Eur J Paediatr Neurol EJPN Off J Eur Paediatr Neurol Soc*. 2018 May 24;

Comi AM. Sturge-Weber syndrome. *Handb Clin Neurol*. 2015;132:157–68.

Di Rocco C, Tamburrini G. Sturge-Weber syndrome. *Childs Nerv Syst ChNS Off J Int Soc Pediatr Neurosurg*. 2006 Aug;22(8):909–21.

De la Torre AJ, Luat AF, Juhász C, Ho ML, Argersinger DP, Cavuoto KM, et al. A Multidisciplinary Consensus for Clinical Care and Research Needs for Sturge-Weber Syndrome. *Pediatr Neurol*. 2018 Apr 18;

Kälviäinen R. Progressive Myoclonus Epilepsies. *Semin Neurol*. 2015 Jun;35(3):293–9.

Minassian BA. The progressive myoclonus epilepsies. *Prog Brain Res*. 2014;213:113–22.

Lehesjoki A-E, Gardiner M. Progressive myoclonus epilepsy: Unverricht-Lundborg disease and Neuronal ceroid lipofuscinoses. In: Noebels JL, Avoli M, Rogawski MA, Olsen RW, Delgado-Escueta AV, editors. *Jasper's Basic Mechanisms of the Epilepsies* [Internet]. 4th ed. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2012. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98154/>

Crespel A, Ferlazzo E, Franceschetti S, Genton P, Gouider R, Kälviäinen R, et al. Unverricht-Lundborg disease. *Epileptic Disord Int Epilepsy J Videotape*. 2016 Sep 1;18(S2):28–37.

Gargouri-Berrechid A, Nasri A, Kacem I, Sidhom Y, Abdelkefi I, Hizem Y, et al. Long-term evolution of EEG in Unverricht-Lundborg disease. *Neurophysiol Clin Clin Neurophysiol*. 2016 Apr; 46(2):119–24.

Crespel A, Gelisse P, Tang NPL, Genton P. Perampanel in 12 patients with Unverricht-Lundborg disease. *Epilepsia*. 2017; 58(4):543–7.

Ferlazzo E, Trenite DK-N, Haan G-J de, Felix Nitschke F, Ahonen S, Gasparini S, et al. Update on Pharmacological Treatment of Progressive Myoclonus Epilepsies. *Curr Pharm Des*. 2017; 23(37):5662–6.

Ibrahim F, Murr N. Lafora Disease. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2018. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482229/>

Dirani M, Nasreddine W, Abdulla F, Beydoun A. Seizure control and improvement of neurological dysfunction in Lafora disease with perampanel. *Epilepsy Behav Case Rep*. 2014; 2:164–6.

Goldsmith D, Minassian BA. Efficacy and tolerability of perampanel in ten patients with Lafora disease. *Epilepsy Behav EB*. 2016; 62:132–5.

Schorlemmer K, Bauer S, Belke M, Hermsen A, Klein KM, Reif PS, et al. Sustained seizure remission on perampanel in progressive myoclonic epilepsy (Lafora disease). *Epilepsy Behav Case Rep*. 2013; 1:118–21.

Arsov T, Smith KR, Damiano J, Franceschetti S, Canafoglia L, Bromhead CJ, et al. Kufs disease, the major adult form of neuronal ceroid lipofuscinosis, caused by mutations in CLN6. *Am J Hum Genet*. 2011 May 13; 88(5):566–73.

Khan A, Sergi C. Sialidosis: A Review of Morphology and Molecular Biology of a Rare Pediatric Disorder. *Diagn Basel Switz*. 2018 Apr 25; 8(2).

Canafoglia L, Robbiano A, Pareyson D, Panzica F, Nanetti L, Giovagnoli AR, et al. Expanding sialidosis spectrum by genome-wide screening: NEU1 mutations in adult-onset myoclonus. *Neurology*. 2014 Jun 3; 82(22):2003–6.

D’Azzo A, Machado E, Annunziata I. Pathogenesis, Emerging therapeutic targets and Treatment in Sialidosis. *Expert Opin Orphan Drugs*. 2015; 3(5):491–504.

Camfield PR. Definition and natural history of Lennox-Gastaut syndrome. *Epilepsia*. 2011 Aug; 52 Suppl 5:3–9.

Arzimanoglou A, French J, Blume WT, Cross JH, Ernst J-P, Feucht M, et al. Lennox-Gastaut syndrome: a consensus approach on diagnosis, assessment, management, and trial methodology. *Lancet Neurol*. 2009 Jan; 8(1):82–93.

Panayiotopoulos CP. The new ILAE report on terminology and concepts for the organization of epilepsies: critical review and contribution. *Epilepsia*. 2012 Mar; 53(3):399–404.

Kerr M, Kluger G, Philip S. Evolution and management of Lennox-Gastaut syndrome through adolescence and into adulthood: are seizures always the primary issue? *Epileptic Disord Int Epilepsy J Videotape*. 2011 May; 13 Suppl 1:S15-26.

Bauer G, Aichner F, Saltuari L. Epilepsies with diffuse slow spikes and waves of late onset. *Eur Neurol*. 1983; 22(5):344–50.

Hancock EC, Cross HHJ. Treatment of Lennox-Gastaut syndrome. *Cochrane Database Syst Rev*. 2009 Jul 8; (3):CD003277.

Coons SW, Rekate HL, Prenger EC, Wang N, Drees C, Ng Y, et al. The histopathology of hypothalamic hamartomas: study of 57 cases. *J Neuropathol Exp Neurol*. 2007 Feb; 66(2):131–41.

Burton EM, Ball WS, Crone K, Dolan LM. Hamartoma of the tuber cinereum: a comparison of MR and CT findings in four cases. *AJNR Am J Neuroradiol*. 1989 Jun;10(3):497–501.

Lona Soto A, Takahashi M, Yamashita Y, Sakamoto Y, Shinzato J, Yoshizumi K. MRI findings of hypothalamic hamartoma: report of five cases and review of the literature. *Comput Med Imaging Graph Off J Comput Med Imaging Soc*. 1991 Dec; 15(6):415–21.

Kos S, Roth K, Korinth D, Zeilinger G, Eich G. Hydrometrocolpos, postaxial polydactyly, and hypothalamic hamartoma in a patient with confirmed Pallister-Hall syndrome: a clinical overlap with McKusick-Kaufman syndrome. *Pediatr Radiol*. 2008 Aug;38(8):902–6.

Cacciari E, Zucchini S, Carlà G, Pirazzoli P, Cicognani A, Mandini M, et al. Endocrine function and morphological findings in patients with disorders of the hypothalamo-pituitary area: a study with magnetic resonance. *Arch Dis Child*. 1990 Nov;65(11):1199–202.

Sener RN. Cranial MR imaging findings in Waardenburg syndrome: anophthalmia, and hypothalamic hamartoma. *Comput Med Imaging Graph Off J Comput Med Imaging Soc*. 1998 Oct; 22(5):409–11.

Striano S, Santulli L, Ianniciello M, Ferretti M, Romanelli P, Striano P. The gelastic seizures-hypothalamic hamartoma syndrome: facts, hypotheses, and perspectives. *Epilepsy Behav EB*. 2012 May; 24(1):7–13.

Li CD, Luo SQ, Tang J, Jia G, Ma ZY, Zhang YQ. Classification of hypothalamic hamartoma and prognostic factors for surgical outcome. *Acta Neurol Scand*. 2014 Jul; 130(1):18–26.

Wilfong AA, Curry DJ. Hypothalamic hamartomas: optimal approach to clinical evaluation and diagnosis. *Epilepsia*. 2013 Dec; 54 Suppl 9:109–14.

Granata T, Andermann F. Rasmussen encephalitis. *Handb Clin Neurol*. 2013;111:511–9.

Cheong JY, Wong C, Bleasel A, Varikatt W, Ng T, Dexter MA. Late onset Rasmussen's encephalitis with triple pathology. *J Clin Neurosci Off J Neurosurg Soc Australas*. 2009 Dec; 16(12):1677–81.

Dupont S, Gales A, Sammey S, Vidailhet M, Lambrecq V. Late-onset Rasmussen Encephalitis: A literature appraisal. *Autoimmun Rev*. 2017 Aug; 16(8):803–10.

Sanfilippo C, Giuliano L, Fatuzzo D, Sortino G, Le Pira F, Sofia V, et al. Late onset Rasmussen encephalitis: complete remission after one session of plasmapheresis. *Eur J Neurol*. 2016 Mar; 23(3):e15-16.

## MALATTIE INFETTIVE RARE

Mauro Sapienza, Maria Angela Nicolosi

### Introduzione

**S**i descrivono le principali caratteristiche eziopatogenetiche, epidemiologiche, clinodiagnostiche, terapeutiche e diagnostico-differenziale delle malattie infettive rare, riportate nella classificazione ufficiale del sito del Ministero della Salute: Malattia di Hansen - Malattia di Whipple - Malattia di Lyme

Le malattie rare non hanno tutte un'origine genetica; ad esempio, esistono malattie infettive molto rare, così come malattie autoimmuni e carcinomi rari. Inoltre, le malattie infettive rare sono malattie gravi, spesso croniche e talvolta progressive e le conoscenze scientifiche e mediche sono scarse ed insufficienti. Per molto tempo sono state ignorate dai medici, dai ricercatori e dalle istituzioni e non esistevano fino a pochi anni fa attività scientifiche finalizzate alla ricerca nel campo. Per la maggior parte, ancora oggi non è disponibile una cura efficace, ma numerosi trattamenti appropriati possono migliorare la qualità della vita e prolungarne la durata. In alcuni casi sono stati ottenuti progressi sostanziali, dimostrando che non bisogna arrendersi ma, al contrario, perseguire e intensificare gli sforzi della ricerca e della solidarietà sociale.

Con riferimento alle malattie infettive rare, la classificazione ufficiale del Ministero della Salute delle malattie prevede:

- Malattia di Hansen
- Malattia di Lyme
- Malattia di Whipple

### Malattia di Hansen (Lebbra - Elefantiasi dei Greci)

**D***efinizione:* La malattia di Hansen, più nota come lebbra, interessa i nervi periferici, la pelle e le mucose delle vie aeree. Provoca segni fisici e deformità che nei secoli sono stati associati a uno stigma negativo e hanno spesso comportato emarginazione per i malati e le loro famiglie.

**Eziologia:** La malattia è dovuta al micobatterio *M. leprae*, i cui principali serbatoi sono gli esseri umani e alcune specie di armadillo. Sono stati individuati possibili fattori genetici predisponenti.

**Epidemiologia:** L'incidenza annuale è di 250.000 casi, molti in India e Brasile. Secondo l'Organizzazione mondiale della sanità nel 2012 sono stati rilevati 232.857 nuovi casi di lebbra al mondo. Le stime parlano di circa 1-2 milioni

di malati con disabilità irreversibili legate al morbo di Hansen. La maggior parte dei casi si concentra nei Paesi tropicali e subtropicali, in particolare India, America Latina e Africa. L'insorgenza della malattia può verificarsi a qualsiasi età, ma la maggior parte degli esordi è intorno ai 20-30 anni.

**Clinica:** L'incubazione è lunga, in media 5-7 anni e può anche essere superiore a 40 anni. L'ampio spettro clinico varia dalla forma localizzata tubercoloide polare a quella disseminata lebbromatosa polare. Esistono forme tubercoloidi borderline, borderline borderline e lebbromatose borderline (BT, BB, BL). La lebbra tubercoloide o forma paucibacillare comprende la TT e la BT, mentre la lebbra lebbromatosa (LLep) o forma multibacillare la LL, la BL e la BB. Il periodo di incubazione varia da mesi a più di 20 anni, non supera i 5 anni nella TLep. Dopo il contatto con il *Mycobacterium leprae*, solo il 5% dei pazienti sviluppa la malattia, quasi sempre sotto forma di lesioni cutanee e neuropatia periferica di gravità variabile. Nella TLep, all'inizio, si osservano poche lesioni di grandi dimensioni (1-10), in genere placche eritematose o macule iperpigmentate ben delineate. È sempre presente insensibilità nelle lesioni cutanee. Nella LLep, le lesioni cutanee sono macule o papule eritematose o noduli e a volte placche, numerose (10-100 o più), normoestesiche, poco delineate, ipopigmentate, che esitano in infiltrazioni diffuse, causa della "facies leonina". Il coinvolgimento delle mucose esita in forme gravi di distruzione nasale e difetti corneali o laringei. Possono essere interessati gli organi (adenopatie, epatosplenomegalia, orchiepididimite). L'interessamento neurale si manifesta per lo più nei nervi ulnari, mediani, radiali, popliteali esterni e tibiali posteriori, con rischio maggiore nella TLep (rispetto alla LLep) di sviluppare anestesia (mani e piedi), paralisi (piedi cadenti o mani ad artiglio) e amiotrofia distale. Circa il 40% dei pazienti può sviluppare due tipi di stati reattivi: 1) reazione inversa (RR; infiammazione delle lesioni cutanee, neurite acuta grave) o "down-grading" (aumento del numero delle lesioni); 2) eritema nodoso leproso (ENL; vasculite con noduli eritematosi eruttivi e dolorosi, febbre, neurite, tumefazione articolare) o "fenomeno di Lucio" (vasculite granulomatosa con macule necrotiche dolorose).

**Diagnosi:** si basa sul quadro clinico, istopatologico e batteriologico. La biopsia cutanea è utile per differenziare le forme. L'esame degli strisci cutanei da ferite ischemizzate per compressione permette di valutare quantitativamente la carica batterica, di solito basso o nullo nella TLep, spesso elevato nella LLep. La PCR sui tessuti identifica con esattezza l'rRNA 16s del *M. leprae* nei casi di LLep e le mutazioni genetiche che inducono la resistenza antibiotica. Il test è in genere negativo nella TLep e fornisce solo un riscontro qualitativo.

**Diagnosi differenziale:** si pone con le eczematidi ipocromiche, il granuloma, l'eritema e la sarcoidosi anulare e i dermatofiti nella TLep; la pitiriasi

versicolor, l'ipomelanosi post-infiammatoria, la sarcoidosi papulo-nodulare o ipocromica, il sarcoma di Kaposi, la sifilide, il linfoma e la leucemia cutanea nella LLep.

**Terapia:** Il trattamento è di due tipi: paucibacillare (PB; fino a 5 lesioni cutanee) e multibacillare (MB; più di 5). La terapia raccomandata associa 2 antibiotici (PB) o 3 (MB): rifampicina, dapsone e clofazimina. In alcuni casi, sono usati altri farmaci (ofloxacina, minociclina, claritromicina). La durata del trattamento è di 6 mesi (PB) o almeno 1 anno (MB). Gli stati reattivi sono trattati con corticosteroidi sistemici e a volte con neurolisi chirurgica per la RR, e con talidomide, corticosteroidi o pentoxifillina per l'ENL.

**Prognosi:** è favorevole, se il trattamento antibacillare e antireattivo è tempestivo. In caso contrario, la malattia esita in disabilità neurologiche non reversibili.

29 gennaio, Giornata mondiale dei malati di lebbra

Codice esenzione: RA0010

---

## Malattia di Lyme (Borreliosi di Lyme)

**Definizione:** Si tratta di una malattia infiammatoria trasmessa da zecche del genere *Ixodes*. Prende il nome dalla città di Lyme, nel Connecticut, dove si registrò una serie di casi nel 1975.

**Epidemiologia:** La patologia è diffusa negli USA ma anche in Europa, ex URSS, Giappone e Cina.

In Italia i primi casi si sono osservati negli anni Ottanta, soprattutto in Liguria, Friuli, Veneto, Emilia Romagna e Toscana. L'incidenza è variabile e in Europa è stimata in circa 1-70/20.000.

**Eziologia:** La malattia è provocata da una spirocheta, la *Borrelia burgdorferi*, che penetra attraverso la cute con il morso di zecca. Può colpire i linfonodi (e causare adenopatia regionale) o diffondersi nel sangue e di lì ad altri organi e tessuti, interessando la cute con manifestazioni eritematose. Se si identifica una zecca a livello della pelle è raccomandabile fare poi attenzione agli eventuali segni e sintomi per un periodo di 30 giorni, e, in modo particolare al manifestarsi di una lesione cutanea nel sito della puntura (che può essere indice della malattia di Lyme) o di una temperatura corporea superiore ai 38°C.

**Infezione congenita:** La trasmissione di *B. Burgdorferi* al feto è di raro riscontro. Comunque sono stati segnalati dei casi di infezione fetale con disseminazione del microrganismo in vari organi e tessuti e morte intra-uterina del prodotto del concepimento.

**Patogenesi:** Il serbatoio naturale del batterio sono animali quali roditori,

cervi, animali domestici, zecche “mollì”. Le zecche “dure” (genere *Ixodes*; *Ixodes ricinus* in Europa) acquisiscono il batterio dopo periodici pasti ematici dall’animale serbatoio naturale e trasmettono quindi il batterio all’uomo (e anche al cane e al cavallo) con il morso. La trasmissione si verifica durante il pasto ematico per rigurgito del contenuto intestinale della zecca o per iniezione della saliva contaminata. Una volta penetrate attraverso la cute, le spirochete possono fermarsi a livello cutaneo, provocando lesioni caratteristiche, o anche migrare a distanza per via ematogena. L’espressione clinica caratteristica della malattia circoscritta, che si sviluppa in fase precoce, è l’eritema cronico migrante. La disseminazione del patogeno, invece, è responsabile sia di sintomi generali aspecifici, sia di franche manifestazioni d’organo. Le manifestazioni aspecifiche sono dovute alla liberazione di TNF-alfa e di IL-1beta. Le manifestazioni tardive della malattia sono dovute non solo alla persistenza della *Borrelia* nell’organismo ma anche ai fenomeni auto-immunitari di diminuzione dell’attività linfocitaria T-suppressore. L’evoluzione cronica, invece, consiste soprattutto in un’artrite cronica per intervento delle Interleuchine e per la liberazione endoarticolare di proteasi, collagenasi, prostaglandine e trombossani. In qualche caso c’è la possibilità di isolare il patogeno fino a 10 anni dopo l’esordio della malattia: ciò significa che il patogeno può persistere nell’organismo ospite dando oppure no manifestazioni cliniche.

**Clinica:** I sintomi clinici possono essere suddivisi in tre stadi. L’esordio si verifica dopo 3 giorni/1 mese dalla puntura di una zecca (di solito il paziente è cosciente della puntura) e si estrinseca con un eritema migrante, una lesione cutanea caratteristica che si manifesta successivamente in siti diversi del corpo. Lo stadio successivo è caratterizzato dalla disseminazione al sistema nervoso centrale (che esita in paralisi facciale, encefalite, ecc.), alle articolazioni, alla cute, al cuore e all’occhio. Il terzo stadio (cronico) si manifesta con sintomi articolari, neurologici e cutanei. La malattia si trasmette all’uomo con la puntura delle zecche contaminate (*Ixodes*), ma gli ospiti principali sono i roditori, gli uccelli e le lucertole.

**Diagnosi:** si basa sul riconoscimento del quadro clinico, considerando l’anamnesi (ricordo di morso di zecca) e l’esame obiettivo, con la sintomatologia tipica che si riferisce soprattutto all’eritema cronico migrante, durante lo stadio iniziale della malattia (non sufficiente per la diagnosi), sull’individuazione della *Borrelia burgdorferi* con l’analisi culturale, la PCR e il ritrovamento del DNA della *Borrelia burgdorferi*, o sull’identificazione di un aumento dei livelli degli anticorpi nei pazienti al secondo e al terzo stadio della malattia. Le comuni indagini di laboratorio possono evidenziare alterazioni aspecifiche: aumento di LDH e di transaminasi sieriche, aumento di VES, lieve

anemizzazione, aumento dei granulociti neutrofilici ed ematuria microscopica.

**Diagnosi differenziale:** Nella sindrome da affaticamento cronico e nella fibromialgia l'astenia, la cefalea, i disturbi ansioso-depressivi e i dolori muscolo-scheletrici sono più accentuati rispetto a quelli che si possono presentare nella malattia di Lyme, dove invece sono più evidenti l'infiammazione articolare e la risposta anticorpale specifica.

**Prognosi:** Generalmente buona per le forme riconosciute e trattate precocemente (anche se i pazienti possono lamentare astenia, artromialgie, cefalea per settimane o anche mesi). Poco si conosce riguardo alla prognosi delle forme cronicizzate.

**Terapia:** Il trattamento di elezione consiste nella somministrazione di antibiotici (amoxicillina e tetracicline); la terapia è tanto più efficace quanto più precocemente si somministrano gli antibiotici.

**Prevenzione:** consiste nell'eradicazione delle zecche e nell'adozione di misure protettive contro i morsi delle zecche sulle persone che visitano zone ad alto rischio

Codice esenzione: RA0030.

---

### Malattia di Whipple (Granulomatosi intestinale Lipofagica -Lipodistrofia Intestinale -Sprue Secondaria non Tropicale)

**D****efinizione:** La malattia di Whipple è un'infezione cronica rara. Detta anche lipodistrofia intestinale, poiché è osservato l'accumulo di materiale lipidico nei vasi linfatici intestinali e nei linfonodi. La malattia interessa maggiormente la mucosa dell'intestino tenue, ma anche altri organi (cuore, polmoni, occhi, cervello, etc.) sono coinvolti.

**Eziologia:** La malattia di Whipple (WD) è una patologia da infezione cronica, nella quale quasi tutti gli organi possono essere invasi da un batterio bastoncelliforme, il *Tropheryma whipplei*.

**Epidemiologia:** L'incidenza nei paesi dell'Europa centrale è inferiore a 1 per milione all'anno. Il *Tropheryma whipplei* è stato osservato negli impianti di depurazione delle acque di scarico e viene espulso attraverso le feci dai portatori sani e dai lavoratori degli impianti. Le circostanze che favoriscono l'infezione non sono note, ma si sospetta una predisposizione immunologica acquisita o genetica. Colpisce prevalentemente uomini di 30-60 anni, in maggioranza soggetti caucasici nell'Europa centrale e in Nord America.

**Clinica:** Il quadro clinico è variabile. Alcuni sintomi sono frequenti anche se non sono presenti necessariamente in tutti i pazienti: perdita di peso, poliartrite, diarrea/malassorbimento, febbre, linfadenopatia, valvulopatia cardiaca,

endocardite negativa all'esame colturale, pleurite, malattia infiammatoria dell'occhio e tenosinovite recidivante. In alcuni casi, possono essere presenti sintomi cerebrali complessi (comprese le disfunzioni cognitive, l'oftalmoplegia e il mioclono).

**Diagnosi:** Il *gold standard* per la diagnosi della infezione è il riconoscimento istologico, da parte di un patologo esperto, dei batteri bastoncelliformi fagocitati o liberi, attraverso la colorazione acida periodico-reattiva di Schiff (PAS) nei macrofagi della mucosa duodenale o di altri tessuti. Possono essere ottenuti risultati falsi positivi e falsi negativi. La diagnosi nei tessuti extraintestinali deve essere accertata con la reazione a catena della polimerasi (PCR), positiva al *Tropheryma whipplei*. Dato che la maggior parte dei pazienti affetti da WD con liquido cerebrospinale (CSF) infetto sono asintomatici al momento della diagnosi, il CSF deve essere esaminato in tutti i pazienti prima della terapia antibiotica.

**Diagnosi differenziale:** si pone con la poliartrite sieronegativa, la spondilite anchilosante, l'endocardite con esame colturale negativo, la vasculite, la sindrome da malassorbimento, il linfoma, la malattia cerebro-vascolare, la demenza, l'infezione da HIV, la micobatteriosi atipica e la sarcoidosi (si vedano questi termini).

**Terapia:** Il trattamento consiste, all'inizio, nella somministrazione di antibiotici (Trimethoprim-sulfametossazolo) per endovena, seguita da 12 mesi di terapia antibiotica di mantenimento. Di solito dà buoni risultati, anche se possono verificarsi delle ricadute. La WD non trattata è inesorabilmente progressiva e conduce al decesso per deperimento o/e per coinvolgimento del sistema nervoso centrale. Può essere necessaria supplementazione di ferro, folati, vitamina D e calcio in relazione al malassorbimento e dieta ipercalorica.

*Codice esenzione: RA0020.*

---

## Conclusioni

**L**e persone affette da malattie infettive rare incontrano moltissime difficoltà nel raggiungere la diagnosi, nell'ottenere informazioni, nel venire orientati verso professionisti competenti. Sono ugualmente problematici l'accesso a cure di qualità, la presa in carico sociale e medica della malattia, il coordinamento tra le cure ospedaliere e le cure di base, l'autonomia e l'inserimento sociale, professionale e civico.

I pazienti sono più vulnerabili sul piano psicologico, sociale, economico e culturale.

A causa della mancanza di sufficienti conoscenze mediche e scientifiche,

molti pazienti non vengono diagnosticati e le loro malattie non vengono riconosciute. Quindi, la presa in carico di questi pazienti è per lo più nella fase sintomatica. Queste difficoltà potrebbero essere sormontate attraverso interventi socio-politici appropriati.

**Conflitti di interesse.** *Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.*

## **Bibliografia/Sitografia**

Orphanet: database online sulle malattie rare e i farmaci orfani. Copyright, INSERM 1997. Disponibile su <http://www.orpha.net>. Accesso 19 maggio 2019.

### **HANSEN**

- E. Nunzi e D.L. Leiker, Manuale di Leprologia, Bologna, OCSI, 1990.
- R.Veronesi, R.Focaccia, ed. Tratado de Infectologia. São Paulo ed. Atheneu, 1996.
- G. Cook, Manson's P. Tropical Diseases, 12<sup>a</sup> ed., Saunders, 1998.
- D.M. Scollard, L.B. Adams, T.P.Gillis, et al. The continuing challenges of leprosy. *Clin Microbiol Rev.* 2006; 19:338-81..
- F. Latapì e A. Chevez-Zamora, The spotted leprosy of Lucio (la lepra manchada de Lucio). An introduction to its clinical and histological study, in *International Journal of Leprosy*, vol. 16, 1948, pp. 421-429.

### **LYME**

- Crovato F, Nazzari G, Fumarola D, Rovetta G, Cimmino MA, Bianchi G, Lyme disease in Italy: first reported case., in *Ann Rheum Dis*, vol. 44, n° 8, 1985, pp. 570-571, - CDC Lyme Disease Erythema Migrans Disease Retrieved May 13 2007
- Dandache P, Nadelman RB, Erythema migrans?, in *Infect Dis Clin North Am*, vol. 22, n° 2, 2008, pp. 235-60,
- Meyerhoff JO, Zaidman GW and Steele RW for Medscape Drugs & Diseases, Eds. Diamond HS et al. Lyme Disease Differential Diagnoses: Diagnostic Considerations Updated: Mar 14, 2016
- Hildenbrand, P.; Craven, D.E.; Jones, R.; Nemeskal, P. (2009). "Lyme Neuroborreliosis: Manifestations of a Rapidly Emerging Zoonosis". *American Journal of Neuroradiology*. 30 (6): 1079-87.
- Y. Hänsel, M. Ackerl e G Stanek, ALS-like sequelae in chronic neuroborreliosis, vol. 145, 7-8, *Wiener medizinische Wochenschrift* (1946), 1994, pp. 186-188.
- Feder, HM; Johnson, BJB; O'Connell, S; et al. (October 2007). "A Critical Appraisal of "Chronic Lyme Disease"" (PDF). *NEJM*. 357 (14): 1422-30.
- Blanc F1, Philippi N1, Cretin B1, Kleitz C2, Berly L2, Jung B1, Kremer S3, Namer IJ4, Sellal F5, Jaulhac B6, de Seze J7. Lyme neuroborreliosis and dementia. *J Alzheimers Dis.* 2014;41(4):1087-93.
- Dickson DW, Borreliosis and Alzheimer's disease. *Hum Pathol.* 1987 Dec;18(12):1303-4.
- Circolare n. 10 del 13 luglio 2000 Malattie trasmesse da zecche: cenni di epidemiologia
- misure di prevenzione, dal sito del Ministero della Salute

## WIPPLE

- Whipple, G. H. (1907). "A hitherto undescribed disease characterized anatomically by deposits of fat and fatty acids in the intestinal and mesenteric lymphatic tissues". *Bulletin of the Johns Hopkins Hospital*. 18: 382–93.
- Bai JC, Mazure RM, Vazquez H (October 2004). "Whipple's disease". *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* 2 (10): 849–60.
- Fenollar F, Puéchal X, Raoult D (January 2007). "Whipple's disease". *New England Journal of Medicine*. 356 (1): 55–66.
- Schneider T, Moos V, Loddenkemper C, Marth T, Fenollar F, Raoult D (March 2008). "Whipple's disease: new aspects of pathogenesis and treatment". *Lancet Infect Dis.* 8 (3): 179–90.
- Strayer DL, Rubin R, Rubin E (2008). *Rubin's pathology: clinicopathologic foundations of medicine*. Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins. p. 583.
- Marth T (November 2001). "The diagnosis and treatment of Whipple's disease". *Curr Allergy Asthma Rep.* 1 (6): 566–71.
- Longo, D; Faucy, A; Kasper, D; Hauser, S; Jameson, J; Loscalzo, Joseph (2012). *Harrison's Principles of Internal Medicine* (18th ed.). McGraw Hill Professional.
- Puéchal, X. (2009). "Maladie de Whipple". *La Revue de Médecine Interne*. 30 (3): 233–241.
- SJ McPhee, MA Papadakis. *Current Medical Diagnosis and Treatment 2012* McGraw-Hill Marth, T. (2009). "New Insights into Whipple's Disease – A Rare Intestinal Inflammatory Disorder". *Digestive Diseases*. 27 (4): 494–501.
- Deriban, G.; Marth, T. (2006). "Current concepts of immunopathogenesis, diagnosis and therapy in Whipple's disease". *Current medicinal chemistry*. 13 (24): 2921–2926.
- Relman DA, Schmidt TM, MacDermott RP, Falkow S (July 1992). "Identification of the uncultured bacillus of Whipple's disease". *N. Engl. J. Med.* 327 (5): 293–301.
- Dumler JS, Baisden BL, Yardley JH, Raoult D (April 2003). "Immunodetection of *Tropheryma whippelii* in intestinal tissues from Dr. Whipple's 1907 patient". *N. Engl. J. Med.* 348 (14): 1411–2.



## SPORT E MALATTIE RARE

Angelo E. Sberna

### Premesse

**L**o sport, l'attività fisica (movimento corporeo prodotto dai muscoli scheletrici che richiede un dispendio energetico) e l'esercizio fisico (attività fisica programmata e strutturata) sono importanti per il benessere di tutti gli individui, sia sani che malati. I benefici che ne derivano sono acclarati da tempo e fra questi vi è la diminuzione di diversi fattori di rischio di importanti patologie. L'Organizzazione mondiale della sanità (OMS) ha pubblicato sull'argomento alcuni documenti ed ha suggerito i livelli minimi di attività fisica (1).

Ecco schematicamente le raccomandazioni dell'OMS:

- bambini e ragazzi (5-17 anni): almeno 60 minuti al giorno di attività moderata-vigorosa, includendo almeno 3 volte alla settimana degli esercizi per la forza (anche giochi di movimento o attività sportive);
- adulti (18-64 anni): almeno 150 minuti alla settimana di attività moderata o 75 minuti di attività vigorosa (o loro combinazioni equivalenti) in sessioni di almeno 10 minuti per volta; in più, esercizi di rafforzamento dei maggiori gruppi muscolari (almeno 2 volte alla settimana);
- anziani (over 65 anni): come per gli adulti; aggiungere attività per l'equilibrio per la prevenzione delle cadute;
- chi ha difficoltà a seguire le suddette raccomandazioni deve effettuare attività fisica almeno 3 volte alla settimana e tenere uno stile di vita attivo e adeguato alle condizioni di salute.

A partire da questi livelli minimi le ulteriori attività o esercizi o sport sono favorevoli, purché siano praticati seguendo dei principi che i medici dello sport (MDS) e i laureati in scienze motorie (LSM) conoscono bene.

Come dimostra la parte della succitata raccomandazione dell'OMS rivolta a chi ha difficoltà, l'attività fisica deve essere proposta a tutti indistintamente, anche ai malati, in quanto benefica. Il paralimpismo ed il successo e la diffusione dell'AFA (attività fisica adattata) testimoniano che quando l'esercizio fisico è proposto in maniera razionale da parte di esperti, molte barriere culturali vengono abbattute. Anche i portatori di malattie rare (MR) possono godere dei benefici dell'attività fisica e degli sport, siano essi adattati o no.

Poiché il mondo dello sport e dell'esercizio fisico ha regole e norme e ha un suo "stato dell'arte", è bene conoscere qualcosa per inserirvisi correttamente.

Il MDS è lo specialista che può ben indirizzare e seguire quelli che si avvicinano a questo mondo, siano essi sani o malati.

Fatte queste premesse, vediamo quando i soggetti affetti da malattie rare ed i medici che li hanno in cura possono trovarsi ad interagire con la medicina dello sport e con le norme e prassi che la regolano. In ogni caso il rapporto fra paziente e medico dello sport deve essere sempre aperto nei confronti degli specialisti di branca e della Rete regionale delle MR.

I portatori di malattie rare incrociano la MDS essenzialmente in quattro circostanze:

- quando hanno necessità di una certificazione di idoneità sportiva;
- quando si allenano secondo un piano ben strutturato;
- se accade loro un evento sfavorevole durante l'attività sportiva;
- se, in trattamento con farmaci inseriti nella lista dei prodotti dopanti, possono essere sottoposti a controlli antidoping.

N.B. In questo scritto i termini “attività fisica”, “esercizio fisico” e “sport” se non riferiti a normative precise, non sono intesi nella loro accezione tecnica, ma come sinonimi.

Da rammentare che molte malattie rare consentono di svolgere attività sportive all'interno dell'organizzazione del CONI, ma alcune impongono un inquadramento nel CIP, Comitato Italiano Paralimpico.

---

## La visita di idoneità sportiva

**L**a visita di idoneità sportiva è diventata da qualche anno ancora più importante ai fini della prevenzione secondaria perché è l'unico screening da quando sono state soppresse la leva militare obbligatoria e la relativa visita. Dopo il Pediatra di libera scelta (PLS), il medico dello sport è il primo medico che una persona apparentemente sana incontra per una visita approfondita. Ci potrà essere così l'occasione di avviare un percorso per fare una diagnosi, anche se tardiva, di MR. Per di più la visita medico sportiva potrebbe far meglio inquadrare una sindrome rara, particolarmente riguardo il coinvolgimento e lo stato degli organi maggiormente sollecitati dallo sport. Nella realtà, talora alcuni specialisti approfondiscono solo le problematiche attinenti alle loro competenze, senza inquadrare appieno una MR.

Vediamo quali sono i certificati medico sportivi regolamentati in Italia e che grazie alla specifica visita di idoneità (in genere annuale) consentono di fare screening delle MR.

Certificazioni medico sportive regolamentate in Italia:

- per professionisti,
- per atleti disabili,
- ludico-motorie,
- per sport ad elevato impegno cardiovascolare,
- non agonistiche (2),
- agonistiche (3).

Approfondiamo ora brevemente questi ultimi due certificati, i più richiesti in assoluto. Essenzialmente differiscono per:

- l'uso (uno serve per il tesseramento per la pratica non agonistica di sport, quindi teoricamente con allenamenti meno intensi e frequenti; l'altro per la pratica dell'agonismo sportivo o per partecipare alle fasi nazionali dei giochi sportivi studenteschi);
- la qualifica del medico che li rilascia (per il primo è il proprio MMG o PLS, o uno specialista in medicina dello sport, o un socio della Federazione medico sportiva italiana; per il secondo esclusivamente uno specialista in medicina dello sport);
- la specificità (il primo è generico, quindi non legato allo sport; il secondo è specifico, quindi rilasciato limitatamente allo sport o agli sport richiesti);
- la necessità di accertamenti (il primo prevede un ECG una tantum, con alcune eccezioni che lo impongono più frequentemente; il secondo di norma si rilascia dopo avere fatto periodicamente un esame di urine, un ECG di base e dopo sforzo, una spirometria);
- la non idoneità (il primo non prevede un certificato di non idoneità; il secondo lo prevede in maniera ben regolamentata, con possibilità di proporre appello).

La MR può essere conosciuta o sconosciuta da parte del soggetto, ed il medico di conseguenza può essere nella stessa situazione. Per di più il MDS, avendo un rapporto in genere occasionale con il soggetto, potrebbe anche essere tenuto all'oscuro della patologia già precedentemente accertata. È possibile e non infrequente che durante la raccolta della anamnesi non venga comunicata la patologia, o per riservatezza e pudore, oppure per ottenere un certificato di idoneità senza complicazioni o rischi di diniego. È anche possibile che un piccolo paziente non conosca di essere portatore di MR, e che i genitori lo comunichino riservatamente al medico visitatore. Ovviamente la situazione ottimale è quando sia il soggetto che il medico dello sport conoscano la patologia ed il grado di evoluzione, per inserire al meglio lo sport in uno stile di

vita consono, con tutti i suoi benefici psico-fisico-sociali e con pochi rischi. Quindi durante la visita medico sportiva si verificano quattro possibili combinazioni di conoscenza da parte del medico visitatore e dello sportivo della presenza di patologia rara:

1. NO medico - NO sportivo
2. NO medico - SI sportivo
3. SI medico - NO sportivo
4. SI medico - SI sportivo

Nel primo caso siamo di fronte alla possibilità di fare un vero e proprio screening per diagnosi di malattia rara o sospettarla ed è importante che, come dovrebbe essere sempre, il medico ponga la massima attenzione all'esito degli accertamenti ed alla visita, particolarmente cercando delle "stigmati" tipiche. Il MDS è certamente uno dei massimi esperti di patologie cardiovascolari "silenti", proprio perché alcune possono manifestarsi inaspettatamente con la "morte improvvisa durante lo sport" e guarda sempre con attenzione nell'ECG la forma del complesso ventricolare rapido e del tratto ST e la lunghezza del QT, per evidenziare cardiomiopatie, preecitazioni, o canalopatie. È bene ricordare che esistono delle patologie a manifestazione "intermittente", e che quindi è possibile per esempio registrare in un atleta degli ECG normali, pur in presenza di una via anomala di conduzione. È anche importante guardare bene la cute, per la eventuale presenza di fibromi, o di macchie; notare anomalie dei capelli, o dell'attaccatura delle orecchie, o della posizione degli occhi, o dell'apparato locomotore; calcolare i valori assoluti e relativi di alcune misurazioni antropometriche, al di là della semplice rilevazione di altezza e peso che è sempre richiesta e da riportare in cartella, e così via. Per esempio talora è utile misurare il rapporto apertura delle braccia/altezza, o quello fra altezza da seduto ed altezza in piedi, per capire meglio la presenza di un "habitus"; o fare il test del pugno e del polso, che confermano quella che appare al primo sguardo una aracnodattilia. In definitiva la visita medico-sportiva deve essere indirizzata non solo al mero rilascio di un certificato, ma deve essere l'occasione di un vero screening preventivo, anche per le MR. Dato il grande numero delle MR è consigliabile, in presenza di segni considerati non normali, collegarsi ai siti di MR e, a partire da quelli, vedere in quali MR sono presenti, per approfondire questa evenienza e ricercare altri segni. La presa in carico del soggetto con sospetta MR va poi fatta dalla Rete regionale.

Nel caso in cui l'atleta o i parenti celino l'esistenza della patologia, ed il medico non se ne renda conto, questi deve avere a sua garanzia medicolegale la firma che attesta la veridicità dell'anamnesi da parte dello stesso atleta o dei genitori.

Quando si sa della malattia, allora è estremamente utile, anche ai fini medico legali, collegarsi ai siti sulle MR, stampare le pagine utili e allegarle in cartella e valutare tutti gli accertamenti sino a quel momento effettuati. Questo perché non sempre in presenza di una MR viene approfondito e appalesato agli interessati quanto essa sia sindromica; può capitare per esempio al medico sportivo di prescrivere, forse per la prima volta, una ecocardiografia ad un giovane con cheilognatopalatoschisi, già operato, non avendo certezza di precedenti approfondimenti cardiovascolari. L'ideale è che il soggetto arrivi alla visita con una relazione da parte del Centro della Rete delle MR o da parte dello specialista che lo segue.

Una volta inquadrata la MR e conosciuta la situazione degli organi e apparati che durante l'esercizio fisico hanno "aggiustamenti" (i meccanismi di risposta in acuto allo sforzo, come l'aumento di frequenza cardiaca e la vasodilatazione nei distretti muscolari soggetti a lavoro) e "adattamenti" (le variazioni anatomico-funzionali conseguenti all'allenamento protratto, come la bradicardia a riposo e la migliore capillarizzazione), bisogna valutare i rischi e benefici dello sport, per comprendere se l'attività può essere fatta liberamente, oppure in maniera condizionata da alcuni limiti od accorgimenti, o se si può fare solo attività adattata. L'attività fisica può infatti innescare, in alcuni soggetti che hanno determinate patologie, delle situazioni acute, che possono anche causare morte improvvisa durante lo sport, e potrebbe anche aggravare delle condizioni per le intense sollecitazioni ripetute nel tempo (per esempio nelle patologie caratterizzate da riduzione della resistenza dell'arco aortico, o da lembi mitralici prolassanti). Bisogna rammentare che non esistono solo, anche se sono le più attenzionate, le patologie rare dell'apparato cardiovascolare, ma anche di altri apparati, e che anche questi possono avere danni acuti o cronici da sport. Basti ricordare le patologie ossee e il rischio da sport di contatto, o le anidrosi con possibilità di danni da ipertermia. Il medico dello sport, anche sentiti gli specialisti di branca, quindi potrà rilasciare il certificato di idoneità sportiva agonistica per lo sport da praticare o già praticato, o suggerirne uno diverso, o fare un certificato di non idoneità, a cui l'atleta potrà appellarsi.

In caso di richiesta di certificato non agonistico da parte di un soggetto affetto da MR, è opportuno che i non specialisti coinvolgano lo specialista di medicina dello sport, anche se l'impegno psico-fisico dell'esercizio in teoria è minore.

Tutti i medici che si occupano di sport dovrebbero ben conoscere la Rete regionale delle MR, i siti come "Orphanet", ed avere facilmente contatti con gli altri specialisti di branca.

L'attività ludico-motoria è quella praticata da non tesserati alle associazioni

sportive riconosciute dal CONI (per i tesserati è necessario alternativamente il certificato agonistico o il non agonistico) ed il suo certificato (4) non è obbligatorio. In caso di ingresso libero in palestra, senza nessuna visita medica precedente (cosa che come abbiamo visto è legittima), diviene importante che i laureati in Scienze motorie (LSM) che lì lavorano abbiano ben presenti alcune stigmate, dei fenotipi che si possono riferire a malattie rare: l'aracnodattilia è un esempio. Si tratta quindi non di fare (cosa impossibile) una visita, ma di osservare con attenzione delle parti del corpo normalmente esposte e ben visibili. Lo stesso LSM, eventualmente, può anche ampliare il numero di rilevazioni antropometriche, le quali fanno parte della normale valutazione morfo-funzionale dell'atleta. Sorgendo dei fondati sospetti deve richiedere l'intervento di un medico per gli approfondimenti necessari. In tale maniera si fa un semplice, elementare screening di MR, e talora si evitano temibili conseguenze.

---

### La pianificazione dell'esercizio fisico e dell'allenamento

**L**a tematica è molto vasta e ci limitiamo a dare un inquadramento generale. Quando si fa un piano di allenamento per un individuo sano si considerano riguardo all'esercizio fisico (EF): tipo, intensità, durata, frequenza, gradualità, modalità di allenamento. Per una persona affetta da patologie, bisogna anche aggiungere i rischi, sia acuti che cronici (se l'EF provoca una progressione della malattia). Per il tipo (per cui come abbiamo visto esiste nell'agonismo una certificazione specifica di idoneità psico-fisica) bisogna avere ben presenti quali sono le attività a "rischio intrinseco", cioè che vengono svolte in condizioni ambientali potenzialmente pericolose (alpinismo, immersioni, ecc.), ed i rischi della persona ed eventualmente di terzi (avversari, spettatori) nel caso si usino mezzi meccanici ad elevata velocità. Il tipo di attività è finalizzato anche allo sviluppo di tutte o alcune caratteristiche dello sportivo (genericamente resistenza, forza, flessibilità, equilibrio). Come abbiamo visto dalle raccomandazioni dell'OMS, allenare solo la resistenza è insufficiente. Per l'intensità bisogna attentamente considerare che soprattutto in presenza di patologie è irrilevante il carico esterno (per esempio i chilogrammi di un peso sollevato), ma è fondamentale quello interno, cioè quello relativo al soggetto. Per esempio un carico di pesi di 20 Kg potrebbe essere il 50% del massimale di un atleta avanzato ed il 120% di una persona non allenata o di una persona che ha dei limiti intrinseci da patologia. Per la frequenza, è importante considerare che questa è in funzione dei tempi di recupero fra un allenamento ed il successivo. I tempi di recupero sono anche importanti fra un esercizio ed un altro, per cui per esempio in

una seduta di pesi è bene alternare i muscoli sollecitati (questo attiene alle modalità di allenamento). La gradualità è molto importante ed in presenza di alcune patologie è bene aumentare prima la durata, poi la frequenza, ed infine l'intensità dell'EF. Le valutazioni iniziali e dell'adattamento del soggetto al carico di allenamento vanno ben fatte e bisogna sempre avere presenti gli "allarmi" che impongono la sospensione durante l'allenamento, o che consigliano di diradarne la frequenza o di ridurli di intensità.

Fatti i suddetti cenni, si comprende meglio l'importanza di rivolgersi in alcuni casi ad un MDS per la prescrizione dell'EF e che la sua somministrazione e gestione vengano fatti da LSM esperti. In caso di soggetto portatore di MR bisogna valutare i rischi e di conseguenza stabilire i limiti, gli adattamenti del piano di allenamento e le eventuali precauzioni. In più sono da considerare eventuali riesacerbazioni della patologia. Ancora più importante il riferimento a professionisti nel caso che il soggetto assuma farmaci, in quanto anche le valutazioni ed il piano di allenamento debbono essere adattati. È sempre auspicabile la partecipazione nelle decisioni dello specialista di branca che segue il soggetto.

---

### Primo soccorso sportivo

**È** sempre possibile che sia necessario effettuare il primo soccorso durante una gara o un allenamento. È opportuno che i soggetti più fragili, come alcuni portatori di MR, abbiano attorno personale addestrato ed attrezzato, e che i medici sociali o gli allenatori siano a conoscenza, per poter meglio intervenire, delle patologie dei soggetti a loro affidati.

La normativa italiana impone tramite un decreto (5) che durante le gare che non si svolgano all'aperto si debba sempre avere a disposizione un defibrillatore funzionante e personale addestrato, a cura degli organizzatori, pena la sospensione della gara. Lo stesso defibrillatore deve essere presente negli impianti sportivi. Questo serve per meglio intervenire e cercare di evitare la morte improvvisa (MI) durante lo sport a causa dell'insorgenza di un ritmo cardiaco defibrillabile. È altrettanto importante avere nello staff della palestra o dell'associazione sportiva personale con nozioni di primo soccorso sportivo, come è auspicato dal CONI in forza del Decreto del Ministero della Salute del 24 aprile 2013. In Italia è divulgato con l'acronimo PSSD (primo soccorso sportivo e defibrillazione) dalla Federazione medico sportiva italiana (FMSI), perché mentre fortunatamente la MI è rara, altri eventi durante lo sport sono più frequenti, in particolare i traumi cranici. Questi possono avere gravissime conseguenze soprattutto in caso di "secondo impatto", a causa del periodo di vulnerabilità cerebrale post traumatica. Un atleta che ha

subito un trauma cranico potrebbe non rendersi conto della situazione, ed avere i riflessi non abbastanza pronti per evitare altri traumi, continuando a gareggiare con atleti che hanno delle prestazioni normali e quindi si impegnano alle migliori velocità.

---

## Antidoping

**T**alvolta il soggetto affetto da MR deve assumere dei farmaci. Le sanzioni per gli sportivi tesserati che usano sostanze o metodi vietati per doping sono non solo di tipo sportivo (squalifiche) (6), ma anche penali, prima in forza della legge 376/2000 (cosiddetta legge antidoping) e poi del successivo inserimento di un suo articolo all'interno del Codice penale (7). Un soggetto che assume farmaci e fa sport regolamentato deve controllare se i suddetti farmaci sono inseriti nella lista dei prodotti dopanti. Le liste in Italia sono due: quella della Agenzia mondiale antidoping (WADA), che è riportata nel proprio sito (8) ed in quello dell'Organizzazione italiana antidoping (NADO-Italia) (9), e la lista del Ministero della Salute (10), che viene pubblicata periodicamente sulla Gazzetta ufficiale. Le liste sono in pratica sovrapponibili, ma quella del Ministero è molto più organica e facile da leggere, in quanto si tratta di più elenchi, il più utile dei quali riporta tutti i nomi commerciali dei farmaci autorizzati in Italia e che contengono principi attivi considerati doping. Per facilitare ancora di più gli sportivi, un decreto attuativo della legge 376/2000 (11), impone che sui farmaci doping sia stampato un pittogramma che segnala la presenza di una sostanza vietata. Da rammentare che sono considerati doping non solo dei farmaci, ma anche per esempio l'uso di semplici soluzioni endovenose, che potrebbero essere usate fraudolentemente per abbassare l'ematocrito.

I soggetti che devono assumere farmaci inclusi nella lista dei dopanti possono farlo tranquillamente se autorizzati da una commissione (quella nazionale è presso la NADO-Italia), a cui ci si rivolge per avere una "TUE", cioè una esenzione ai fini terapeutici (12). La commissione, a suo giudizio, autorizzerà l'uso dei farmaci, il loro dosaggio ed il periodo di somministrazione.

Altra regola da sottolineare è che viene sanzionato come doping anche il possesso non giustificato di sostanze dopanti da parte di atleti o personale di supporto; quindi è bene che un soggetto affetto da MR che deve portare con sé tali farmaci, per esempio in spogliatoi in qualità di dirigente o tecnico o accompagnatore, faccia attenzione e possa sempre giustificarne il possesso. La consultazione di un MDS è utilissima per districarsi fra le norme antidoping ed evitare errori e relative conseguenze anche penali.

---

## Conclusioni

**D**a questa disamina appare come siano importanti i rispettivi ruoli del medico dello sport e del laureato in scienze motorie ai fini diagnostici; di miglior inquadramento di una sindrome; di corretta certificazione, prescrizione e pianificazione dell'esercizio fisico; di intervento di primo soccorso sportivo; nonché per consigliare i migliori comportamenti per evitare le sanzioni da doping involontario.

Attualmente il medico dello sport è un superesperto di diagnosi precoce di tante patologie cardiovascolari, anche rare (grazie all'opera della FMSI e della Società italiana di cardiologia dello sport in Italia negli ultimi anni c'è stato un crollo dell'incidenza di MI durante lo sport da miocardiopatia ipertrofica), e di sindromi, come quella di Marfan (è ancora vivo il ricordo della morte in campo di un atleta nazionale di pallacanestro, che tanto ha insegnato a chi rilascia certificazioni). Alla luce di tutto questo si auspica per il futuro che i medici dello sport, e per le loro competenze i laureati in scienze motorie, diventino sempre di più protagonisti, con il supporto delle Università e delle Società scientifiche, di una opera culturale che li renda ancora più esperti di tante altre malattie rare e del mondo che le circonda. Il presente manuale va nella giusta direzione.

In definitiva i medici dello sport ed i laureati in scienze motorie rappresentano delle utili risorse per il mondo delle malattie rare, ed i loro ruoli vanno ancora di più valorizzati.

**Conflitti di interesse.** *L'autore Angelo Sberna dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*

**Studi condotti su esseri umani e animali.** *L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte dell'autore.*

## ***Bibliografia/Sitografia***

<http://www.who.int/dietphysicalactivity/publications/9789241599979/en/>

Decreto del Ministero della Salute dell'8 Agosto 2014 "Linee-guida di indirizzo in materia di certificati medici per l'attività sportiva non agonistica"

Decreto Ministeriale del 18 febbraio 1982 e succ.

Decreto del Ministero della Salute del 24 Aprile 2013 e Legge del 9 Agosto 2013, n.98, Art. 42 bis

Decreto I.M. Salute e Sport del 26 giugno 2017 "Linee guida sulla dotazione e l'utilizzo di defibrillatori semiautomatici e di eventuali altri dispositivi salvavita da parte delle associazioni e delle società sportive dilettantistiche".

Successive edizioni delle Norme sportive antidoping - Documento tecnico-attuativo del Codice Mondiale Antidoping WADA e dei relativi Standard internazionali - a cura della NADO-Italia

DECRETO LEGISLATIVO 1 marzo 2018, n. 21 "Disposizioni di attuazione del principio di delega della riserva di codice nella materia penale a norma dell'articolo 1, comma 85, lettera q), della legge 23 giugno 2017, n. 103"

<https://www.wada-ama.org/en>

<http://www.nadoitalia.it/it/>

[http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2\\_4.jsp?lingua=italiano&tema=Prevenzione&area=antiDoping](http://www.salute.gov.it/portale/temi/p2_4.jsp?lingua=italiano&tema=Prevenzione&area=antiDoping)

Ministero della Salute - Decreto Ministeriale 24 settembre 2003: "Disciplina della tutela sanitaria delle attività sportive e della lotta contro il doping"

<http://www.nadoitalia.it/it/tue.html>

## LO SPORT PER SOGGETTI DISABILI

*Gaspare Majelli*

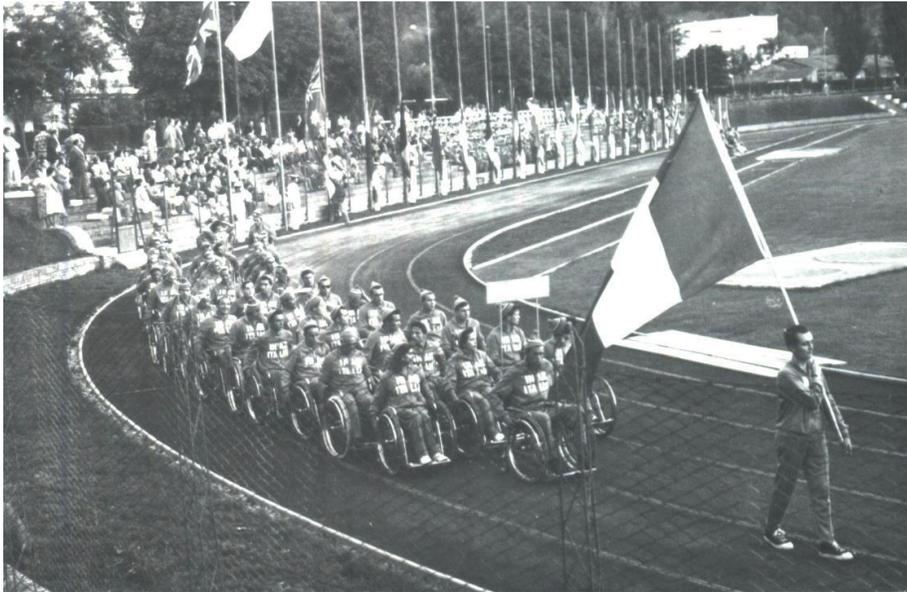
**M**olte malattie rare consentono di svolgere attività sportive all'interno dell'organizzazione del CONI, ma alcune impongono un inquadramento nel CIP, Comitato Italiano Paralimpico.

Tutti i soggetti con disabilità fisica, intellettuale e sensoriale provocate da patologie invalidanti congenite o acquisite lungo il percorso della vita a causa di malattie o traumi hanno la possibilità di praticare attività sportiva a tutti i livelli (da promozionale ad agonistica; da locale a internazionale).

Lo sport svolge un ruolo fondamentale per questi soggetti, sia dal punto di vista fisico/intellettuale che comportamentale. Dal punto di vista fisiologico permette il recupero ed il potenziamento delle capacità motorie (muscolari, articolari, cardiache e respiratorie) che determinano il miglioramento generale delle condizioni di salute e l'acquisizione di una migliore autonomia. Dal punto di vista psicologico facilita l'accettazione della realtà, aiuta la costruzione di un'immagine positiva di sé grazie allo sviluppo psicomotorio, e attraverso l'acquisizione di gesti motori favorisce il sentimento del successo scacciando quello dell'insuccesso e del senso di sfiducia provocata dalla condizione di disabilità. Dal punto di vista sociologico lo sport allontana dall'isolamento in cui si chiude chi vive una realtà invalidante e grazie all'integrazione nei nuovi contesti sociali (palestre, piscine, campi, ecc.) favorisce l'accettazione delle nuove condizioni ed una crescita umana sociale e culturale.

Chi per primo si rese conto di come lo sport potesse trasformare quella nuova condizione fu il medico tedesco Sir Ludwig Guttmann (il De Cubertin dei disabili), laureato a Oxford. Fuggito in Inghilterra a causa delle leggi antisemitiche, accettò un incarico a Stoke Mandeville (Londra) nel 1944, dove portò un'idea diversa di riabilitazione per i paraplegici, più attiva. Il suo intento era di reintrodurre queste persone nel mondo, prepararle alla vita che avrebbero ritrovato. Per questo motivo avviò dei laboratori all'interno del centro, dove gli uomini potevano praticare lavori manuali, come la falegnameria. La vera rivoluzione compiuta da Ludwig Guttmann, però, fu di avvicinare questi uomini all'attività sportiva. Lo sport divenne parte integrante del loro programma riabilitativo: ai malati fu imposto di esercitarsi a tiro con l'arco ogni giorno, praticare un'ora di tennis tavolo, giocare a basket, proprio con la stessa regolarità con cui si prende una medicina. Guttmann intuì che l'esercizio fisico avrebbe rinvigorito il corpo, la muscolatura che tendeva a indebolirsi a causa della paralisi e, allo stesso tempo, comprese che la sottile sfida da sempre insita nell'attività sportiva avrebbe ravvivato l'amor proprio dei malati, la loro dignità di uomini. La buona riuscita dell'iniziativa lo spinse

a allargare i propri orizzonti, nella direzione di vere competizioni sportive. Oggi in Italia l'attività sportiva per disabili è gestita dal Comitato Italiano Paralimpico (CIP) che grazie al DDL 1577 approvato nel 2015 è stato riconosciuto Ente pubblico, quindi un Ente parallelo al CONI con esclusiva competenza sullo Sport per Disabili. A livello internazionale fa riferimento all'International Paralympic Committee (IPC).



**Fig. 1.** Sfilata delle Paralimpiadi di Roma 1960 (Per gentile concessione del Comitato Paralimpico Italiano).

Le Federazioni Paralimpiche (le società sportive affiliate organizzano attività solo per atleti disabili) sono:

Federazione Italiana Sport Paralimpici e Sperimentali (Atletica, Calcio sperimentale)

<https://www.fispes.it/>

Federazione Italiana Sport Invernali Paralimpici

<https://fisip.it/>

Federazione Italiana Sport Paralimpici Degli Intellettivo Relazionali

<https://www.fidir.it/>

Federazione Sport Sordi Italia

<http://www.fssi.it/>

Federazione Italiana Pallacanestro in carrozzina

<https://www.federipic.it/>

Federazione Italiana Paralimpica Sport per Ipo vedenti e Ciechi

<http://www.fispic.it/>

Federazione Italiana Nuoto Paralimpico

<https://www.finp.it/>

Le società appartenenti a queste federazioni organizzano attività solo per atleti disabili e in genere solo per la disciplina di riferimento. Gli ipo e non vedenti praticano atletica e nuoto con le federazioni paralimpiche di riferimento ed alcune discipline particolari come Torbal, Golbal, calcio a 5 con la Federazione Italiana Paralimpica per ipovedenti e ciechi. La FISDIR invece ha all'interno circa 20 discipline rivolte a tutti i soggetti con difficoltà intellettivo relazionale;

Il CIP inoltre per favorire un processo di integrazione ha dato mandato ad alcune Federazioni Olimpiche (quindi CONI) di organizzare e gestire anche l'attività per soggetti disabili.

#### **FEDERAZIONI OLIMPICHE:**

(le società sportive sono affiliate al CONI, ma le attività degli atleti disabili sono sotto l'egida del CIP)



**Fig. 2.** Fase di gioco di basket delle paralimpiadi del 1960 (Per gentile concessione del Comitato Paralimpico Italiano)

<http://www.comitatoparalimpico.it/federazioni.aspx?ID=9>

Federazione Italiana Scherma

<https://www.federscherma.it/>

Federazione Italiana Tiro con l'Arco

<http://www.fitarco-italia.org/>

Federazione Italiana Tennistavolo

<https://www.fitet.org/>

Federazione Italiana Tiro a Volo

<http://www.fitav.it/PageAction.do?servizio=security&metodo=home-Page>

Federazione Italiana Tennis

<http://www.federtennis.it/>

Federazione Italiana Sport del Ghiaccio

<https://www.fisg.it/web/>

Federazione Italiana Cronometristi

<https://www.ficr.it/>

Federazione Italiana Canoa Kayak

<http://www.federcanoa.it/>

Federazione Italiana Vela

<http://www.federvela.it/>

Federazione Ciclistica Italiana

<https://www.federciclismo.it/it/>

Federazione Italiana Canottaggio

<http://www.canottaggio.org/index1.shtml>

Federazione Italiana Sport Equestri

<https://www.fise.it/>

Federazione Italiana Bocce

<https://www.federbocce.it/>

Federazione Italiana Pallavolo

<https://www.federvolley.it/>

Discipline Sportive Associate (DSA), che non sono inserite nei programmi Olimpici

<https://www.coni.it/it/discipline-associate.html>

DSA Paralimpiche (le società sportive organizzano attività solo per atleti disabili)

Federazione Italiana Wheelchair Hockey

<https://www.fiw.org/>

Federazione Paralimpica Italiana Calcio Balilla

<http://www.fpicb.it/>

Federazione Italiana Sportiva Automobilismo Patenti Speciali

<https://www.fisaps.it/>

DSA del CONI (le società sportive sono affiliate al CONI ma le attività degli atleti disabili sono sotto l'egida del CIP)

Federazione Italiana Danza Sportiva

<https://www.federdanza.it/>

Federazione Italiana Sci Nautico e Wakeboard

<http://www.scinautico.com/>

Federazione Italiana Triathlon

<https://www.fitri.it/it/>

Federazione Italiana Pesistica

<http://www.federpesistica.it/>

Federazione Arrampicata Sportiva Italiana

<http://www.federclimb.it/>

Federazione Italiana Sport Orientamento

<https://www.fiso.it/>

Federazione Italiana Baseball Softball

<http://www.fibs.it/it/>

Federazione Italiana Hockey

<http://www.federhockey.it/>

Federazione Italiana Pesca Sportiva e Attività Subacquee

<http://www.fipsas.it/>

Federazione Italiana Golf

<http://www.federgolf.it/>

Enti di Promozione Sportiva che grazie a dei protocolli d'intesa con il CIP posso svolgere sul territorio nazionale attività di avviamento e promozionale per ragazzi disabili.

ENS - Ente Nazionale Sordi

<https://www.ens.it/>

ANFFAS - Associazione Nazionale Famiglie con Disabilità Intellettiva e/o Relazionale

<http://www.anffas.net/>

UIC - Unione Italiana dei Ciechi e degli Ipovedenti

<https://www.uiciechi.it/>

AICS - Associazione Italiana Cultura Sport

<https://www.aics.it/>

CSI - Centro Sportivo Italiano

<http://www.csi-net.it/>

UISP - Unione Italiana Sport Per tutti

<http://www.uisp.it/nazionale/>

CSAIN - Centri Sportivi Aziendali e Industriali

<https://www.csain.it/>

CNS LIBERTAS - Centro Nazionale Sportivo Libertas

<https://www.libertasnazionale.it/>

CSEN - Centro Sportivo Educativo Nazionale

<http://www.csen.it/>

ASI - Associazioni Sportive sociali Italiane

<http://www.asinazionale.it/>

US ACLI - Unione Sportiva ACLI

<https://www.usacli.org/>

FENALC – Federazione Nazionale Liberi Circoli

<http://www.fenalc.it/>

Per poter partecipare all'attività di avviamento alla pratica sportiva o all'attività Federale (cioè ai vari campionati) è necessario tesserarsi con una società sportiva affiliata almeno ad una delle Federazioni sopraindicate o ad un Ente di Promozione riconosciuto dal CIP. Il tesseramento oltre a consentire la partecipazione garantisce anche un'assicurazione che copre eventuali infortuni riportati o durante gli allenamenti o durante le gare.

Le società sportive per potersi affiliare devono necessariamente essere delle Associazioni Sportive Dilettantistiche ed avere lo statuto conforme ai nuovi dettami stabiliti dal CONI e dal CIP.

Ogni Federazione o Ente di Promozione Sportiva ha una struttura regionale che ha il compito di rappresentare e organizzare l'attività nel territorio.

*Conflitti di interesse. L'autore dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*



**QUARTA PARTE:**

**ATTUALITÀ IN TEMA DI DIAGNOSTICA  
DI LABORATORIO E STRUMENTALE PER  
LE MALATTIE RARE**

## NUOVI STRUMENTI D'INDAGINE E NUOVI APPROCCI METODOLOGICI IN DIAGNOSI GENETICA

Marco Fichera, Luigi Citrigno, Maria Muglia

**L**e malattie geneticamente determinate sono dovute ad alterazioni genetiche o genomiche che possono coinvolgere sia l'organizzazione strutturale del genoma che la normale successione delle basi azotate (sequenza) in porzioni critiche del nostro genoma quali geni o elementi regolatori. L'ordine di grandezza di tali alterazioni è estremamente variabile potendo comprendere modificazioni che vanno da una singola base fino a milioni di esse. A tutt'oggi, le tecniche di diagnosi genetiche in uso sono diverse e fondamentalmente dirette all'identificazione di un difetto genetico in un determinato spettro dimensionale. Queste considerazioni, insieme alle conoscenze acquisite sulle basi molecolari delle malattie da investigare, guidano il workflow diagnostico di laboratorio per una determinata malattia. Occorre ricordare questo contesto come variazioni genetiche e genomiche non siano *a priori* sinonimo di mutazioni patogenetiche e come solo un'attenta analisi dei possibili effetti biologici, la consultazione dei database e della lettura scientifica disponibili e la correlazione genotipo/fenotipo, possa aiutare a discernere una reale mutazione con significato clinico da un polimorfismo benigno.

---

### Test genetici: definizione e tipologie

**U**n test genetico è rappresentato dall'analisi del DNA, dell'RNA o dei cromosomi, per la ricerca di variazioni legate all'insorgenza di un fenotipo patologico. Le varianti ricercate possono essere a carico delle cellule germinali o somatiche, dando origine a fenotipi patologici detti rispettivamente costituzionali o acquisiti. I test genetici, secondo le attuali pratiche cliniche, possono essere suddivisi in test clinici e test di ricerca. I test clinici hanno lo scopo di fornire al probando una risposta certa e utile per la corretta diagnosi e conferma della patologia definita clinicamente. Solitamente, i test clinici possono essere rappresentati dai:

- a.** Test diagnostici propriamente detti: sono utilizzati per confermare oppure escludere una malattia genetica nota in pazienti affetti; questi test sono basati su tecniche approvate e che ricevono certificazioni di qualità nella loro esecuzioni;
- b.** Test predittivi: vengono effettuati in pazienti che non presentano la patologia conclamata ma che fanno parte di famiglie nelle quali è presente la malattia; essi possono essere di tipo presintomatico (Corea di

Huntington) oppure di predisposizione (come nella maggior parte delle forme di cancro ereditarie). L'impatto etico risulta essere molto importante in questo tipo di test, in quanto essi solitamente sono effettuati solo se la diagnosi precoce favorisce interventi utili a ridurre la patologia o la mortalità;

**c.** Test dei portatori: sono utili per identificare variazioni in soggetti che appartengono a famiglie affette da malattie a trasmissione recessiva, come nel caso delle talassemie;

**d.** Test prenatali: vengono effettuati per poter evidenziare eventuali variazioni presenti nel feto. Sono basati su tecniche che possono essere invasive, come l'amniocentesi, oppure possono prevedere l'utilizzo di tecnologie avanguardistiche, come lo studio del DNA fetale circolante nel sangue materno.

---

## Le anomalie cromosomiche

### I cromosomi

I cromosomi sono delle strutture con un'impalcatura proteica nelle quali il DNA è condensato in una serie di avvolgimenti di ordine crescente. Il genoma umano diploide è costituito da 23 coppie di cromosomi, 22 di essi sono detti autosomi e sono numerati in ordine crescente in base alla loro dimensione. Ad essi si affiancano i cromosomi X e Y, detti cromosomi sessuali. Sia anomalie nel numero di cromosomi, sia variazioni strutturali di essi, possono causare una malattia genetica.

### Aneuploidie

Concernono assetti genomici contraddistinti da un numero di cromosomi diverso dal normale. Possiamo ulteriormente distinguerle in trisomie (tre copie di un determinato cromosoma) e monosomie (una sola copia). Le aneuploidie sono fondamentalmente dovute a fenomeni di non-disgiunzione meiotica e, con l'eccezione dei cromosomi 13, 18 e 21 e dei cromosomi sessuali per le trisomie e dei soli cromosomi sessuali per le monosomie, non sono vitali se presenti costituzionalmente (in tutte le cellule dell'organismo).

### Anomalie strutturali

Comprendono le anomalie nelle quali il normale numero di cromosomi è mantenuto ma porzioni cromosomiche possono essere delete (eliminate), duplicate o infine, pur senza guadagni o perdite di materiale genetico, possono non essere nella loro corretta collocazione cromosomica. Quest'ultima classe comprende le anomalie cromosomiche bilanciate che, di norma, non

producono un effetto diretto sul fenotipo ma possono portare nei soggetti carrier alla produzione di gameti sbilanciati con successivi embrioni spesso non vitali o con malattie genetiche alla nascita. Porzioni di genoma in più o in meno possono agire sia alterando il normale dosaggio genico con possibili effetti fenotipici che di regola dipendono dal numero e dalla funzione dei geni coinvolti, sia destrutturando l'integrità di complessi regolatori del genoma (1). Occorre tuttavia far presente come diverse regioni del nostro genoma possano tollerare delezioni e duplicazioni senza indurre alcuna apparente compromissione fenotipica.

### **Disomie uniparentali**

Rappresentano una classe di anomalie cromosomiche nelle quali una coppia di cromosomi viene ereditata da un unico genitore mentre sia il numero che la struttura dei cromosomi sono mantenuti (2). Le disomie uniparentali (UPD) sono principalmente dovute a un fenomeno di non disgiunzione meiotica (trisomie e monosomie) seguito da un recupero del normale assetto diploide tramite meccanismi di perdita o rispettivamente di guadagno di un cromosoma (trisomic e monosomic rescue). Si distinguono le eterodisomie uniparentali dovute a non disgiunzione degli omologhi in meiosi I con presenza di due cromosomi uniparentali omologhi, dalle isodisomie dovute a non disgiunzione in meiosi II con presenza di due cromosomi originatisi da due cromatidi fratelli. I possibili effetti dell'eterodisomia sono legati al fenomeno dell'imprinting genomico, meccanismo attraverso il quale una parte dei nostri geni ha i propri alleli diversamente regolati a seconda che essi siano ereditati dal genitore di sesso maschile o femminile. Risulta chiaro che, in presenza di geni soggetti ad imprinting nel cromosoma coinvolto in una disomia, tale regolazione differenziale non può essere mantenuta in quanto entrambi gli alleli derivano dallo stesso genitore. Tale difetto di regolazione avviene per lo stesso motivo anche nei casi di isodisomia nei quali si aggiunge un rischio aumentato di malattie recessive dovuto ad una possibile mutazione recessiva che sarà presente in entrambi gli alleli identici.

---

### **Test diagnostici per le anomalie genomiche**

I principali test diagnostici per l'individuazione delle anomalie cromosomiche sono il cariotipo e i microarray a DNA. Entrambi questi test sono ad ampio spettro (genome-wide) in quanto permettono l'investigazione di tutto il genoma in un unico esperimento. La principale differenza risiede nella loro capacità risolutiva e nel tipo di alterazioni che esse sono in grado di identificare. I test genome-wide si differenziano da quelli locus specifici

poiché i primi possono essere utilizzati anche in assenza di un preciso sospetto molecolare mentre i secondi mirano a una specifica regione bersaglio normalmente coinvolta nella malattia da investigare. Di seguito vengono riportati i vari metodi e il loro potere risolutivo (**Fig. 1**).

METODO	RISOLUZIONE	SBILANCI	TRASL. BILANC.	UPD	GENOME WIDE
Cariotipo	5-10 Mb	Si	Si	No	Si
array	1-2 Kb	Si	No	Si per SNP-array	Si
FISH	100-200 Kb	Si	Si	No	Locus specifica
RT-PCR	Locus specifica	Si	No	No	Locus specifica
MLPA	Locus specifica	Si	No	No	Locus specifica

**Fig. 1.** Tabella riassuntiva delle più comuni tecniche utilizzate per lo studio dell'assetto genomico

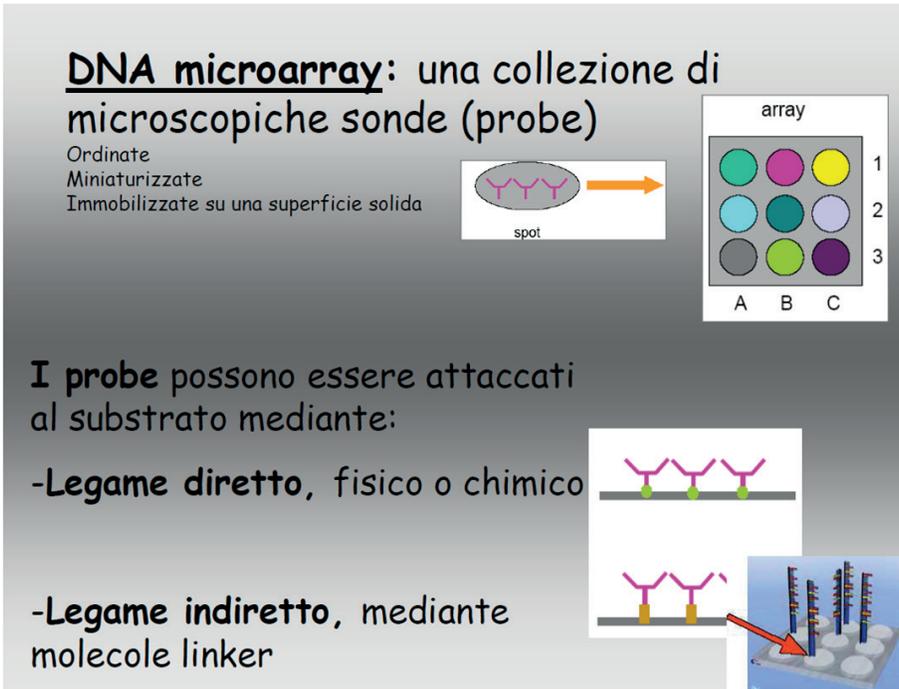
#### **a. Cariotipo o mappa cromosomica.**

Il cariotipo è il più antico test di diagnosi genetica (3) e ha permesso negli anni l'individuazione delle cause cromosomiche di moltissime malattie genetiche. Esso consente la visualizzazione al microscopio ottico dei cromosomi del nostro genoma, permettendo di verificarne il loro numero e la loro integrità strutturale. Il test viene di norma effettuato dopo coltura di cellule proveniente da un tessuto (usualmente sangue periferico) del soggetto da esaminare. La coltura cellulare in attiva mitosi è poi bloccata in metafase, quando i cromosomi sono altamente condensati e facilmente visibili, quindi opportunamente trattata con agenti osmotici per facilitare la rottura delle membrane e depositata su un vetrino. Le varie tecniche di bandeggio cromosomico successivamente utilizzate permettono a ciascun cromosoma di svelare il proprio pattern caratteristico di alternanza di bande chiare e scure, consentendo all'operatore, oggi con l'ausilio di specifici software di trattamento d'immagine, il riconoscimento di ogni singolo cromosoma e la ricostruzione dell'intera la mappa cromosomica per verificarne l'integrità strutturale e numerica. Il cariotipo è un potente

metodo di indagine ad ampio spettro che permette l'identificazione di eventuali aneuploidie, delezioni, duplicazioni e traslocazioni cromosomiche. Il suo ruolo è oggi ridimensionato a causa dell'impossibilità di identificare anomalie al di sotto delle 3-5 Mb (milioni di basi). Negli ultimi anni tale tecnica è stata in larga parte soppiantata da nuovi metodi di indagine ad alta risoluzione quali i microarray a DNA (4). Tuttavia, l'analisi del cariotipo (citogenetica classica) è ancora utilizzata per l'identificazione di anomalie che non prevedono la perdita o il guadagno di materiale genetico quali le traslocazioni cromosomiche bilanciate ma anche per l'identificazione di basse percentuali di linee cellulari con corredo cromosomico anomalo (mosaicismi) (5). Il cariotipo inoltre è ancora largamente usato quando, nell'ambito di gestazioni a rischio per marker biochimici o ecografici alterati o per età materna avanzata, sia consigliabile ricorrere a diagnosi citogenetica prenatale con analisi di cellule fetali provenienti da villi coriali o contenute nel liquido amniotico. L'inconveniente principale di tale analisi è rappresentato dall'invasività del prelievo che comporta il rischio non del tutto trascurabile di aborto. Per tutti questi motivi la citogenetica prenatale sta gradualmente cedendo il posto a metodiche basate su analisi di sequenza di ultima generazione (next generation sequencing o NGS) chiamate nel loro complesso NIPT (non-invasive prenatal testing). Tali tecniche non sono invasive in quanto basate sull'analisi del DNA fetale presente nel torrente ematico materno. Le analisi NIPT sono tuttavia ancora test di screening il cui risultato positivo deve essere confermato dalla citogenetica classica. Inoltre, a oggi, tali test non consentono di valutare l'intero genoma ma sono piuttosto focalizzati all'analisi dei cromosomi 13,18,21 e di quelli sessuali. È comunque prevedibile che il perfezionamento di tale metodica le consentirà in breve tempo l'investigazione dell'intero genoma.

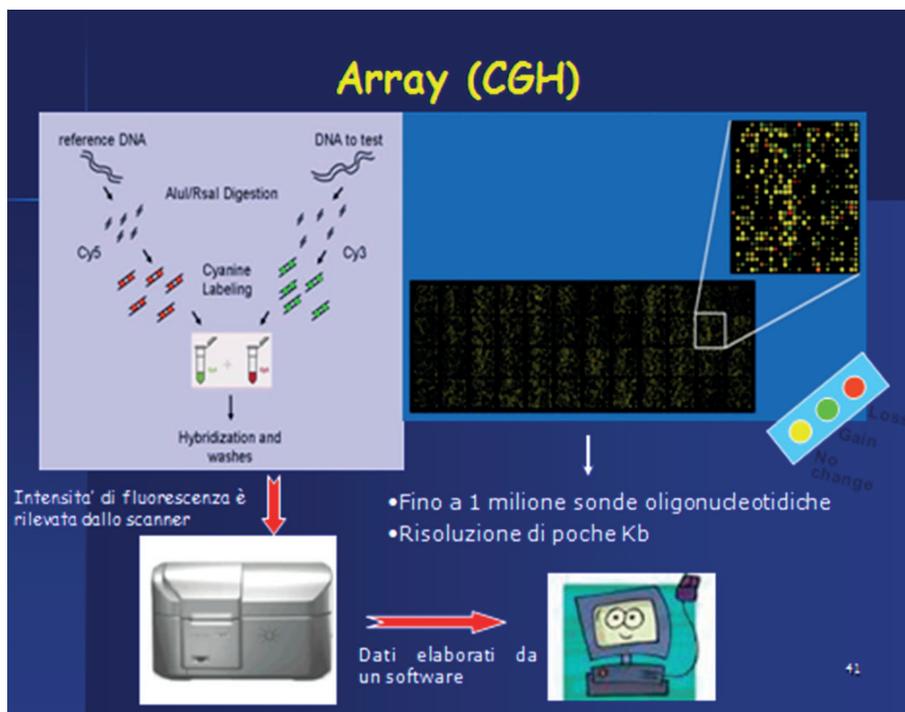
### **b. Microarray a DNA**

A partire dai primi anni 2000 il completamento del progetto genoma e l'avanzamento tecnologico nel campo della microelettronica hanno consentito la messa a punto delle tecniche di microarray a DNA, permettendo un'investigazione ad altissima risoluzione dell'integrità genomica. Queste tecniche si sono evolute in direzioni diverse ma, fundamentalmente, sfruttano l'ibridazione tra due filamenti complementari di DNA. Una serie di frammenti di DNA di poche decine di basi a singolo filamento, con sequenze e localizzazioni genomiche opportunamente intervallate lungo il genoma, sono depositi con vari metodi su di un vetrino con un ordine prestabilito e con distanze dell'ordine di decine di micron (**Fig. 2**).



**Fig. 2.** Costituzione schematica di un vetrino per l'analisi microarray.

Nella tecnica dell'Array-CGH (array- comparative genomic hybridization) (6), il vetrino sarà in seguito messo a contatto con una soluzione contenente sia il DNA del paziente da analizzare (DNA test) sia un DNA di riferimento precedentemente marcati con dei fluorocromi diversi e denaturati. Nel corso della successiva reazione di ibridazione, il DNA test e quello di riferimento competeranno tra loro per legarsi alle sequenze complementari presenti sul vetrino. Alla fine della reazione e dopo rimozione delle ibridazione non perfettamente complementari, ciascuno spot sul vetrino, comprendente una serie di frammenti identici di DNA, avrà una colorazione che dipenderà dalla relativa quantità di molecole del DNA test e di quello di riferimento che si saranno legate per ibridazione complementare competitiva alle molecole dello spot. L'intensità di tale colorazione per ciascuna delle migliaia di spot presenti sul vetrino messe in evidenza da una lettura laser a opportune lunghezze d'onda, è un indice della quantità relativa di DNA test e DNA di riferimento presenti sul vetrino. L'insieme di questi valori, normalizzati e analizzati con software statistici specialistici, è in grado di fornire una mappa genomica delle regioni in cui, rispetto al DNA di riferimento, il DNA test mostri un guadagno o una perdita di materiale genomico (**Fig.3**).



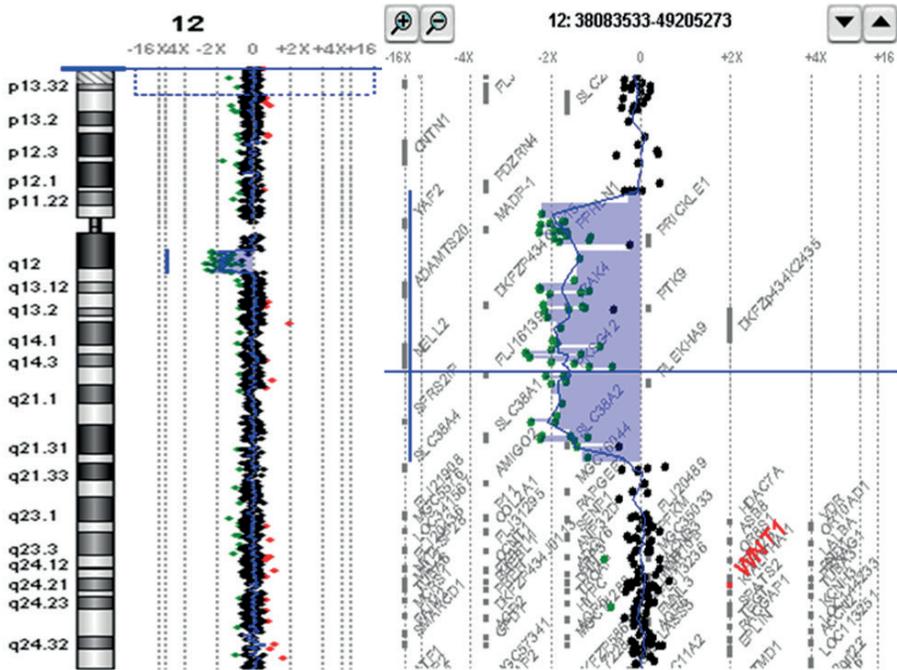
**Fig. 3.** Schema semplificato delle varie fasi previste per l'analisi Array-CGH.

L'array-CGH, la cui effettiva risoluzione dipende dal numero di sonde depositate su ogni singolo vetrino, permette oggi l'identificazione di guadagni o perdite anche inferiori a poche Kb. Essa tuttavia non consente né la messa in evidenza di anomalie bilanciate del genoma, né l'identificazione delle disomie uniparentali.

I software di visualizzazione permettono di visualizzare le anomalie riscontrate nel loro contesto genomico, insieme ad una mappa virtuale del cromosoma e della regione coinvolta (**Fig. 4**).

### SNP-array

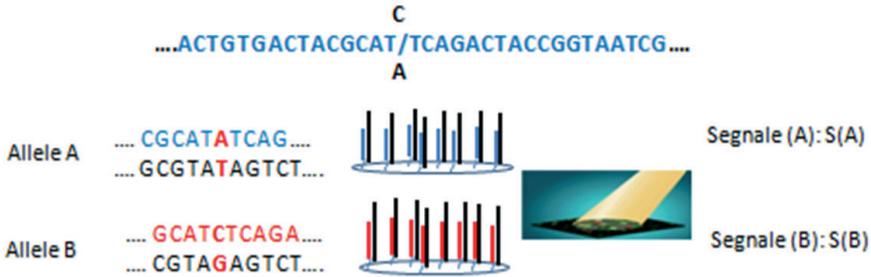
La tecnica SNP-array (7) si differenzia da quella Array-CGH principalmente per il tipo di sonde deposte sul vetrino. I frammenti sonda a singolo filamento usati negli SNP-array, contrariamente a quelli usati per l'array-CGH, contengono all'interno della loro sequenza una posizione la cui base può variare da individuo a individuo nella popolazione: rappresenta in altre parole un polimorfismo, chiamato tecnicamente SNP (single nucleotide polymorphism). Gli SNPs, presenti a milioni sul nostro genoma, non hanno usualmente



**Fig. 4.** Schermata di analisi di un software tipo per l'analisi array-CGH. Ogni punto rappresenta il valore del logaritmo in base 2 del rapporto tra il segnale del DNA test e quello del DNA di riferimento per una specifica sonda. Un numero statisticamente significativo di punti consecutivi lungo la regione cromosomica i cui valori si discostino in maniera congrua dalla normalità (rappresentata dal valore 0), indica la presenza di uno sbilanciamento genomico. La parte sinistra della figura rappresenta l'andamento dei valori lungo un intero cromosoma mentre nella parte destra è visualizzato un ingrandimento della porzione genomica nella quale è evidenziata una delezione genomica.

significato clinico ma la conoscenza del loro contenuto fornisce ai genetisti molecolari un'importante informazione anche in ambito puramente diagnostico, consentendo l'identificazione delle disomie e in generale delle regioni cromosomiche nelle quali vi sia un'anomala continuità di tratti identici nei cromosomi omologhi. Quest'ultima condizione, chiamata perdita di eterozigotità o loss-of heterozygosity (LOH), oltre che da fenomeni di isodisomia di un cromosoma, può anche derivare da consanguineità dei genitori del soggetto investigato e rappresentare un aumentato rischio di malattie recessive per la presenza in omozigosi di alleli deleteri nei tratti coinvolti. Deriva da quanto detto prima che i vetrini utilizzati nella tecnica SNP-array devono prevedere per ogni SNP investigato, sonde con due tipi di sequenza per potersi legare alle due possibili sequenze complementari dell'individuo

analizzato (**Fig. 5**). La lettura dell'intensità di ciascuno dei due spot per ogni singolo SNP, opportunamente normalizzato e comparato, darà l'informazione sul genotipo per ciascun SNP e una misura del dosaggio genico.

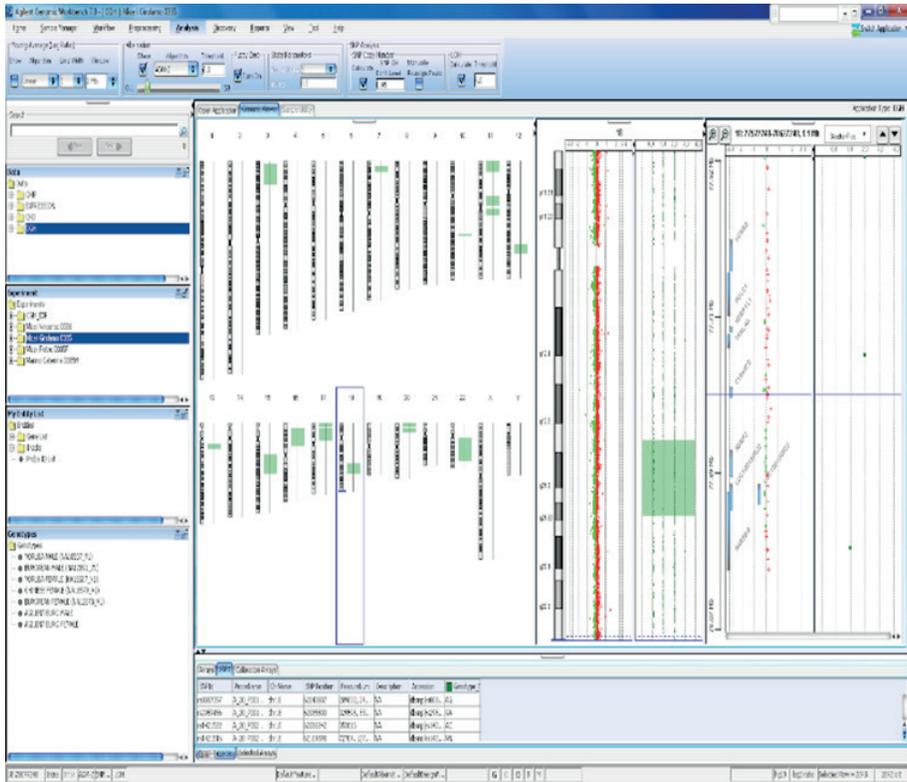


**Fig. 5.** Sonde SNP-array: L'investigazione di ogni SNP deve prevedere due sonde diverse, ognuna delle quali sarà complementare alle due possibili sequenze previste.

La copertura del genoma è più omogenea nel caso degli array-CGH in quanto le sue sonde possono rappresentare pressoché liberamente ogni punto del genoma mentre le sonde SNP-array dovranno essere complementari a sequenze genomiche contenenti uno SNP. Regioni genomiche povere in SNPs saranno quindi più scarsamente rappresentate negli SNP-array. Inoltre, per ragioni di stabilità termodinamica, i segnali prodotti dagli array-CGH hanno meno rumore di fondo con conseguente più bassa deviazione standard della loro distribuzione e possibilità di individuare un'alterazione anche in presenza poche sonde contigue sbilanciate. Per bilanciare pregi e difetti di ciascuna metodica, le industrie hanno recentemente sviluppato piattaforme miste con presenza contemporanea di sonde CGH e sonde SNP permettendo una copertura omogenea del genoma e l'individuazione di regioni LOH. Un esempio di tale piattaforma è fornito nella Fig. 6 con la messa in evidenza di diverse regioni cromosomiche con tratti LOH dovuti a consanguineità dei genitori.

### Array a DNA: validazione tecnica dei risultati

I dati forniti dall'analisi microarray sono frutto dell'elaborazione numerica di una quantità molto grande d'intensità dei segnali. È naturale quindi che più è grande il numero di segnali anomali più è alta l'affidabilità statistica della presenza dell'anomalia. Le alterazioni individuate tramite array e in particolar modo quelle che si basano sull'analisi di un numero esiguo di



**Fig. 6.** Piattaforma mista CGH-SNP/array. La complementarità delle due tecniche permette di evidenziare perdite di eterozigotità e sbilanciamenti in maniera omogenea lungo il genoma. Nella figura il software segnala in verde le regioni LOH presenti in un figlio di genitori consanguinei.

sonde sbilanciate, devono essere verificate tecnicamente con altri metodi. Inoltre, il dato array è un risultato sul dosaggio genico che, al contrario del cariotipo, non fornisce direttamente alcuna informazione topologica sull'anomalia. A titolo di esempio, una duplicazione di una regione cromosomica potrebbe trovarsi contigua alla regione da cui si origina oppure essere altrove sul genoma, con conseguenze funzionali del tutto diverse. Per queste ragioni, la tecnica d'elezione di convalida è rappresentata dalla FISH (fluorochrome in situ hybridization) (8). Tale tecnica di citogenetica molecolare comporta l'ibridazione di una sonda marcata con la regione target su cromosomi in metafase. Essa è dunque in grado al contempo di verificare l'alterazione e di fornire le informazioni topologiche mancanti. Per ragioni tecniche tuttavia, le piccole anomalie non possono essere verificate attraverso la FISH e necessitano dell'uso di tecniche di genetica molecolare quali la real-time PCR o

l'MLPA (Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification). Queste ultime tecniche sono estremamente affidabili nella convalida del dato ma non offrono tuttavia informazioni supplementari.

### **Array a DNA: Interpretazione clinica**

Le anomalie cromosomiche individuate tramite analisi del cariotipo sono di norma patogenetiche. La bassa risoluzione di questa tecnica infatti permette solo l'identificazione di alterazioni dell'ordine di diverse Mb, difficilmente non associate ad un effetto fenotipico. Fanno eccezione i polimorfismi cromosomici, ben conosciuti dai citogenetisti, i marker cromosomici, piccoli cromosomi soprannumerari che hanno bisogno di ulteriori indagini specifiche e le traslocazioni bilanciate. Queste ultime, pur non causando perdita di materiale genico, potrebbero alterare la struttura genomica in punti critici e risultare patogenetiche. Al contrario, l'analisi delle anomalie genomiche individuate tramite microarray a DNA, anche a causa della sua elevata risoluzione, pone spesso parecchi dubbi interpretativi. Ciò deriva dalla constatazione che il nostro genoma è in grado di tollerare guadagni o perdite di regioni cromosomiche senza tuttavia causare un apparente effetto fenotipico. In altre parole, vi sono molte regioni del nostro genoma che si possono discostare dal normale stato diploide senza causare un danno clinico. Il genetista molecolare deve quindi valutare se le variazioni del numero di copie (chiamate CNV o copy number variant) individuate appartengono alla classe di quelle tollerate (polimorfiche) o se invece possano rappresentare la base molecolare della malattia genetica investigata. L'analisi interpretativa rappresenta la fase più lunga dell'analisi array e richiede parecchia esperienza da parte dell'operatore (9). Quest'ultimo è guidato dalla consultazione di parecchi database internazionali periodicamente aggiornati comprendenti collezioni di CNVs identificate sia nella popolazione generale (quale database di Toronto <http://dgv.tcag.ca/dgv/app/home>) che quelli individuati durante lo studio su soggetti con sospette malattie genetiche (quali Decipher (<https://decipher.sanger.ac.uk/>) e il database dell'IRCCS Oasi M. SS. di Troina <http://gvarianti.homelinux.net/gvariantib37/index.php>). L'interpretazione richiede inoltre lo studio dei geni coinvolti, la verifica del genoma dei genitori e l'analisi della possibile correlazione genotipo/fenotipo. Quest'ultima fase richiede in maniera obbligatoria che la richiesta del test genomico debba giungere al laboratorio corredata da una dettagliata relazione clinica.

In carenza di dati conclusivi, non di rado il laboratorio non sarà in grado di fornire certezze interpretative sulle anomalie riscontrate. A questo riguardo e visto l'esponenziale aumento di conoscenze in questo campo, è da sottolineare come sia necessario rivalutare periodicamente le alterazioni identificate

durante test pregressi. Infine, come nel caso di altri test genetici di ultima generazione, è di primaria importanza stabilire una stretta collaborazione tra il centro clinico e il laboratorio per un'efficace analisi interpretativa dei risultati.

---

## Altre tecniche di genetica molecolare

### La Polymerase Chain Reaction (PCR)

Ideata nel 1985 da Kerry Mullis (10), questa tecnica ha rivoluzionato nel secolo scorso la biologia molecolare. Essa permette partendo da una quantità molto ristretta di DNA, la produzione di milioni di copie di una determinata porzione target del genoma. La PCR è un processo ciclico in cui nella prima parte i frammenti di DNA a doppio filamento vengono denaturati attraverso il calore (circa 95°C). La miscela di reazione è composta da due sequenze di innesco sintetizzate chimicamente che alla temperatura di 50-60°C sono in grado di legarsi col filamento da sintetizzare, i quattro deossinucleotidi trifosfato (dNTPs) e la DNA polimerasi che catalizza la produzione di nuovi filamenti complementari a quelli da copiare. Un singolo ciclo di reazioni impiega pochi minuti per raddoppiare la quantità di DNA iniziale, e il DNA neosintetizzato viene a trovarsi nello stato a doppia elica. Ripetendo il ciclo di reazioni (denaturazione, primer annealing, estensione del filamento) molte volte si ottiene un aumento esponenziale del numero di copie di DNA iniziale. Il DNA prodotto può essere studiato mediante numerose tecniche (Fig. 7). La PCR o le tecniche da essa derivate, sono spesso delle fasi necessarie in moltissimi test genetici quali quelli usati sia per validare anomalie di sbilanciamento identificate con altri metodi che come test diretti per valutare il corretto stato diploide di una determinata regione genomica. Inoltre questi test sono usati come saggi complementari al sequenziamento di Sanger per identificare delezioni o duplicazioni altrimenti non identificabili dalla sola analisi di sequenza.

### Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)

È un metodo estremamente rapido e sensibile che permette di quantizzare il numero di copie di molte sequenze di DNA o RNA contemporaneamente ed in una unica reazione di PCR utilizzando una sola coppia di primers (11). Il metodo sostanzialmente prevede l'utilizzo di due sonde oligonucleotidiche per ciascun target di interesse. Queste sonde sono costruite in modo tale da essere fiancheggianti la regione nucleotidica da analizzare e contengono all'estremità 3' e 5' sequenze che funzionano da inneschi o primers (sequenza X e sequenza Y), uguali per tutte le sonde in esame. Uno dei due primers

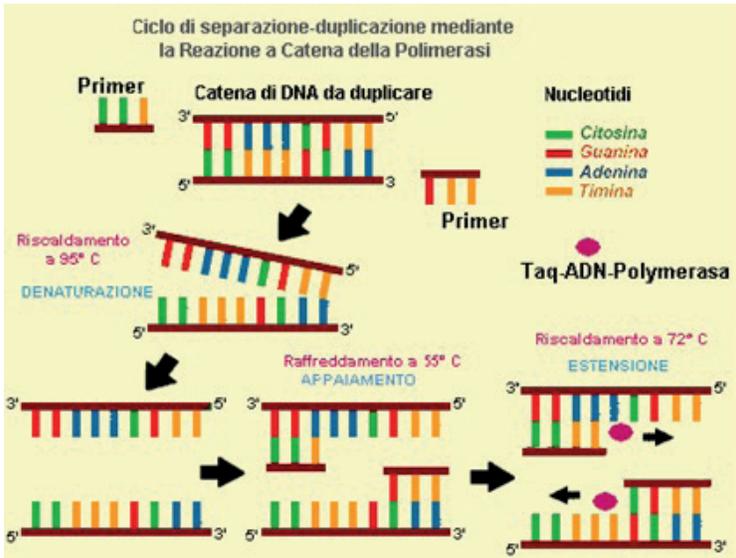


Fig. 7. Fasi della Reazione a catena della Polimerasi

è coniugato con un marcatore fluorescente; inoltre una delle sonde contiene una sequenza di lunghezza variabile (definite sequenze "stuffer") per l'analisi contemporanea di più target, permettendo di discriminare i vari amplificati mediante elettroforesi capillare. La caratteristica principale a livello biomolecolare dell'MLPA risiede nel fatto che non i campioni genomici bensì le sonde aggiunte a tali campioni sono amplificate e quantizzate ottenendo una stima precisa del dosaggio dell'acido nucleico rispetto a controlli normali. Infine l'MLPA è applicato con successo anche nel profilo di metilazione nei difetti dell'imprinting (Fig. 8).

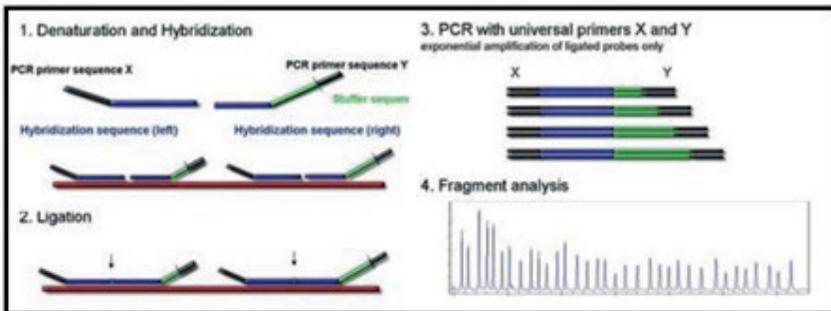


Fig. 8. Schema delle fasi della tecnica MLPA: 1. Denaturazione e ibridazione sonde; 2. Ligazione; 3. Amplificazione con primer universali; 4. Analisi dei frammenti mediante elettroforesi capillare.

## Real-Time PCR

La Real-Time PCR permette la misurazione “in tempo reale” del DNA amplificato e, attraverso la valutazione del numero di cicli al quale il prodotto di PCR supera la soglia di rilevabilità in appositi termociclatori in grado di registrare la fluorescenza, è in grado di valutare il dosaggio dell’acido nucleico relativamente ad uno standard di riferimento (12).

Essa può essere effettuata con due differenti chimiche di reazione:

1. utilizzo di coloranti fluorescenti che si intercalano nella doppia elica del DNA amplificato
2. utilizzo di sonde fluorescenti specifiche per il tratto di DNA da amplificare. (23)

### PCR Real-time con SYBR Green dye

Il Sybr Green dye è una molecola fluorescente che durante la reazione di PCR Real-time si intercala all’interno del doppio filamento di DNA originatosi ad ogni ciclo di amplificazione. Il limite della chimica Sybr green deriva dal fatto che la molecola del colorante fluorescente si lega indistintamente a tutti i frammenti di acido nucleico a doppia elica. Quindi per evitare risultati falsi positivi, i parametri di ogni reazione di amplificazione (scelta di primers specifici, concentrazione del campione, ecc.) devono essere ottimizzati.

PCR Real time – Uso di sonde fluorescenti

Le sonde sono sequenze oligonucleotidiche rese fluorescenti da alcuni fluorocromi.

La sonda più comune è la sonda ad idrolisi TaqMan (sonda dual-labeled). Tale sonda ibridizza un tratto di genoma interno al frammento di DNA amplificato dalla coppia di primers.

All’estremità 5’ della sonda è legato il Reporter, fluorocromo ad alta energia.

All’estremità 3’ è legato il Quencher, fluorocromo a bassa energia.

Quando i fluorocromi sono legati alla sonda, i fotoni emessi dal Reporter sono assorbiti dal Quencher, che ha minore livello energetico (**Fig. 9**).

La fluorescenza emessa in fase di amplificazione è registrata da software dedicati che visualizzano il segnale di fluorescenza come curve di amplificazione. Le curve sono riportate su monitor collegati al termociclatore. L’emissione di fluorescenza è direttamente proporzionale alla quantità di DNA presente.

Per elevate concentrazioni di DNA le curve di amplificazione si registrano già dopo i primi cicli di PCR (**Fig. 10**).

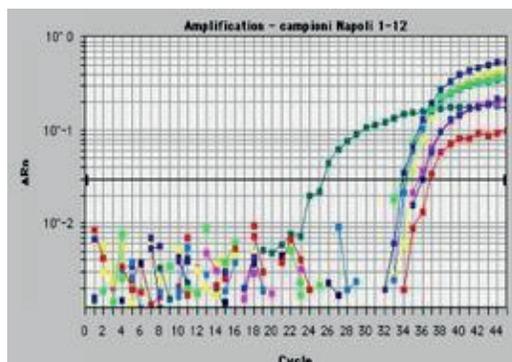


Fig. 9. Grafico dei cicli di amplificazione mediante Real Time PCR.

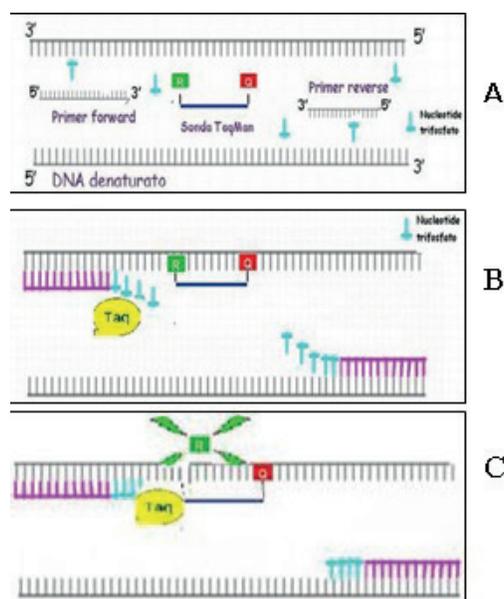


Fig. 10. Fasi della Real Time PCR mediante l'uso della sonda ad idrolisi di tipo TaqMan. A: Denaturazione del DNA; B: Appaiamento dei primers e della sonda. C: Sintesi del DNA ed idrolisi della sonda con conseguente emissione di fotoni.

## Test di sequenziamento del DNA

Moltissime varianti del nostro genoma sono dovute a cambi nella sequenza del DNA che interessano uno o pochi nucleotidi. Esse si originano fisiologicamente sia per errori durante la replicazione del DNA, sia per danni indotti da agenti chimici o fisici. Malgrado esse siano per la maggior parte corrette dai meccanismi di riparazione del DNA, alcune persistono nel genoma cellulare e possono dare origine per successiva divisione a cloni cellulari mutati. L'effetto biologico e il destino di queste varianti è estremamente variegato e dipende essenzialmente dalla linea cellulare implicata, dal tipo di cambiamento e dall'importanza della regione

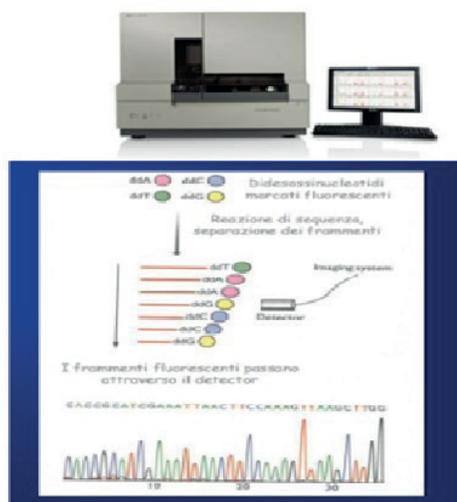
genetica coinvolta. A questo riguardo è importante distinguere le mutazioni delle linee cellulari somatiche da quelle germinali. Solo quest'ultime possono infatti essere trasmesse alla progenie tramite produzione di gameti mutati e di un individuo con la variante presente in tutte le proprie cellule. Le varianti genetiche deleterie che colpiscono la linea somatica hanno molto più raramente un effetto fenotipico. Specifiche eccezioni sono rappresentate dalle mutazioni avvenute precocemente durante lo sviluppo embrionale e fetale e da quelle che conferiscono un evidente vantaggio selettivo come nel caso di processi neoplastici. Per ragioni probabilistiche, la maggior parte delle varianti avviene nelle regioni non codificanti del nostro genoma, essendo questa porzione di gran lunga più grande di quella codificante. Con le dovute eccezioni, cambiamenti in queste regioni non provocano un fenotipo cellulare. Le variazioni a livello dei geni possono invece avere svariati effetti funzionali comprendenti cambi della sequenza amminoacidica della proteina (mutazioni missense), produzione di proteine tronche (mutazioni nonsense, di splicing o frameshift), o disregolazione dell'espressione genica (mutazioni nel promotore o altri siti regolatori). Per tutte queste ragioni, le sequenze geniche, che comprendono circa l'85% di tutte le variazioni patogenetiche ad oggi conosciute, rappresentano il principale target diagnostico in genetica molecolare. Nel corso degli anni si sono evolute varie tecniche volte all'individuazione di possibili anomalie di sequenza. Tuttavia molte di esse erano principalmente test di screening (es. dHPLC) che precedevano e indirizzavano le tecniche di sequenziamento del DNA verso precise regioni da analizzare.

### **Il sequenziamento degli acidi nucleici secondo il metodo di Sanger**

Il metodo di sequenziamento del DNA con dideossinucleoterminali o metodo di Sanger, da lui ideato negli anni '70 (13), consta di tre fasi: la preparazione del campione, la reazione di sequenziamento, l'elettroforesi. La fase di preparazione del campione è rappresentata dalla PCR. La reazione di sequenziamento non è altro che una reazione di PCR in cui però è presente solo un primer che consente pertanto che venga copiato solo il filamento specifico per il primer utilizzato. Inoltre, nella miscela di reazione oltre ai quattro nucleotidi (dATP, dCTP, dGTP, dTTP), sono presenti i 4 dideossinucleosidi trifosfato che non hanno il gruppo -OH in posizione 3' dello zucchero non consentendo, quindi, il legame del nucleotide successivo come avviene nella replicazione naturale del DNA. Per questo motivo la sintesi si arresta nella posizione in cui un ddNTP è stato incorporato all'estremità in accrescimento di un filamento di DNA (fase di terminazione). Nel sequenziamento automa-

tico si può allestire una singola reazione inserendo i quattro ddNTPs marcati mediante l'incorporazione di un composto fluorescente, diverso per ogni base. La replicazione del DNA procede e nella provetta si viene a trovare una miscela di filamenti stampo del DNA insieme ad una varietà di filamenti neosintetizzati più corti. Il prodotto ottenuto viene purificato per eliminare i ddNTPs in eccesso e sottoposto ad elettroforesi. Durante la corsa elettroforetica, i frammenti vengono letti in ordine di lunghezza crescente da un fascio laser che eccita i marcatori fluorescenti. L'intensità della luce emessa viene misurata e l'informazione inviata ad un software.

L'introduzione dell'elettroforesi capillare per la separazione dei frammenti marcati ha consentito un notevole aumento della processività. Sono stati sviluppati modelli di sequenziatori automatici che sono in grado di eseguire corse elettroforetiche multiple su apparecchi multicapillari (**Fig. 11**).



**Fig. 11.** Rappresentazione in alto del sequenziatore capillare ABI3130 (Life Technologies) e di un elettroferogramma di sequenza in basso.

## Il sequenziamento di nuova generazione - “Next Generation Sequencing (NGS)”

Il sequenziamento di nuova generazione, noto anche come sequenziamento massivo e parallelo, comprende un insieme di tecnologie di biologia molecolare, chimica ed informatica utilizzate per sequenziare gli acidi nucleici in un tempo relativamente breve e a basso costo rispetto al metodo di Sanger (14). Da un punto di vista analitico, mentre con Sanger è possibile analizzare solo un gene per volta, con la NGS è possibile prendere in esame più geni con-

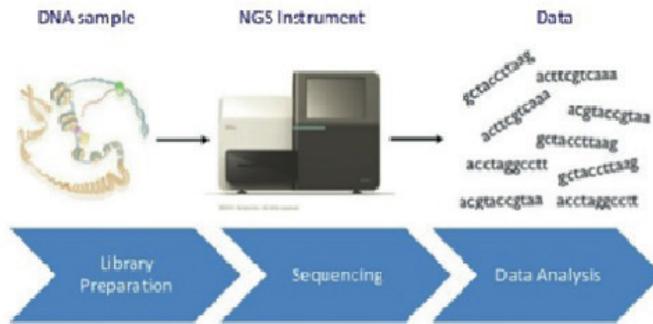
temporaneamente ed in più campioni in uno stesso esperimento attraverso un metodo di marcatura delle sequenze (barcoding), che, nella fase di analisi informatica, permette di contraddistinguere e separare le sequenze proprie di ciascun campione (15).

I test genetici basati su NGS possono essere suddivisi in base all'ampiezza della porzione di genoma analizzata.

- Sequenziamento mirato di pannello di geni (Targeted NGS testing o Panel NGS testing);
- Sequenziamento dell'intero esoma (Whole exome sequencing; WES);
- Sequenziamento dell'intero genoma (Whole genome sequencing; WGS);

Attualmente, le diverse tecnologie NGS esistenti hanno delle procedure comuni che vanno dalla preparazione del campione a partire dagli acidi nucleici alla creazione di una libreria di frammenti clonali, seguiti da processi di arricchimento, sequenziamento e analisi dei dati. (Fig. 12).

Anche se il workflow risulta essere comune, le strategie di preparazione del campione e di sequenziamento possono variare tra le diverse piattaforme disponibili attualmente sul mercato.



**Fig. 12.** Pipeline di analisi del sequenziamento del DNA mediante Next Generation Sequencing.

### Targeted NGS testing

Il sequenziamento mirato di pannelli genici inizia ad essere una pratica di routine anche nei piccoli laboratori ed effettivamente è più utile nella diagnosi di genetica clinica rispetto al WGS o al WES.

L'uso del Targeted NGS testing è auspicabile nel caso di condizioni con elevata eterogeneità genetica nelle quali mutazioni in un numero ridotto di geni

sono responsabili della maggioranza dei casi (> del 50%). Tale strategia è indicata anche nello screening mutazionale di geni molto grandi come ad esempio il gene NF1 (57 esoni), responsabile della Neurofibromatosi di tipo 1, la cui analisi completa mediante il sequenziamento tradizionale risulta lunga e costosa (16).

I vantaggi dell'uso di pannelli mirati sono: i costi ridotti, l'uso di apparecchiature meno dispendiose, copertura elevata nelle regioni di interesse e quindi la probabilità di rilevare eventuali mosaicismi (17). Gli svantaggi sono rappresentati dalla mancanza di un aggiornamento continuo per nuovi geni e dall'analisi di un successivo esoma in soggetti che rimangono senza una diagnosi.

### **Whole Exome Sequencing - WES**

Il "Whole Exome Sequencing - WES" consiste nel catturare e sequenziare solo la parte codificante del genoma (circa 1,5% del totale) poiché è ampiamente dimostrato che almeno l'80% delle mutazioni patogene è localizzato negli esoni, le parti codificanti del genoma.

L'esecuzione di un WES è particolarmente indicata nel caso di condizioni con elevata eterogeneità genetica dove è coinvolto un numero sempre crescente di geni, ma ognuno è responsabile di una bassa percentuale di casi (per esempio nelle paraparesi spastiche ereditarie, nella malattia di Charcot-Marie Tooth, nelle retinopatie etc.) (18). In tal caso l'analisi dei dati ottenuti può essere limitata al pannello di geni responsabili (pannello "in silico"). Se l'analisi di un pannello di geni risulta negativo, i dati esomici restano comunque a disposizione per eventuali indagini successive indirizzate alla ricerca di nuovi geni candidati o per l'analisi di geni causativi identificati in un secondo tempo.

Questo pone dei limiti nella diagnosi genetica: essendo valutati tutti i geni codificanti presenti nel genoma c'è un aumento del numero di nuove varianti identificate di dubbio significato patologico. Pertanto, l'analisi del WES richiede il confronto con un numero significativo di individui affetti.

### **Whole Genome Sequencing - WGS**

Attualmente, la grande concorrenza esistente tra le tante aziende che si occupano di sequenziamento ha reso possibile l'analisi di tutte le 3 miliardi di paia di basi del genoma con costi estremamente ridotti rispetto al passato. Basti pensare che il costo della prima bozza del genoma umano è stato di circa 3 miliardi di dollari, mentre oggi un sequenziamento dell'intero geno-

ma ha un costo che oscilla tra 1000-3000 €. Fondamentalmente, sequenziare tutto il genoma porta ad avere un'informazione genetica completa, sia delle parti codificanti che non del genoma, che potrà essere utilizzata per molteplici scopi anche in un futuro prossimo, quando sarà più facile e saranno presenti mezzi bioinformatici più potenti per effettuare un'analisi comparativa tra milioni di genomi sequenziati in diverse persone. Attualmente, anche se la pratica di "digitalizzare" tutto il genoma di un individuo ha dei riscontri molto interessanti, soprattutto sotto un punto di vista scientifico e di ricerca, questi test genetici sono ben oltre la portata di un'esigenza diagnostica immediata e pongono alcuni rischi soprattutto sotto un punto di vista bio-etico. Il neurologo Americano Lupsky fu uno dei pionieri nell'utilizzo di questa tecnologia per l'identificazione di un nuovo gene in una famiglia affetta dalla malattia di Charcot-Marie-Tooth (19).

### **Analisi dei dati NGS**

L'analisi dei dati consta di tre fasi: allineamento, variant calling e filtraggio/annotazione. Numerosi software sono disponibili per effettuare sequenzialmente queste fasi (20-27), la maggior parte dei quali necessita del sistema operativo Linux.

#### **a. Allineamento**

Il processo di allineamento consta di una serie di algoritmi che consentono di allineare i frammenti di DNA ottenuti dal sequenziamento con le sequenze di riferimento del genoma umano, allo scopo di localizzare la posizione precisa di ciascuna read e di ricostruire così, come in un puzzle, le sequenze dei geni del soggetto in esame. Questa fase è tutt'altro che facile e non può che essere fatta in modo automatico da un computer con elevata potenza di calcolo.

#### **b. Variant calling**

Una volta che le sequenze dei geni sono state ricostruite tramite l'allineamento delle reads ottenute, occorre individuare tutti i punti nei quali i geni del campione in esame differiscono dalle sequenze di riferimento del genoma umano archiviate nei database. Queste varianti sono numerosissime e in massima parte clinicamente irrilevanti, trattandosi per lo più di semplici polimorfismiche sono alla base delle differenze interindividuali. In un paziente affetto da una malattia genetica nota sarà tuttavia possibile identificare, con buona probabilità, una variante dall'effetto patogeno.

### **c. Filtraggio e Annotazione**

Poiché un'analisi di NGS, sia che si tratti di un'analisi di un ristretto gruppo di geni, sia che si tratti di un esoma o di un sequenziamento genomico, porta all'identificazione di una grandissima quantità di varianti, è necessario procedere ad un'attenta selezione eliminando tutti i polimorfismi clinicamente neutrali e restituendo al genetista una lista finale limitata a poche varianti dal possibile significato patogeno.

Nella fase di filtraggio si ha quindi una massiccia riduzione del numero di varianti, essendo utilizzati criteri di selezione piuttosto ampi, ma efficaci, come ad esempio:

- la frequenza allelica: solitamente il sistema esclude automaticamente tutte le varianti con frequenza uguale o superiore all'1%, poiché per questi valori è estremamente concreta la probabilità che si tratti di polimorfismi neutrali;
- la presenza delle varianti in tessuto normale e tessuto tumorale. In alcune analisi di oncogenetica, volendo individuare le mutazioni somatiche sviluppatasi nelle sole cellule tumorali, si procede all'esclusione di tutte le varianti che sono presenti sia nel tessuto normale che nel tessuto tumorale;
- la modalità di segregazione della patologia in esame: il sistema seleziona tutte le varianti compatibili con un dato modello di trasmissione; ad esempio, nell'ipotesi che si stia cercando di individuare la mutazione patogena in una famiglia con una malattia a chiara trasmissione autosomica recessiva, il sistema selezionerà automaticamente tutte le varianti che sono in eterozigosi composta o in omozigosi.

Una volta terminata la fase di filtraggio si passa alla fase di annotazione che può essere automatica, ma non di rado è ancora parzialmente o totalmente manuale. La fase di annotazione è in effetti più complessa, poiché si cercano di prendere in considerazione parametri multipli: risultato delle predizioni in silico, possibile influsso del contesto genomico circostante, eventuali effetti modulatori sul fenotipo pur in assenza di un effetto patogeno diretto e, se esistenti, dati già pubblicati in letteratura.

La complessità delle varie fasi dell'analisi informatica complica notevolmente il compito degli operatori, in particolar modo nei casi in cui sia necessario confrontare risultati ottenuti attraverso differenti piattaforme, poiché ciascuna tecnologia sfrutta programmi e parametri di analisi differenti. Inoltre, l'interpretazione dei dati e la gestione di un sistema informatico così

complesso prevede competenze specialistiche e richiede la presenza di figure professionali che spesso non sono presenti nei laboratori clinici.

Le varianti osservate con analisi NGS possono sollevare diversi problemi, sia nell'ambito della gestione clinica del paziente che nella strutturazione della consulenza genetica.

Si possono distinguere tre tipi di varianti:

1. Varianti patogenetiche: Sono quelle varianti alle quali è possibile attribuire con certezza un ruolo patogenetico:
  - varianti note identificate in geni noti associati ad un fenotipo patologico;
  - varianti non riportate nei database che determinano però una chiara perdita di funzione di un gene noto.
2. Varianti responsabili di fenotipi mendeliani che, però, non sono collegati alla sospetta diagnosi e vengono indicati come “risultati inattesi” (incidental findings; IF).
3. Varianti di sequenza non note di significato incerto (variants of uncertain significance, VUS), che possono essere identificate in geni noti già implicati nel fenotipo presentato dal paziente, oppure in altre regioni geniche non correlate ad esso.

---

## Conclusioni

**L**e basi molecolari di una sospetta malattia genetica sono investigate tramite diverse tecniche. La scelta del tipo di analisi da eseguire è dettata in una prima fase dalla consulenza genetica. Numerose sindromi genetiche riconosciute dai clinici sono associate a specifici difetti genomici o genetici che possono essere messi in evidenza con test locus specifici (test mirati ad una determinata regione) quali FISH o MLPA o sequenziamento Sanger. Altre malattie sono al contrario geneticamente eterogenee e necessitano di test ad ampio spettro quali cariotipo, array o NGS. Occorre ricordare in questo contesto come spesso sia molto difficile differenziare clinicamente una malattia genomica da una malattia genetica, rendendo difficile stabilire quale sia il test più adeguato da effettuare. Nella normale routine diagnostica e in assenza di anamnesi personale e familiare suggestive di specifiche condizioni, la scelta del primo test da effettuare è guidata da criteri economici e dallo spettro di anomalie identificabili da parte dei vari test disponibili. In questo campo, anche se i più potenti test array hanno preso il sopravvento e rappresentato il primo test da effettuare in caso di sospette malattie di

origine genetica, spesso è necessario ricorrere anche all'analisi del cariotipo. L'insieme di questi due tipologie di metodiche è in grado di mettere in evidenza le anomalie cromosomiche presenti con un elevatissima sensibilità. Nella maggior parte dei casi sporadici (malattia non presente in altri familiari) tale scelta ricade sulle tecniche array che, proprio a causa dell'eterogeneità del campione di individui esaminati, raramente avranno una sensibilità clinica superiore al 25%. Gli individui negativi a tale analisi rappresentano un gruppo di pazienti che andranno investigati con le più moderne tecniche di sequenziamento quali la NGS. Nella pratica clinica l'uso della NGS su pannelli di geni è eseguita quando una determinata malattia è riconducibile a possibili mutazioni su diversi geni già associati alla malattia. La WES sarà invece preferita in situazioni in cui l'eziologia della malattia è sconosciuta o quando l'estrema eterogeneità genetica della malattia non consenta un uso conveniente di test mirati. Queste considerazioni richiedono spesso che il workflow diagnostico sia un processo flessibile dettato dal sospetto clinico, dallo spettro mutazionale potenzialmente coinvolto, dalle tecniche disponibili e da considerazioni di sostenibilità economica. I test di ultima generazione quali array a DNA e di più ancora NGS, richiedono elevate competenze, sia di tecniche molecolari sia di bioinformatica, necessarie per la caratterizzazione delle varianti di potenziale rilevanza clinica identificate, in particolare attraverso l'uso dei database e di strumenti informatici aggiornati. Ancor più di quanto dovrebbe avvenire per i test genetici tradizionali, i test basati su NGS richiedono uno stretto contatto tra genetista clinico e di laboratorio. Gettando uno sguardo al futuro, è molto probabile che la WGS sarà presto in grado di individuare con affidabilità sia le anomalie genomiche che genetiche (28-29). L'introduzione nel SSN di questo test omnicomprensivo sarà tuttavia fortemente ostacolata da criteri economici e dalla carenza di operatori in grado di analizzare efficacemente l'enorme mole di dati prodotta. Infine, a tutt'oggi, permane la quasi impossibilità di investigare con efficacia clinica le basi delle malattie genetiche complesse nelle quali fattori genetici, epigenetici e ambientali concorrono a instaurare il quadro clinico. Per molte di esse tuttavia, numerosi studi genomici (30) su ampi gruppi di pazienti stanno identificando diversi fattori genetici di suscettibilità ponendo la concreta speranza di una più ampia comprensione dell'eziopatogenesi di queste malattie e di una possibile azione diagnostico-preventiva in un futuro prossimo.

**Conflitti di interesse.** *Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.*

**Studi condotti su esseri umani e animali.** *Per questo tipo di studio non è richiesto l'inserimento di alcuna dichiarazione relativa agli studi effettuati su esseri umani e animali.*

## ***Bibliografia***

Harel T, Lupski JR. Genomic disorders 20 years on-mechanisms for clinical manifestations. *Clin Genet*. 2018 Mar;93(3):439-449.

Robinson WP. Mechanisms leading to uniparental disomy and their clinical consequences. *Bioessays*. 2000 May;22(5):452-9. Review

XX Tjio JH, Levan A. The chromosome number of man. *Hereditas*. 1956;42:1-6

Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet*. 2010 May 14;86(5):749-64.

Pasquier L, Fradin M, Chérot E, Martin-Coignard D, Colin E, Journal H, Demurger F, Akloul L, Quélin C, Jauffret V, Lucas J, Belaud-Rotureau MA, Odent S, Jaillard S. Karyotype is not dead (yet)! *Eur J Med Genet*. 2016 Jan;59(1):11-5

van den IJssel P., Ylstra B. (2007) Oligonucleotide Array Comparative Genomic Hybridization. In: Bergman N.H. (eds) *Comparative Genomics. Methods In Molecular Biology*, vol 396. Humana Press

Thomas LaFramboise Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Res*. 2009 Jul; 37(13): 4181-4193.

O'connor C. *Nature Education*. Vol. 1. Springer; 2008. Fluorescence in situ hybridization (FISH) p. 171.

Hehir-Kwa JY, Pfundt R, Veltman JA, de Leeuw N Pathogenic or not? Assessing the clinical relevance of copy number variants. *Clin Genet*. 2013 Nov;84(5):415-21

Mullis KB, Faloona FA. Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. *Methods Enzymol*. 155, 335-350 (1987).

Schouten JP, McElgunn CJ, Waaijer R, Zwijnenburg D, Diepvens F, Pals G (2002). "Relative quantification of 40 nucleic acid sequences by multiplex ligation-dependent probe amplification". *Nucleic Acids Res*. 30,12 e57 (2002).

Julie Logan; Kirstin Edwards & Nick Saunders. (2009). Logan J, Edwards K, Saunders N, eds. *Real-Time PCR: Current Technology and Applications*. Caister Academic Press.

Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 74, 5463-5467 (1977).

Metzker, M. L. Sequencing technologies - the next generation. *Nat Rev Genet* 11, 31-46 (2010).

Linnarsson, S. Recent advances in DNA sequencing methods - general principles of sample preparation. *Experimental cell research* 316, 1339-1343, (2010).

Pasmant E, Parfait B, Luscan A, Goussard P, Briand-Suleau A, Laurendeau I, Fouveaut C, Leroy C, Montadert A, Wolkenstein P, Vidaud M, Vidaud D. Neurofibromatosis type 1 molecular diagnosis: what can NGS do for you when you have a large gene with loss of function mutations? *Eur J Hum Genet*. May;23(5):596-601 (2015).

Lupo, V. et al. Assessment of Targeted Next-Generation Sequencing as a Tool for the Diagnosis of Charcot-Marie-Tooth Disease and Hereditary Motor Neuropathy. *The Journal of molecular diagnostics: JMD* 18, 225-234 (2016).

Lee, H. et al. Clinical exome sequencing for genetic identification of rare Mendelian disorders. *JAMA* 312, 1880-1887 (2014).

Lupski, J. R. et al. Whole-genome sequencing in a patient with Charcot-Marie-Tooth neuropathy. *The New England journal of medicine* 362, 1181-1191, (2010).

Pop, M. & Salzberg, S. L. Bioinformatics challenges of new sequencing technology. *Trends Genet*. 24, 142-149 (2008).

Wang G, Liu Y, Zhu D, Klau GW, Feng W. *Bioinformatics Methods and Biological Interpretation for Next-Generation Sequencing Data BioMed Research International* Vol. 2015

McKenna A, Hanna M, Banks E, Sivachenko A, Cibulskis K, Kernytsky A, Garimella K, Altshuler D, Gabriel S, Daly M, DePristo MA The Genome Analysis Toolkit: a Map Reduce framework for analyzing next-generation DNA sequencing data. *Genome Research* 20:1297-303 (2010).

Luo et al.: SOAPdenovo2: an empirically improved memory-efficient short-read de novo assembler. *GigaScience* 1:18 (2012).

Koboldt DC, Chen K, Wylie T, Larson DE, McLellan MD, Mardis ER, Weinstock GM, Wilson RK, & Ding L). VarScan: variant detection in massively parallel sequencing of individual and pooled samples. *Bioinformatics (Oxford, England)*, 25 (17), 2283-2285 (2009).

Pauline C. Ng and Steven HenikoffSIFT: predicting amino acid changes that affect protein function. *Nucleic Acids Res*. Jul 1; 31(13): 3812-3814 (2003)

Adzhubei I, Jordan DM, Sunyaev SR. Predicting functional effect of human missense mutations using PolyPhen-2. *Curr Protoc Hum Genet*, Chapter 7:Unit7.20 (2013).

Schwarz JM, Cooper DN, Schuelke M, Seelow D. MutationTaster2: mutation prediction for the deep-sequencing age. *Nat Methods*. Apr;11(4):361-2 (2014).

Zhou Z, Wang W, Wang LS, Zhang NR. Integrative DNA copy number detection and genotyping from sequencing and array-based platforms. *Bioinformatics*. 2018 Jul 15;34(14):2349-2355

Zhou B, Ho SS, Zhang X, Pattni R, Haraksingh RR, Urban AE. Whole-genome sequencing analysis of CNV using low-coverage and paired-end strategies is efficient and outperforms array-based CNV analysis. *J Med Genet*. 2018 Jul 30. pii: jmedgenet-2018-105272.

Petersen BS, Fredrich B, Hoepfner MP, Ellinghaus D, Franke A Opportunities and challenges of whole-genome and -exome sequencing. *BMC Genet*. 2017 Feb 14;18(1)

## MEDICINA GENOMICA: TECNOLOGIE DI INDAGINE AD ALTA RISOLUZIONE PER INDIRIZZARE DIAGNOSI E TRATTAMENTO DELLE MALATTIE RARE

*Valentina La Cognata, Giovanna Morello*

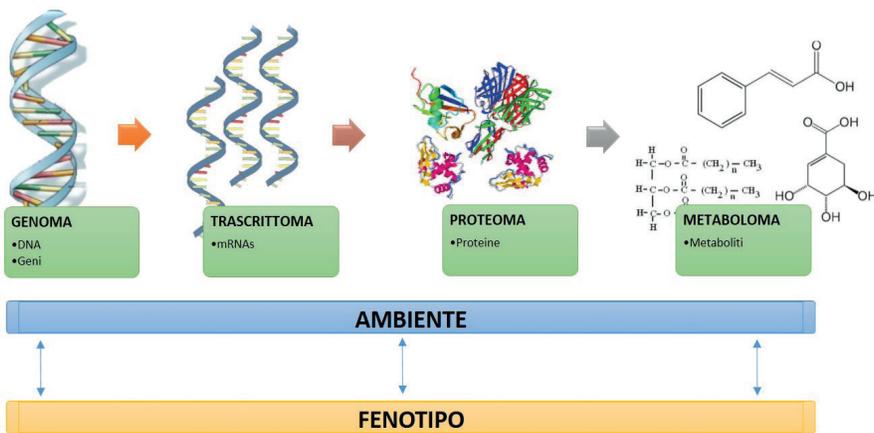
**N**egli ultimi anni, le biotecnologie ad alta risoluzione hanno permesso il definitivo passaggio dalla genetica clinica alla medicina genomica, accrescendo notevolmente la conoscenza globale dei processi patogenetici alla base delle malattie umane complesse e multifattoriali. In particolare, le tecnologie di sequenziamento del genoma sono state applicate in modo crescente nel work-up di pazienti con malattie rare e non diagnosticate. L'uso di questi strumenti consente oggi di disegnare mappe genomiche individuali e cammini biosintetici tali da immaginare interventi terapeutici validi e personalizzati in grado di mantenere e/o ripristinare lo stato di salute. Nel presente capitolo, discuteremo del ruolo della Genomica nello studio delle malattie rare e detaggeremo applicazioni, potenzialità e prospettive. Nel prossimo futuro sono attesi nuovi e sempre più promettenti dati relativi ai disordini rari con eziologia purtroppo ancora del tutto o in parte sconosciuta.

---

### Scienze Omiche e Biologia dei sistemi complessi: un focus sul mondo della genomica

**L**e Scienze Omiche sono sistemi di studio scientifico che permettono di analizzare insiemi di fattori coinvolti in un processo in maniera olistica: in biomedicina, ad esempio, si tratta di studiare pool di molecole biologiche, parti di una cellula, sistemi enzimatici, cellulari o tissutali, microrganismi o vie metaboliche, operanti all'interno degli organismi viventi in maniera complessa, con lo scopo di comprendere l'insieme dei livelli biologici utilizzando approcci integrativi. Scienze e tecnologie omiche si integrano nella biologia dei sistemi complessi [1-3], che ha rivoluzionato l'approccio di studio delle patologie umane consentendo una innovazione del metodo scientifico in ambito biomedico. Gli esperimenti di ricerca condotti attraverso l'utilizzo delle tecnologie di tipo omico possiedono infatti la proprietà intrinseca di produrre nuove informazioni e predire nuove ipotesi, generate non dallo studio del comportamento di un singolo componente ma dall'insieme dei componenti che lo caratterizzano (**Fig. 1**).

Nel panorama delle scienze omiche, rientra il mondo della genomica che offre una ampia finestra di opportunità per la comprensione della complessa variabilità biologica dell'espressione dei geni, dei trascritti, delle proteine e

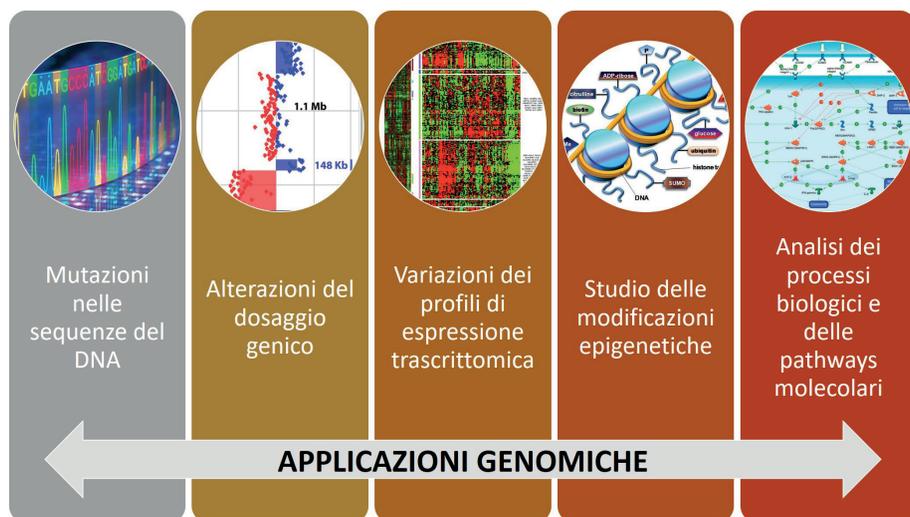


**Fig. 1.** Lo studio di sistemi biologici connessi, integrati e su più livelli costituisce la *Biologia dei Sistemi complessi*. Tale disciplina include lo studio di geni (DNA), trascritti (m-RNA), proteine e metaboliti che formano nel loro insieme il genoma, trascrittoma, proteoma e metaboloma, e la loro interazione con l'ambiente e il fenotipo finale. Liberamente adattato da "Scienze "omiche e biologia dei sistemi complessi: applicazioni in neurologia pediatrica", Ruggieri et al., Ottobre-Dicembre 2014 • Vol. 44 • N. 175 • Pp. 1-xx, *Prospettive in Pediatria*.

della regolazione dei processi biologici. La genomica è per definizione "la disciplina che si occupa della struttura, sequenza, funzione ed evoluzione del genoma, vale a dire di tutta l'informazione genetica contenuta nel DNA presente nelle cellule di una particolare specie" (S. Cavallaro, Enciclopedia Treccani), ma più in generale la genomica comprende anche altre branche biologiche che studiano le variazioni della espressione e della regolazione dei geni (es. trascrittomica, epigenomica, etc) (**Fig. 2**).

Il genoma (costituito da molecole di DNA) rappresenta il programma fondamentale dell'individuo, è presente in ogni sua cellula, e, con poche ma significative differenze, è presente in ogni individuo della stessa specie. Il DNA di ciascun individuo è soggetto fisiologicamente al verificarsi continuo di rimaneggiamenti casuali, che avvengono o al momento della fecondazione e quindi alla formazione dello zigote (germinali) oppure sotto l'azione dell'ambiente esterno e/o di altri stimoli (alterazioni somatiche). Questi rimaneggiamenti garantiscono la plasticità e la variabilità del genoma, che rende ogni individuo unico e diverso da qualunque altro.

L'espressione dei geni nelle molecole di RNA messengeri (o trascritti) è la parte fondamentale del processo attraverso il quale il genotipo di un individuo può determinare un caratteristico fenotipo. Il trascrittoma può essere



**Fig. 2. Applicazioni genomiche e risultati ottenibili.**

Panoramica delle applicazioni basate su tipologie di approcci genomici: dallo studio di mutazioni/alterazioni nel dosaggio e nella struttura del genoma, a variazioni dei profili di espressione dei trascritti in seguito a stimoli esterni, a variazioni epigenetiche e di regolazione, per finire alla analisi dei processi biologici e identificazione di drug targets.

considerato una struttura molto complessa e dinamica che è sensibile alle varie fasi dello sviluppo degli organismi, così come all'ambiente dei vari tipi di cellule e tessuti nei quali viene espresso ed agli effetti di fattori esterni che possono influenzare processi trascrizionali e post-trascrizionali. L'obiettivo principale della trascrittomica è misurare i trascritti e la loro espressione in relazione al tipo di cellule e tessuti e/o in relazione alla risposta ad uno stimolo fisiologico o patologico, generando alla fine della analisi un profilo trascrittomico, ovvero una "fotografia istantanea" che ritrae le molteplici differenze di espressione di un determinato gruppo di geni sotto l'influenza di vari fattori [4].

Anche la posizione, l'ingombro sterico e le differenze dell'architettura territoriale tra i singoli cromosomi e più in generale del materiale genetico all'interno del nucleo giocano un ruolo importante nei processi di trascrizione ed espressione genica [5]. Ruoli importanti vengono infine assunti anche da fenomeni epigenetici causati dall'ambiente e dall'alimentazione nella modulazione del materiale genetico trasmesso, ad esempio, per via paterna (es., sperma, liquido seminale) [6]. Sono oggetto di studio epigenetico tutti quei cambiamenti che alterano la funzione e l'espressione dei geni senza alterare la struttura del DNA e che possono essere o non essere ereditati [es., metila-

zione del DNA e rimodellamento/compattamento della cromatica (modificazioni degli istoni), modificazioni dei trascritti dell'RNA e della codificazione delle proteine, modificazioni dei micro-RNA, frammenti di RNA non codificante (nc-RNA) conosciuti come RNAs (small-RNA, cioè piccoli frammenti di RNA), modificazioni da prioni]. Lo studio di tutti questi fenomeni considerati nel loro insieme è conosciuto come epigenomica [7].

---

### **Tecnologie genomiche avanzate ad alta risoluzione per lo studio di malattie complesse**

Gli avanzamenti scientifici nel campo delle biotecnologie degli ultimi decenni hanno contribuito allo sviluppo di nuove metodologie che consentono di analizzare, monitorare e confrontare simultaneamente le sequenze di centinaia di geni e l'espressione di migliaia di trascritti, portando alla nascita della genomica come disciplina, e alla sua progressiva espansione nella ricerca e in applicazioni cliniche e diagnostiche. Attualmente le tecnologie di elezione su cui si basa il mondo della genomica sono rappresentate da NGS e microarray. Il termine "Next Generation Sequencing" (o NGS) definisce differenti tecnologie di sequenziamento parallelo e massivo del DNA (o RNA, in tal caso si parla di RNAseq) che consentono di analizzare in maniera rapida ed economica un gran numero di sequenze di acidi nucleici. Questa tecnologia rappresenta una svolta epocale rispetto al sequenziamento tradizionale col metodo di Sanger, utilizzato in precedenza esclusivamente per confermare sospette mutazioni in geni selezionati correlati alle malattie monogeniche. L'approccio Sanger trova ovviamente meno riscontro nella diagnosi di malattie rare con eterogeneità genetica, a causa della scarsa capacità produttiva e dei costi elevati per il sequenziamento di singoli geni [8]. L'NGS, al contrario, consente un'analisi completa del genoma che non prevede necessariamente la conoscenza a priori di singoli geni candidati, ma che consente di analizzare migliaia di geni con costi e tempistiche ragionevoli. In breve, la tecnologia NGS prevede l'amplificazione e il sequenziamento di migliaia di frammenti di DNA utilizzando le piattaforme di sequenziamento disponibili (ad es. Illumina, Roche 254, Ion torrent o SOLiD sequencing). I milioni di letture generate vengono poi elaborate tramite l'analisi informatica, effettuando un allineamento con una sequenza di riferimento, al fine di generare un elenco di varianti, che viene successivamente filtrato per identificare un sottoinsieme di mutazioni altamente sicure che potrebbero essere rilevanti nel caso in studio.

Grazie alle tecniche di arricchimento, oltre al sequenziamento genomico (whole genome sequencing o WGS), sono stati sviluppati altri approcci più

mirati come il sequenziamento dell'esoma (whole exome sequencing o WES) o il sequenziamento di pannelli di geni, noto anche come "targeted sequencing" (TS). Mentre con l'approccio WGS vengono coperte tutte le sequenze genomiche codificanti e non, comprese le grosse variazioni strutturali, nell'approccio WES solo i geni codificanti proteine (esomi) sono mirati e amplificati, con il risultato di ottenere un'analisi più veloce ed economica. Infatti le sequenze esoniche costituiscono circa l'1% del genoma e includono oltre l'80% delle mutazioni causative di malattia. Il TS è invece principalmente utilizzato per analizzare le regioni codificanti di un gruppo di geni, ma anche per il sequenziamento di ampie regioni genomiche non codificanti, effettuando un arricchimento preliminare delle regioni da sequenziare (**Tab. 1**).

TARGET	BASI DEL DNA PRESENTI NEL TARGET	COPERTURA MEDIANA RICHIESTE	BASI DEL DNA DA SEQUENZIARE	VARIANTI ATTESE
WGS (genoma)	3.100.000.000	30X	> 120 Gb	3.000.000
WES (esoma)	50.000.000	100X	10 Gb	30.000
Pannello esteso	1.500.000	200X	1 Gb	1.000
Pannello focalizzato	50.000	300X	0.05 Gb	30

**Tabella 1.** Applicazioni NGS, coperture mediane e numero di varianti attese.

Le tecnologie di sequenziamento genomico NGS sono state utilizzate in medicina come tecniche diagnostiche supplementari, guidando con successo le decisioni mediche nel corso del percorso clinico dei pazienti, e nel prossimo futuro sono attesi nuovi e sempre più numerosi dati genotipici relativi alle patologie note nonché ad altri disordini rari di cui l'eziologia risulta ancora del tutto o in parte sconosciuta.

I dispositivi microarray rappresentano l'altro esempio più noto di tecnologia genomica, il cui successo maggiore è stato riscontrato nelle decadi precedenti allo sviluppo dell'NGS ma che ancora oggi costituiscono una valida piattaforma di indagine. Essi sono costituiti da una superficie solida (vetro, silicio, plastica) sulla quale vengono immobilizzate differenti molecole di acidi nucleici secondo una disposizione a griglia. Gli oligoarray, in particolare, contengono brevi sequenze oligonucleotidiche (25-60 basi) immobilizzate o sintetizzate direttamente *in situ* mediante un processo di fotolitografia. I

microarray sfruttano la tecnica di ibridazione inversa, ossia la reazione di riassociazione fra due catene complementari di acidi nucleici, una immobilizzata al supporto solido e una in soluzione che viene marcata con una molecola fluorescente. In un esperimento tipico, una popolazione di molecole di mRNA estratta da un determinato campione, subisce una trascrizione inversa, viene marcata con una molecola fluorescente e quindi ibridata sull'array. A volte, vengono coibridate sullo stesso array due popolazioni di RNA differenti, ciascuna marcata con fluorofori differenti, ad es. la Cy3 (che emette una lunghezza d'onda nel campo del rosso) e la Cy5 (che la emette nel campo del verde). Una volta avvenuta l'ibridazione, il livello di espressione di un gene può essere derivato calcolando l'intensità di fluorescenza del colorante di ogni singolo punto e, dove esistente, sottraendo a esso il segnale di fondo. Lo studio dei profili di espressione genica mediante microarray ha trovato numerose applicazioni soprattutto in ambito oncologico. L'analisi dei profili di espressione genica in soggetti affetti da alcuni tipi di tumore ha permesso infatti l'identificazione di geni utilizzabili come marcatori diagnostici, prognostici e terapeutici nelle patologie oncologiche di maggiore interesse. Oltre allo studio del trascrittoma, i microarray possono essere usati per altre applicazioni, come la genotipizzazione e lo studio delle variazioni strutturali genomiche. Gli SNP microarray, ad es., sono usati per identificare i polimorfismi di un singolo oligonucleotide (SNPs -Single Nucleotide Polymorphisms) ovvero quelle sequenze che variano da individuo a individuo [9], mentre i CGH-microarray (basati sulla tecnologia del Comparative Genomic Hybridization) consentono di rilevare la presenza di anomalie strutturali come le inserzioni e/o le delezioni cromosomiche [10]. I risultati attesi dalle applicazioni genomiche descritte saranno più approfonditamente descritte nel paragrafo a seguire.

---

### **La genomica nelle malattie rare: applicazioni e supporti informatici alla ricerca**

Rispetto alle tecniche tradizionali, l'implementazione delle tecnologie NGS ha garantito alla comunità medico scientifica la possibilità di studiare una vastissima gamma di malattie genetiche, con crollo dei costi e dei tempi d'analisi dei dati. A livello mondiale sono nati centri e progetti di ricerca altamente specializzati in tecniche di sequenziamento genomico e nello sviluppo di database di varianti genomiche, che hanno reso disponibile una grande varietà e quantità di nuove informazioni, spesso di difficile gestione ed interpretazione.

Mentre i WES hanno consentito l'identificazione di un numero crescente di

geni responsabili di malattie monogeniche rare e il numero di geni scoperti aumenta significativamente giorno dopo giorno, l'approccio WGS potrebbe diventare la tecnica di elezione per lo studio delle malattie rare, perchè mira a coprire in modo uniforme e completo esomi, sequenze di regolazione, introniche e intergeniche non codificanti. La ricerca per identificare e interpretare in modo affidabile le cause genetiche delle malattie rare è solo agli inizi. Potrebbe rivelarsi utile l'approccio di intrecciare e combinare tecniche diverse, come ad esempio dati ottenuti tramite tecnologia WGS con RNA-seq e strumenti bioinformatici adattati, tali da consentire l'identificazione di varianti non codificanti con evidenza di espressione genica alterata, mettendo in relazione ipotesi di mutazioni costitutive e di mosaico somatico e consentendo la decodifica dei meccanismi e dei percorsi di regolazione molecolare. L'approccio più classico allo studio della componente genetica nelle malattie eterogenee e multifattoriali si basa sulla ricerca di varianti genetiche che influenzano la suscettibilità di un individuo a contrarre una determinata malattia. Queste varianti comprendono piccole sostituzioni nucleotidiche o SNPs o variazioni del numero di copie (delezioni o duplicazioni di tratti del genoma di grandezza compresa tra poche kilobasi e megabasi e chiamate Copy Number Variation- CNV). Studi di associazione GWAS (genome-wide association study) hanno permesso l'accumulo di un'enorme quantità di dati relativi all'associazione tra polimorfismi genetici e malattie comuni.

Un approccio alternativo ai GWAS si basa sulla "rare variant hypothesis" e cioè sull'ipotesi che una porzione significativa della suscettibilità genetica a una malattia multifattoriale possa essere dovuta alla somma degli effetti di varianti genetiche rare che agiscono indipendentemente tra loro e in maniera dominante, ciascuna delle quali è in grado di conferire un modesto ma facilmente identificabile aumento del rischio relativo. Le varianti genetiche rare decorrono nella popolazione con una frequenza compresa fra lo 0.1% e l'1% e sono usualmente specifiche di determinate popolazioni a causa dell'effetto fondatore che le ha determinate. La strategia di elezione per trovare queste varianti genetiche rare è l'approccio dei geni candidati che prevede, in prima istanza, il sequenziamento in una popolazione dei pazienti affetti e, successivamente, la stima della loro frequenza in una popolazione di controllo. Le varianti rare trovate significativamente associate alla malattia devono essere poi valutate per il loro impatto sulla funzione del gene in questione.

Una volta identificate, le varianti vengono analizzate per rilevanza e classificate come appartenenti a una delle cinque categorie secondo le linee guida dell'American College of Medical Genetics [11]: i) Patogene; ii) Probabilmente patogene; iii) Probabilmente benigne; iv) Benigne; v) Varianti di significato clinico sconosciuto (VUS). La classificazione di ciascuna variante tiene

conto dei dati disponibili sulla base della significatività di associazione, dati di popolazione, dati computazionali, funzionali e di segregazione familiare. Nei casi in cui la variante non rientra nella categoria patogena o benigna, è classificata come VUS e l'effetto della variante sulla funzione genica deve essere ulteriormente studiato per determinare la probabile patogenicità.

L'organizzazione sistematica di questa enorme quantità di dati in database fruibili a tutti, potenzialmente utili alla corretta interpretazione del significato patogeno delle varianti genomiche in relazione al fenotipo clinico, è stato l'imperativo della comunità scientifica internazionale. Giusto per citarne brevemente alcuni, la più grande di queste risorse è il "Single Nucleotide Polymorphism" database (dbSNP - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/SNP/>) del National Center for Biotechnology Information (NCBI - <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), che contiene oltre 50 milioni di varianti genetiche uniche, derivanti da dati di singole ricerche continuamente aggiornate. OMIM (<https://www.omim.org/>), un database autorevole ed esaustivo delle prime e più rimarchevoli varianti alleliche di geni nucleari e di fenotipi genetici, raccoglie e organizza i dati genotipici disponibile nelle pubblicazioni ufficiali della letteratura scientifica peer-reviewed. OMIM garantisce un'eccellente mappatura incrociata di dati provenienti da diversi database genomici e rappresenta pertanto la risorsa più attendibile nel processo d'identificazione delle entità univoche fenotipo-genotipiche. ClinVar (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/>), raccoglie ed organizza varianti genomiche specifiche, clinicamente o funzionalmente rilevanti, fornendo l'evidenza metodologica e scientifica del significato clinico o funzionale di una specifica variante e dettagli sul profilo fenotipico. Infine, Human Gene Mutation Database (HGMD - <http://www.hgmd.cf.ac.uk/ac/index.php>) è un'altra risorsa centralizzata istituita e mantenuta presso l'Istituto di Genetica Medica a Cardiff, curata manualmente, che raccoglie in modo esaustivo un'ampia serie di varianti genomiche e di polimorfismi funzionali associati a malattie umane ereditarie.

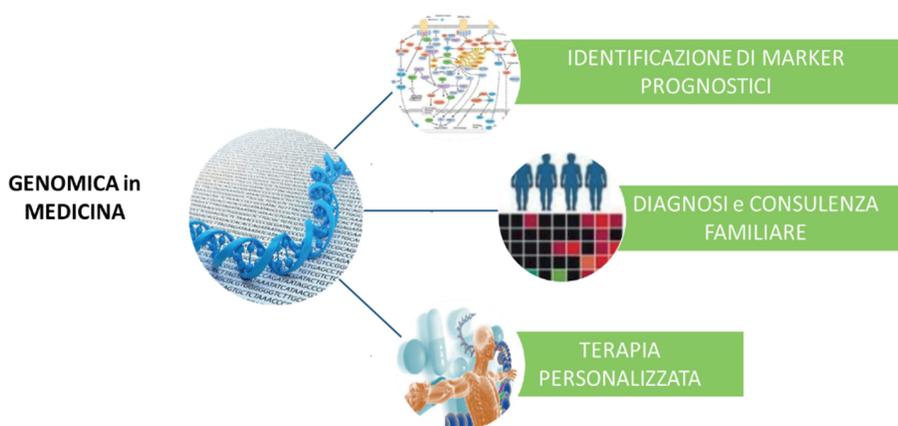
---

## **Binomio Genomica-Diagnostica: realtà cliniche**

Ad oggi, sono state descritte oltre 7000 malattie rare, sebbene le cause genetiche precise per molte di esse rimangano sconosciute. A causa della rarità di queste condizioni, molti pazienti colpiti spesso attraversano la cosiddetta "odissea diagnostica", vale a dire rimbalzare tra medici e specialisti, spesso per anni senza una diagnosi o un trattamento appropriato.

Negli ultimi anni, il sequenziamento del genoma è stato applicato in modo

crescente nel work-up di pazienti con malattie rare e non diagnosticate. La tecnologia NGS ha fornito risultati positivi nell'identificazione di nuove mutazioni causali per rare malattie genetiche sospette di cause precedentemente sconosciute, con tassi diagnostici del 25-50 % in studi recenti. L'uso di tecnologie genomiche ad alta risoluzione consente oggi di disegnare mappe genomiche individuali e cammini biosintetici tali da immaginare interventi terapeutici validi e personalizzati in grado di mantenere e/o ripristinare lo stato di salute. La diagnosi genomica molecolare delle malattie rare infatti può portare a cambiamenti nelle cure mediche, tra cui l'uso di farmaci esistenti o lo sviluppo di nuovi farmaci per aiutare le persone con mutazioni specifiche, così come la cessazione di terapie inefficaci (**Fig. 3**).



**Fig. 3. Il ruolo della Genomica in Medicina.**

*La Genomica è entrata ormai di diritto nelle correnti pratiche cliniche e diagnostiche, guidando con successo le decisioni cliniche dei medici nei confronti dei pazienti. Il principale supporto della Genomica in medicina riguarda la diagnosi e la consulenza familiare, l'identificazione di marker prognostici, e soprattutto l'individuazione di interventi terapeutici validi e personalizzati, permettendo di avvicinarsi sempre più allo scopo della medicina 4P: predittiva, preventiva, personalizzata e partecipativa.*

Tanti sono stati i casi clinici internazionali risolti o indirizzati verso opzioni terapeutiche funzionali, segno che la genomica è entrata ormai di diritto nelle correnti pratiche cliniche e diagnostiche, e promette nel prossimo futuro di sviluppare strategie di ricerca innovative e incrementare il potere risolutivo nell'approccio alle malattie rare, avvicinandoci sempre più allo scopo della medicina 4P: predittiva, preventiva, personalizzata e partecipativa. Il potere della tecnologia NGS per la diagnosi e il trattamento dei disturbi rari

non diagnosticati trova un esempio esemplificativo nella storia di Nicholas Volker, insignita del titolo di vincitrice Premio Pulitzer nel 2011. A 17 mesi, il piccolo Nicholas soffriva di fistole colon-cutanee, costringendolo nei successivi 4 anni a centinaia di giorni in ospedale e più di 100 interventi chirurgici inconclusivi, eludendo qualunque valida opzione di diagnosi. Il punto di svolta è arrivato quando Worthey et al. [12] hanno scoperto tramite WES una mutazione nel gene *XIAP* (X-linked inhibitor of apoptosis protein), localizzato sul cromosoma X, codificante una proteina coinvolta nell'inibizione dell'apoptosi e con ruoli importanti nella segnalazione e nell'immunità infiammatoria. Armati di questa nuova conoscenza, i medici di Volker hanno raccomandato un trapianto di cellule staminali ematopoietiche, con l'obiettivo di prevenire il ripetersi di tali sintomi e assicurarsi un miglioramento delle condizioni di salute di Nicholas.

Una serie di altri casi di medicina di precisione supportati da NGS sono stati segnalati. Il sequenziamento WGS di una coppia di gemelli di 14 anni affetti da Distonia Dopa-sensibile ha rivelato mutazioni eterozigoti nel gene *SPR* (Sepiapterin Reductase). Il cattivo funzionamento dell'enzima causava una diminuzione dei neurotrasmettitori dopamina e serotonina e la somministrazione di Levodopa insieme a 5-idrossitriptofano (precursore della serotonina) ha determinato miglioramenti clinici in entrambi i gemelli [13].

Un caso più drammatico è stato quello di una ragazza di 14 anni che soffriva di enteropatia autoimmune dall'età di 3 mesi. Mediante WES, è stata evidenziata una mutazione *de novo* nel dominio di legame del *CTLA-4* (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4), presumibilmente causa della patologia come confermato da numerosi esperimenti immunologici *in vitro*. Alla ragazza è stato somministrato Abatacept, una proteina di fusione composta dalla regione Fc dell'immunoglobulina IgG1 fusa nel dominio extracellulare di CTLA-4, e approvata dalla Food and Drug Administration (FDA) per curare l'artrite reumatoide. Tale terapia ha ripristinato la funzione regolatoria delle cellule T, rendendo non più necessaria la trasfusione di sangue e, consentendo alla paziente di essere dimessa dopo un ricovero di 3 anni, con il supporto esclusivo di metodiche di parziale nutrizione parenterale [14].

Un altro esempio riguarda un lavoro descritto da Choi et al. (2009) relativo al caso di un bambino di 5 mesi proveniente dalla Turchia che presentava grave disidratazione, mancanza di crescita e un'ampia diagnosi differenziale che includeva una condizione renale (sindrome di Bartter). Per via della consanguineità genitoriale, i dati di sequenziamento dell'intero esoma sono stati filtrati per cercare mutazioni omozigote non sinonime. È stata identificata una mutazione candidata ad alta probabilità nel gene *SLC26A3* - un locus noto per la diarrea da cloruro congenita; gli autori hanno quindi sottoposto

a screening altri 39 soggetti con una diagnosi presuntiva della sindrome di Bartter e hanno scoperto che cinque di questi pazienti presentavano mutazioni nello stesso gene [15].

Il segno di questo cambiamento epocale e della introduzione delle tecnologie omiche nelle realtà ospedaliere è ancora più evidente quando si raccontano casi come quello di Georgia e Jessica, due bambine che hanno ricevuto una diagnosi genetica grazie al 100,000 Genomes Project condotto dal North Thames NHS Genomic Medicine Centre (NTGMC), centro di medicina genomica in Inghilterra [16]. Obiettivo del 100,000 Genomes Project è quello di mappare il codice genetico di decine di migliaia di persone malate di cancro e malattie rare, con la speranza di identificarne i geni responsabili. Proprio grazie alla massa di dati raccolti, è stato possibile svelare le patologie di Georgia e Jessica, pubblicizzate da moltissime testate giornalistiche. Alla nascita i medici avevano riscontrato che la testa di Georgia fosse leggermente più larga di quella degli altri neonati, ma dalle prime analisi cliniche non era emerso nulla. Con il passare del tempo il problema è emerso sempre più chiaramente: la piccola non riusciva a tenere bene la testa, a sedersi e a guardare nella stanza. Nessuno però sembrava in grado di dare un nome alla condizione della bimba e i genitori non riuscivano a darsene pace. Tutto è cambiato un paio di settimane prima di Natale, quando la famiglia ha ricevuto una convocazione da parte del Great Ormond Street Hospital di Londra, in cui i medici comunicavano alla famiglia di essere riusciti a identificare la mutazione responsabile della malattia della bimba, ottenendo finalmente un nome e una diagnosi. C'è poi la storia di Jessica, anche lei appena 4 anni. La piccola, apparentemente sana alla nascita, presentava dei ritardi nello sviluppo e soffriva di frequenti crisi convulsive. Dopo una lunga serie di test, tutti risultati negativi, i genitori della piccola non si sono rassegnati alla mancata diagnosi e hanno preso parte al Progetto Genoma. Dopo due anni dalla consegna dei campioni di sangue della piccola, la diagnosi: una mutazione genetica che causava la Sindrome da Deficit Glut1, malattia genetica rara che compromette il normale transito del glucosio dal sangue al cervello. Questo si traduce nell'assenza o in una forte riduzione del glucosio a livello encefalico, con conseguenze gravissime sull'organismo. La malattia può essere trattata con una dieta a contenuto glucidico fortemente limitato. Tale regime alimentare stimola la produzione di corpi chetonici che attraversando la barriera emato-encefalica, vengono utilizzati come fonte di energia dal cervello. Informazioni più dettagliate su questi due casi possono essere trovate direttamente sulla pagina web del 100.000 Genome Project (<https://www.genomicsengland.co.uk/the-100000-genomes-project/>).

Progetti genetici come quello inglese sono quindi fondamentali per i malati

rari e per l'ottenimento di risposte diagnostiche e di nuove terapie. Anche in Italia è nato un progetto analogo, grazie a un'idea della Senatrice Cattaneo, per costruire un programma che abbia un indirizzo nazionale, sotto l'egida del Ministero della Salute. Si tratta del 'Progetto Genoma Italia', progetto sul quale il Ministero della Salute investirà attenzione e 15 milioni di euro in tre anni. Un progetto quindi dalle potenzialità enormi, che potrà dare risposte alle migliaia di malati rari che in Italia ancora attendono una diagnosi e una speranza.

---

### **Ingegneria genetica: prospettive future per una medicina di precisione e personalizzata**

Numerosi passi avanti sono stati fatti e molte innovazioni metodologiche e concettuali sono state avanzate e realizzate, ma la genomica si sta spingendo ancora oltre, ponendosi innanzi sfide sempre più complesse, e assumendo caratteristiche e metodologie valide anche grazie alla ingegneria genetica.

L'editing del genoma (o modificazione del genoma) è un'evoluzione della terapia genica attuale, perché consente di correggere il difetto genetico in maniera precisa direttamente sulla sequenza di DNA mutata. Questa rivoluzionaria tecnologia sfrutta un apparato molecolare batterico per apportare correzioni minuziose al DNA, riscrivendo letteralmente i geni, consentendo di ripristinare la funzione e conservare la naturale regolazione di quanto, quando e dove un gene viene espresso.

La tecnologia di editing più in voga oggi è chiamata CRISPR/Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats + CRISPR-associated protein 9), una metodica che consente di introdurre i cambiamenti desiderati del genoma, con una precisione che non ha precedenti nella storia dell'ingegneria genetica [17]. La tecnologia CRISPR può produrre mutazioni puntiformi, indistinguibili da quelle naturali, che possono essere impiegate per spegnere un gene dannoso. E' inoltre possibile operare correzioni più estese, per far sì che un gene difettoso possa tornare funzionante. Se necessario è possibile anche inserire un segmento nuovo di DNA, che conferisca una nuova caratteristica utile. In biomedicina questa tecnologia promette lo sviluppo di nuovi farmaci, di terapie geniche e cellulari, xenotrapianti, e il controllo delle malattie trasmesse dagli insetti.

In alcuni casi, sono state autorizzate dall'FDA sperimentazioni basate su tecnologie di terapia genica come trials clinici. È il caso della Distrofia muscolare di Duchenne, per la quale è in corso un trial aperto, non randomizzato, a singola dose crescente, che mira a valutare la sicurezza e la tollerabilità di un farmaco ingegnerizzato in 12 pazienti Duchenne deambulanti e di età com-

presa tra i 5 e i 12 anni. In particolare, si tratta di un farmaco composto da un vettore di tipo adenovirale (AAV9) all'interno del quale è ospitata una forma del gene della distrofina di dimensioni ridotte, ma funzionali (minidistrofina). In breve, il virus trasformato in un veicolo innocuo, e messo in circolazione mediante somministrazione sistemica, agisce trasferendo nelle cellule il "gene terapeutico" con la successiva produzione della proteina mancante. Oltre alla sicurezza e tollerabilità, il trial valuterà attraverso biopsie muscolari ed esami di risonanza magnetica, anche l'espressione della minidistrofina e la sua distribuzione, la forza e la funzionalità muscolare. I risultati, di grande interesse per la comunità scientifica, potranno aprire nuovi orizzonti ad un uso sempre più standard, oculato ma funzionale delle terapie basate sulla ingegneria genetica.

---

## Conclusioni

Ad oggi centinaia, forse migliaia di pubblicazioni scientifiche hanno identificato le tecnologie NGS, in particolare la WES, come risorsa nuova ed efficace nello studio di singoli geni, dei tumori, dell'evoluzione umana e della variabilità genomica delle popolazioni. Senza dubbio le tecnologie NGS hanno permesso il definitivo passaggio dalla genetica clinica alla medicina genomica, con potenzialità immense per l'accrescimento della conoscenza globale sui processi patogenetici delle malattie umane ad ereditarietà mendeliana. I progressi raggiunti rappresentano tuttavia solo l'inizio di una serie di sforzi coordinati della comunità scientifica i cui obiettivi restano l'implementazione del processo diagnostico e del percorso assistenziale e terapeutico del paziente affetto. L'applicazione di queste tecnologie permetterà alla scienza medica di sviluppare strumenti diagnostici, prognostici e terapeutici sempre più efficaci, comprendere il contributo genetico dell'individuo e sviluppare nuovi trattamenti terapeutici per le malattie, con la prospettiva di avvicinarsi sempre più ad una medicina personalizzata.

**Conflitti di interesse.** *Gli autori dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.*  
**Studi condotti su esseri umani e animali.** *L'articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.*

## **Bibliografia**

- Villoslada, P., L. Steinman, and S.E. Baranzini, *Systems biology and its application to the understanding of neurological diseases*. Ann Neurol, 2009. 65(2): p. 124-39.
- Geschwind, D.H. and G. Konopka, *Neuroscience in the era of functional genomics and systems biology*. Nature, 2009. 461(7266): p. 908-15.
- Westerhoff, H.V. and B.O. Palsson, *The evolution of molecular biology into systems biology*. Nat Biotechnol, 2004. 22(10): p. 1249-52.
- Dermitzakis, E.T., *From gene expression to disease risk*. Nat Genet, 2008. 40(5): p. 492-3.
- Cremer, T., et al., *Chromosome territories--a functional nuclear landscape*. Curr Opin Cell Biol, 2006. 18(3): p. 307-16.
- Rando, O.J., *Daddy issues: paternal effects on phenotype*. Cell, 2012. 151(4): p. 702-8.
- de la Grange, P., et al., *Splicing factor and exon profiling across human tissues*. Nucleic Acids Res, 2010. 38(9): p. 2825-38.
- Neveling, K., et al., *A post-hoc comparison of the utility of sanger sequencing and exome sequencing for the diagnosis of heterogeneous diseases*. Hum Mutat, 2013. 34(12): p. 1721-6.
- Sachidanandam, R., et al., *A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms*. Nature, 2001. 409(6822): p. 928-33.
- La Cognata, V., et al., *A customized high-resolution array-comparative genomic hybridization to explore copy number variations in Parkinson's disease*. Neurogenetics, 2016. 17(4): p. 233-244.
- Richards, S., et al., *Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology*. Genet Med, 2015. 17(5): p. 405-24.
- Worthey, E.A., et al., *Making a definitive diagnosis: successful clinical application of whole exome sequencing in a child with intractable inflammatory bowel disease*. Genet Med, 2011. 13(3): p. 255-62.
- Friedman, J.R., *What Is Not in the Name? Dopa-Responsive Dystonia May Respond to More Than L-Dopa*. Pediatr Neurol, 2016. 59: p. 76-80.
- Lee, S. and M. Choi, *Ultra-rare Disease and Genomics-Driven Precision Medicine*. Genomics Inform, 2016. 14(2): p. 42-5.
- Choi, M., et al., *Genetic diagnosis by whole exome capture and massively parallel DNA sequencing*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2009. 106(45): p. 19096-101.

Turnbull, C., et al., *The 100 000 Genomes Project: bringing whole genome sequencing to the NHS*. *BMJ*, 2018. 361: p. k1687.

Yu, Z., et al., *Highly efficient genome modifications mediated by CRISPR/Cas9 in Drosophila*. *Genetics*, 2013. 195(1): p. 289-91.



# ATTUALI E FUTURE APPLICAZIONI DELLE BIOTECNOLOGIE PER LA DIAGNOSI E IL MONITORAGGIO CLINICO DELLE MALATTIE RARE

*Maria Guarnaccia*

L'innovazione nel settore delle tecnologie sensoristiche è in una fase di grande evoluzione, accentuata dal processo di convergenza che coinvolge settori differenti che vanno dalla microelettronica (microsistemi e sensori; tecnologie per la bioelettronica e biosensoristica), alla chimica (nanomateriali), al farmaceutico (chimica computazionale), ai materiali avanzati. Gli usi medici dei sensori ruotano principalmente intorno al potere di questi di identificare accuratamente tessuti, cellule del corpo ed addirittura materiale genetico; da qui il notevole interesse dal punto di vista accademico ed industriale per applicazioni diverse che vanno dalla diagnosi alla medicina personalizzata.

In quest'ultimo campo, in particolare, si sta puntando sulla sperimentazione e messa a punto di innovative applicazioni della microelettronica alla genomica funzionale e alla diagnostica molecolare con l'implementazione di dispositivi diagnostici miniaturizzati usa e getta per la diagnosi delle malattie o per la determinazione dei livelli di espressione genica nei diversi stati fisiopatologici. Le biotecnologie promettono di estendere i confini della sanità al di là dell'ambito ospedaliero, favorendo l'integrazione delle cure in ospedale, a casa e in qualunque posto la persona si trovi. Nel campo delle malattie rare, la ricerca e lo sviluppo di tecnologie biosensoristiche offre numerose prospettive e valide alternative che vanno dalla diagnosi precoce alla terapia personalizzata ed alla distribuzione mirata di farmaci, con applicazioni di tipo non-invasivo per l'analisi multipla di parametri vitali.

---

## Introduzione

Le malattie rare sono patologie cronicamente debilitanti, molto eterogenee per età di insorgenza, sintomatologia ed eziopatogenesi, in cui il numero di affetti, secondo quanto definito dall'Unione Europea, è inferiore a 5/10000 nella popolazione generale. Tali patologie, rare per definizione, costituiscono in realtà un problema socio-sanitario di primaria importanza per il notevole impatto sui pazienti e sulle famiglie coinvolte. I progressi raggiunti nel campo delle tecnologie per la diagnosi di tali patologie ha sicuramente consentito di identificare e analizzare ogni tipo di variazione genetica presente nel genoma umano, ad un elevato livello di risoluzione e con un throughput di dati estremamente significativo; ciò ha sicuramente favorito il progredire delle conoscenze circa le cause ed i meccanismi che sot-

tendono all'eziopatogenesi delle malattie rare, ma molto bisogna ancora fare per migliorare la vita delle persone affette non solo fornendo loro risposte e soluzioni, ma migliorando il pattern di cure disponibili, e pertanto fornendo migliore assistenza.

Negli ultimi anni, la tecnologia sta entrando sempre in maggior misura nella vita quotidiana dei cittadini, ma soprattutto in campo sanitario dove si assiste ad un crescente sviluppo di strumenti analitici per la diagnostica molecolare/clinica. In grado di dosare e valutare markers clinici, tali dispositivi biosensoristici promettono un'analisi efficiente, rapida ed accurata delle malattie. Il loro rapido progresso è indubbiamente favorito anche dalla domanda di nuove modalità di fornitura di servizi diagnostici che sta plasmando lo sviluppo dell'industria diagnostica. Un rapporto della Cambridge Consultants rileva come si faccia sempre più alta l'attenzione per un'assistenza sanitaria personalizzata e guidata dal consumatore che porta contemporaneamente ad "una maggiore richiesta di una diagnostica point of care con test eseguibili vicino al paziente che possono sostituire i tradizionali test di laboratorio".

Attualmente la ricerca sullo sviluppo e l'applicazione delle biotecnologie e di biosensori è portata avanti da diversi gruppi di ricerca internazionali con differenti approcci, spinti dai rapidi sviluppi nelle tecnologie di sequenziamento, proteomica e dai progressi nelle scienze biologiche. Dai test di routine come pap test, monitoraggio dello zucchero nel sangue e test di gravidanza, a tecniche più avanzate che coinvolgono l'analisi del DNA e delle proteine, i test diagnostici stanno diventando onnipresenti. Uno studio del gruppo Lewin stima che "mentre la diagnostica comprende meno del 5% dei costi ospedalieri e circa l'1,6% di tutti i costi di Medicare, i loro risultati influenzano fino al 60-70% delle decisioni sanitarie". Da qui si evince come la realizzazione di un test diagnostico che sia accurato, affidabile ed efficace ma anche pratico e veloce assuma una rilevante importanza per velocizzare gli accertamenti diagnostici.

Parallelamente allo sviluppo di dispositivi per una diagnostica avanzata stanno prendendo sempre più piede i dispositivi indossabili, i cosiddetti wearabledevice. Si tratta di dispositivi in grado di monitorare i movimenti, le calorie bruciate, i metri percorsi e la qualità del sonno direttamente sul display di un bracciale, oppure sullo smartphone. Nelle applicazioni in campo medicale, i dispositivi indossabili risultano utili per monitorare le attività di tipo fisiologico.

In ogni caso, la diagnostica medica è sicuramente il settore che sembra avere le migliori prospettive di sviluppo. L'obiettivo principale a cui si tende e che spinge la ricerca verso una nuova medicina digitale è la possibilità di rendere più confortevole la vita di un paziente, soprattutto per coloro i quali necessi-

tano di un monitoraggio continuo del proprio stato di salute ed un controllo quantitativo e qualitativo delle funzioni vitali.

## I biosensori

Un biosensore è per definizione un dispositivo in grado di convertire un evento fisico o biologico in un segnale misurabile. I sistemi biologici utilizzati possono essere enzimi, anticorpi, membrane biologiche, batteri, cellule, tessuti animali o vegetali; questi interagiscono direttamente o indirettamente con il metabolita da determinare e sono responsabili della specificità del sensore (Fig. 1).

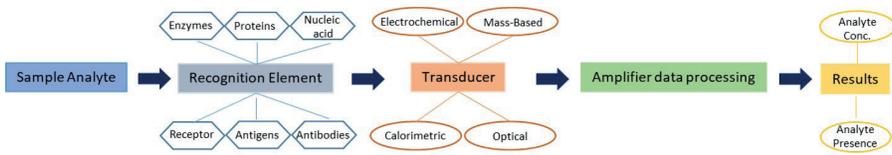


Fig. 1. Workflow di funzionamento di un comune biosensore.

Le caratteristiche principali di un biosensore sono pertanto la selettività del biorecettore per uno specifico analita, la capacità di mantenere tale selettività anche in presenza di altre molecole, potenziali competitori. I sensori si classificano in relazione al principio di funzionamento, al tipo di segnale in uscita, al tipo di grandezza fisica che misurano (acustica, biologica, chimica, elettrica, magnetica, meccanica, ottica, radiazioni, termica ecc) o di applicazione. Più semplicemente, in relazione al fenomeno di conversione del segnale, possiamo dividerli in tre categorie: fisici, chimici e biologici. I Lab on chip rappresentano un tipo particolare di dispositivo, ossia un laboratorio in miniatura che integra in un unico chip molteplici reazioni con ridotti volumi. Il vantaggio di usare i biosensori è legato al fatto che in molti casi il campione può essere analizzato rapidamente dopo il prelievo, richiede una minima, o non richiede affatto, preparazione, ed il tempo di risposta è compreso tra pochi secondi e qualche minuto o qualche ora nel caso di analisi più complesse. Questa caratteristica li rende idonei per la misurazione ed il controllo di parametri ematici risolvendo il problema del prelievo che in alcuni casi può risultare complicato (neonati, emofiliaci, anziani o pazienti con deficit motori).

I biosensori che oggi offrono le migliori garanzie di sensibilità e selettività sono quelli di tipo elettrochimico. Molte industrie dedicano parte della loro ricerca allo sviluppo e applicazione del biosensori elettrochimici e già sono

stati messi in commercio da industrie americane, inglesi, francesi e giapponesi diversi strumenti analitici: la misurazione del glucosio e del lattato, l'analisi dell'alcool nella saliva, la misurazione della concentrazione di ormoni, vitamine, patogeni ed altre molecole di interesse biomedico nei fluidi corporei, la determinazione di residui di farmaci sono solo alcune delle innumerevoli applicazioni dei biosensori elettrochimici.

Le specifiche sopra elencate, sommate alla possibilità di miniaturizzare il dispositivo, il basso costo, la possibilità di fare misure real-time applicabili in vari campi, genera per i biosensori un interesse commerciale non indifferente.

In ambito medico in particolare, oltre a sistemi utili per la diagnosi di malattie e per un miglior inquadramento del paziente da un punto di vista genetico e molecolare, si fa avanti la ricerca e lo sviluppo di microsistemi per il rilascio modificato e direzionato dei farmaci (molecole organiche tradizionali, peptidi, proteine, farmaci a base di acidi nucleici quali ad es. miRNA). La possibilità di rilasciare le molecole biologicamente attive in siti e con tempi ben definiti, anche in risposta a specifici stimoli, offre l'indiscusso vantaggio di circoscrivere l'effetto biologico della terapia, migliorandone l'effetto, e di ridurre nel contempo l'eventuale effetto tossico. Lo sviluppo di forme di dosaggio che siano capaci di alterare i profili biologici (biodistribuzione, internalizzazione tissutale, farmacocinetica, farmacodinamica) degli agenti terapeutici è ormai considerato un aspetto della massima importanza nella ricerca biomedica e nell'industria farmaceutica.

---

## Biosensori in medicina

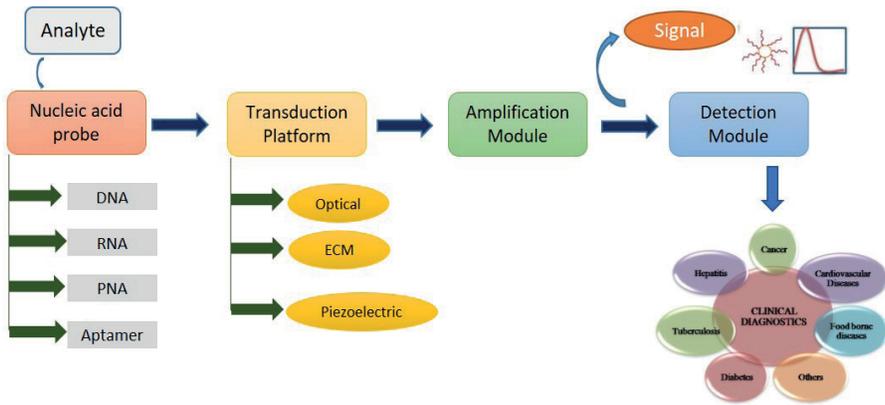
Le ricerche e le applicazioni di laboratorio hanno consentito uno sviluppo del sistema biosensore fino alla fase di applicazione pratica in diversi campi. Ormai esiste un biosensore per qualunque tipo d'applicazione: sensori che facilitano sempre più l'operatività dei sanitari che hanno in cura il paziente sia all'interno dell'ospedale (come ad esempio le applicazioni point-of-care), che nel monitoraggio remoto, fino alle applicazioni più innovative che comprendono anche l'uso dei biosensori nelle fasi di drugdiscovery e sviluppo clinico dei nuovi farmaci e dispositivi medici.

Nel capitolo che segue verranno illustrati alcune interessanti applicazioni in campo medico dei biosensori nonché le aree di sviluppo più promettenti.

### Biosensori per l'analisi del DNA

Negli ultimi anni è cresciuto molto l'interesse verso lo sviluppo di biosensori capaci di determinare sequenze di DNA, sfruttando la reazione di ibridazione

tra una sonda immobilizzata sulla superficie del sensore e la sequenza bersaglio in soluzione. Il campione di DNA è, generalmente, un amplificato di DNA ottenuto mediante la reazione polimerasica a catena (PCR). Con questo tipo di approccio, accoppiando diversi sistemi di trasduzione (elettrochimico, ottico e piezoelettrico), sono stati realizzati vari biosensori capaci di determinare sequenze specifiche, complementari alla sonda immobilizzata, in campioni di amplificati PCR (Fig. 2).



**Fig. 2.** Sistemi di trasduzione realizzati vari biosensori capaci di determinare sequenze specifiche, complementari alla sonda immobilizzata, in campioni di amplificati PCR.

Le applicazioni vanno dall'analisi ambientale per la presenza di microrganismi patogeni, alla diagnostica clinica per lo screening di mutazioni genetiche, all'analisi alimentare per la ricerca di organismi geneticamente modificati (OGM). La possibilità di quantificare i biomarcatori di interesse circolanti nel sangue, o in altri liquidi corporei, per lo screening precoce di malattie e/o per il monitoraggio degli effetti di uno specifico trattamento farmacologico sulla progressione di una malattia è uno degli aspetti più interessanti nell'utilizzo dei biosensori.

L'80% delle malattie rare ha origine genetica e pertanto è la diagnosi a fare la differenza. Individuare con precisione la malattia genetica permette non solamente di prendersi cura meglio delle persone che ne sono affette, ma anche di prevenirla con appositi test. Lo studio del Dna inoltre, specialmente nel caso di patologie rare, acquisisce una importanza davvero basilare al fine di raggiungere una strada sicura verso una efficace terapia. Con i metodi convenzionali è molto difficile giungere ad una diagnosi puntuale spesso per i tempi piuttosto lunghi. L'uso di strumenti molecolari genomici e proteomici micro e nanometrici che consentono la profilazione di diverse cellule porterà a nuove opportunità nella diagnosi e prognosi, nel monitoraggio e ottimizza-

zione della terapia. Anche il sequenziamento completo di tutti i geni sta entrando nella pratica clinica, e la possibilità di miniaturizzare un'analisi così complessa renderà possibile dare una risposta a molti pazienti che, colpiti da una malattia genetica rara, si sottopongono ad analisi di ogni tipo, senza però riuscire ad avere una diagnosi.

Attualmente, i metodi diagnostici per l'analisi degli acidi nucleici sono principalmente basati sulla PCR, e sono ancora relativamente complessi e costosi. Gli strumenti di diagnosi point-of-care basati su acidi nucleici basati sulla tecnologia di amplificazione isoterma si sono dimostrati promettenti nel rilevamento e nella diagnosi di varie malattie.

Di seguito riportiamo una tabella esemplificata estrapolata dalla pagina del sito dell'FDA dedicata ai medicaldevices, con alcuni dei test approvati ed attualmente in commercio:

Disease/Use	TradeName	Manufacturer
<b>Acute MyeloidLeukemia</b>	Vysis D75486/CEP 7 FISH Probe Kit	Abbott MolecularInc.
	Vysis EGR1 FISH Probe Kit	Abbott MolecularInc.
	LeukoStratCDx FLT3 Mutation Assay	INVIVOSCRIBE TECHNOLOGIES, INC.
	Abbott RealTime IDH2	ABBOTT MOLECULAR, INC.
<b>Acute Myeloid Leukemia or Myelodysplastic Syndrome</b>	Abbott RealTime IDH1	ABBOTT MOLECULAR, INC.
	VYSIS EGR1 FISH PROBE KIT - SC (SPECIMEN CHARACTERIZATION)	ABBOTT MOLECULAR, INC.
<b>Aggressive SystemicMastocytosi</b>	KIT D816V ASSAY	ARUP LABORATORIES
<b>Autosomal Recessive Carrier Screening</b>	23ANDME PERSONAL GENOME SERVICE	23andMe
<b>B-cell chronic lymphocytic leukemia</b>	VYSIS CLL FISH PROBE KIT	ABBOTT MOLECULAR, INC
	VYSIS CLL FISH PROBE KIT	ABBOTT MOLECULAR, INC
	CEP 12 SpectrumOrange Direct Labeled Chromosome Enumeration DNA Probe	Vysis
<b>Chromosomeabnormalities</b>	AffymetrixCytoScanDxAssay	Affymetrix, Inc.
	AneuVysion	Vysis
	CYTOSCAN(R) DX	Affymetrix, Inc.
	GenetiSureDxPostnatalAssay	Agilent Technologies, Inc.
	CEP 8 Spectrumorange DNA Probe Kit	Vysis
<b>ChronicMyeloidLeukemia</b>	CEP X SpectrumOrange/ Y SpectrumGreen DNA Probe Kit	Vysis
	Quantidex qPCR BCR-ABL IS Kit	ASURAGEN, INC.
<b>CoagulationFactors</b>	MRDx BCR-ABL Test, MRDx BCR-ABL Test Software	MolecularMD Corporation
	Invader Factor V	Hologic, Inc.
	Invader Factor II	Hologic, Inc.
	Illumina VeraCode Genotyping Test for Factor V and Factor II	Illumina, Inc.
	eSensor Thrombophilia Risk Test, eSensor FII-FV Genotyping Test, eSensorFII Genotyping Test, eSensor FV Genotyping Test, eSensor MTHFR Genotyping Test	OsmetechMolecularDiagnostics
	XpertHemosIL FII & FV	Cepheid
	Verigene F5 Nucleic Acid Test	Nanosphere, Inc.
	Verigene F2 Nucleic Acid Test	
	Verigene MTHFR Nucleic Acid Test	
	INFINITI System	Autogenomics, Inc.
	Factor II (Prothrombin) G20210A Kit	Roche Diagnostics Corporation
	Factor V Ieiden Kit	Roche Diagnostics Corporation
	Invader MTHFR 677	Hologic, Inc.
	Invader MTHFR 1298	Hologic, Inc.
	<b>ChronicMyeloidLeukemia</b>	Illumina MiSeqDx Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay
Illumina MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant Assay		Illumina, Inc
xTAG Cystic Fibrosis 60 Kit v2, xTAG Data Analysis Software (TDAS) CFTR		LuminexMolecularDiagnostics, Inc.
xTAG Cystic Fibrosis 39 Kit v2		LuminexMolecularDiagnostics, Inc.

<b>CysticFibrosis</b>	eSensor CF Genotyping Test	OsmetechMolecularDiagnostics
	xTAG Cystic Fibrosis 60 Kit v2	LuminexMolecularDiagnosticsInc.
	xTAG Cystic Fibrosis 39 Kit v2	LuminexMolecularDiagnosticsInc.
	Verigene CFTR and Verigene CFTR PolyTNucleic Acid Tests	Nanosphere, Inc
	InPlex CF Molecular Test	Third Wave Technology, Inc.
	CysticFibrosisGenotypingAssay	Celera Diagnostics
	Tag-It Cystic Fibrosis Kit	Tm Bioscience Corporation
<b>Drugmetabolizingenzymes</b>	eSensor Cystic Fibrosis Carrier Detection System	Clinical Micro Sensors, Inc.
	xTAG CYP2D6 Kit v3	LuminexMolecularDiagnostics, Inc.
	xTAG CYP2D6 Kit v3	LuminexMolecularDiagnostics, Inc.
	Spartan RX CYP2C19 Test System	SpartanBioscience, Inc.
	Verigene CYP2C 19 Nucleic Acid Test	Nanosphere, Inc.
	INFINITI CYP2C19 Assay	AutoGenomics, Inc.
	Invader UGT1A1 MolecularAssay	Third Wave Technologies Inc.
	Roche AmpliChip CYP450 microarray	Roche Molecular Systems, Inc.
	eSensorWarfarinSensitivity Saliva Test	GenMarkDiagnostics
	eQ-PCR LC WarfarinGenotyping kit	TrimGen Corporation
	eSensor Warfarin Sensitivity Test and XT-8 Instrument	OsmetechMolecularDiagnostics
	Gentris Rapid Genotyping Assay - CYP2C9 & VKORC1	ParagonDx, LLC
	INFINITI 2C9 & VKORC1 Multiplex Assay for Warfarin	AutoGenomics, Inc.
	Verigene Warfarin Metabolism Nucleic Acid Test and Verigene System	Nanosphere, Inc.
xTAG CYP2C19 KIT V3	LUMINEX MOLECULAR DIAGNOSTICS, INC.	
<b>HeartTransplant</b>	AlloMapMolecularExpressionTesting	xDx
<b>HEREDITARY THROMBOPHILIA</b>	IMPACT DX FACTOR V LEIDEN AND FACTOR II GENOTYPING TEST	SEQUENOM, INC./AGENA Bioscience
<b>Myelodysplasticsyndrome / myeloproliferativedisease</b>	Fluorescence in situ hybridization, platelet-derived growth factor receptor, beta polypeptide (pdgfrb), rearrangement	ARUP LABORATORIES
<b>Myeloproliferativedisease / Polycythemia Vera</b>	Ipsogen JAK2 RGQ PCR Kit	QIAGEN INC
<b>Non-Small Cell Lung Cancer</b>	VYSIS ALK BREAK APART FISH PROBE KIT	ABBOTT MOLECULAR, INC.
	Cobas EGFR MUTATION TEST v2	Roche Molecular Systems, Inc.
	THERASCREEN EGFR RGQ PCR KIT	QIAGEN MANCHESTER LTD
	Cobas EGFR MUTATION TEST v2	Roche Molecular Systems, Inc.
	Cobas EGFR MUTATION TEST v2	Roche Molecular Systems, Inc.
	OncomineDx Target Test	LIFE TECHNOLOGIES CORPORATION
<b>Severe Combined Immunodeficiency Disorder (SCID)</b>	PerkinElmer Enlite TREC Test System	Wallac OY
<b>Tissue of Origin</b>	Pathwork Tissue of Origin Test Kit – FFPE	PathworkDiagnosticsInc.
	Pathwork Tissue of Origin Test	PathworkDiagnosticsInc.
	Tissue of Origin Test Kit - FFPE	Cancer Genetics, Inc.
<b>TumorProfiling</b>	MSK-IMPACT (Integrated Mutation Profiling Of Actionable Cancer Targets):A Hybridization-Capture Based Next Generation Sequencing Assay	Memorial Sloan-Kettering Cancer Center

Tabella 1. Dispositi medici approvati dall'FDA.

## Dispositivi indossabili per applicazioni biomedicali

Il monitoraggio dei parametri vitali assume una rilevanza fondamentale nel prevedere fenomeni di acutizzazione dei sintomi e per supportare il paziente nella cura. Il recente sviluppo di nuove tecniche e tecnologie per il monitoraggio del corpo umano, delle tecnologie di comunicazione, dell'informatica associata e dell'elettronica digitale, consente ora di esaminare a distanza i dati dei pazienti, compresi i segni vitali di routine, quali la temperatura corporea, il battito cardiaco, l'attività cerebrale. I dispositivi indossabili rendono

oggi i dati dei pazienti facilmente accessibili e possono essere impiegati per facilitare il monitoraggio di un trattamento farmacologico/riabilitativo o più in generale lo stato di salute del paziente.

Questa tipologia di dispositivi risulta di particolare interesse in ambito medico in quanto assolvono le funzioni tradizionalmente limitate di grandi e costosi dispositivi presenti negli ospedali. Per fare un esempio, in ambito pediatrico, offrono la possibilità di valutare e monitorare la funzione cerebrale del neonato a rischio di sviluppare menomazioni neuro-evolutive. I metodi attualmente utilizzati per il monitoraggio della funzione cerebrale neonatale includono l'ultra-sonografia, la risonanza magnetica, l'elettroencefalogramma e la spettroscopia funzionale nel vicino infrarosso. Queste modalità sono applicate a pazienti affetti da malattie che colpiscono il cervello, come emorragia intracranica, meningite e encefalopatia ischemica ipossica. L'osservazione dei segni clinici di disfunzione cerebrale, come le convulsioni, può essere fatta solo in presenza di un medico che può valutare l'occorrenza e il tipo di convulsioni osservando la natura, la velocità e l'ampiezza dei movimenti. Tuttavia, la moltitudine di sensori e cavi spesso può causare disagio ai neonati, aumentando sia la complessità del lavoro clinico sia limitando il contatto fisico tra i genitori e il loro bambino. Un altro scenario clinico che richiede un monitoraggio continuo è la valutazione dei movimenti generali. I metodi attualmente utilizzati per l'analisi qualitativa dei comportamenti motori dei bambini includono l'analisi del movimento stereo fotogrammetrico e un approccio basato sul monitoraggio dello sguardo.

Negli ultimi anni, per effettuare il monitoraggio dell'attività fisiologiche i sensori più comunemente utilizzati sono i seguenti:

- **Accelerometri:** misurano l'accelerazione lungo un asse sensibile e in un particolare intervallo di frequenze. Gli accelerometri a tre assi sono solitamente impiegati per fornire informazioni di posizionamento di tipo tridimensionale.
- **Giroscopi:** misurano la velocità angolare (di rotazione) sugli assi X, Y e Z. Abbinati agli accelerometri, essi possono fornire informazioni più accurate relative al posizionamento tridimensionale. La combinazione tra accelerometri e giroscopi fornisce informazioni su 6 assi.
- **Magnetometri:** questi dispositivi garantiscono un rilevamento ancora più preciso della posizione. Le informazioni aggiuntive relative al campo magnetico consentono agli algoritmi di rilevamento di compensare le piccole variazioni che si manifestano su periodi di tempo molto lunghi, così da rilevare con maggior accuratezza la variazione assoluta della posizione e dell'orientamento. La combinazione tra magnetometri, accelerometri e giroscopi fornisce informazioni su 9 assi.

- **Sensori ambientali:** misurano la temperatura dell'ambiente, la pressione atmosferica e l'umidità e possono fornire un quadro preciso delle condizioni ambientali, utile per conferire una maggiore accuratezza al monitoraggio dell'attività umana grazie all'abbinamento tra informazioni relative al posizionamento e i dati delle condizioni ambientali.

Altri tipi di sensori comunemente impiegati per il monitoraggio dell'attività umana, soprattutto nel caso di applicazioni medicali, sono in grado di misurare:

- **Temperatura corporea:** la variazione della temperatura misurata sulla pelle può fornire un'indicazione della condizione fisiologica di una persona e i livelli di attività.
- **Battito cardiaco:** si tratta di una variabile regolata con molto precisione che riveste un ruolo critico per la salute di una persona.

Nel settore della riabilitazione, le misure fisiologiche di interesse includono la frequenza cardiaca, la frequenza respiratoria, la pressione sanguigna, l'ossigeno nel sangue, la saturazione e l'attività muscolare. Parametri estratti da tali misure possono fornire indicatori dello stato di salute e hanno un elevato valore diagnostico.

Di seguito mostriamo alcuni dispositivi indossabili attualmente in commercio utili per diverse applicazioni quali ad esempio il monitoraggio dello stato di salute e la terapia (**Fig. 3**):

- **KardiaMobile e KardiaBand** è un dispositivo medico che rileva anomalie nel battito e nella frequenza cardiaca e riscontra possibili fibrillazioni atriali;
- **Owlet** è un dispositivo medico in grado di monitorare la frequenza cardiaca, i livelli di ossigeno e il sonno;
- **ADAM** è un piccolo dispositivo adesivo per l'erogazione di farmaci intracutanei che consente un rapido assorbimento nel flusso sanguigno. ADAM viene applicato sulla pelle utilizzando un applicatore portatile riutilizzabile a basso costo pronto all'uso.

Quelli riportati sono solo alcuni degli esempi che il mercato tecnologico oggi offre e alcuni degli scenari che si presentano al medico. La strada per un effettivo utilizzo dei dispositivi indossabili nella pratica clinica è ancora lunga in quanto non può prescindere da una approvazione da parte delle autorità competenti. La FDA è responsabile della regolamentazione delle aziende che fabbricano, confezionano, importano dispositivi medici venduti negli Stati Uniti. Per questa tipologia di dispositivi le aziende produttrici devono fornire una grande quantità di informazioni alla FDA, riguardanti sia la gestione,

protezione e l'accesso alle informazioni estrapolate dai test sia la qualità dei dati raccolti. Le dinamiche di mercato nelle situazioni ad elevata criticità o in qualsiasi altro scenario di utilizzo in ambito medico richiedono che si presti attenzione all'interoperabilità, alla convenienza e all'accuratezza. Fino ad ora, il lungo processo di approvazione da parte della FDA ha rallentato la produzione e la messa in commercio di tali tecnologie soprattutto per applicazioni mediche.



**Fig. 3.** Dispositi indossabili in commercio utili per monitoraggio dello stato di salute e la terapia.

## Conclusioni

Nell'ambito delle malattie rare l'applicazione di metodi diagnostici basati sul monitoraggio e/o sull'identificazione di quei tratti caratteristici che vengono alterati dalle malattie, risulta essere di primaria importanza per consentire una diagnosi precoce ed una terapia personalizzate. Lo sviluppo di un numero sempre maggiore di dispositivi miniaturizzati da utilizzare come strumenti diagnostici per l'individuazione rapida di biomarcatori circolanti ha dato vita ad una nuova era della medicina moderna indirizzata a supportare i medici nella gestione e nel monitoraggio del trattamento terapeutico, nel prendere in maniera tempestiva le decisioni più opportune e nel programmare il piano clinico più appropriato da utilizzare per il paziente non solo nell'ambito ospedaliero, ma anche a casa. È proprio grazie a queste tecniche innovative, che è possibile diagnosticare malattie molto gravi in fase ancora non dannosa prima della comparsa dei sintomi caratteristici, determinare in alcune situazioni, la predisposizione dei soggetti a determinate malattie aumentando così il campo di prevenzione che la medicina può offrire oggi.

**Conflitto di interesse.** L'autore dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.

## ***Bibliografia***

Biosensors in Clinical Practice: Focus on Oncohematology. Nicola S. Fracchiolla et al. *Sensors* 2013, 13, 6423-6447; doi:10.3390/s130506423.

Making Meaningful Clinical Use of Biomarkers. Matthew J Selleck, et al. *Biomarker Insights* Volume 12: 1-7; DOI: 10.1177/1177271917715236

Application of Electrochemical Biosensors in Clinical Diagnosis. Rastislav Monosik et al., *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 26: 22-34 (2012).

Disease-Related Detection with Electrochemical Biosensors: A Review. Ying Huang et al. *Sensors* 2017, 17, 2375; doi:10.3390/s17102375.

Disposable Biosensors for Clinical Diagnosis. Bruno Campos Janegitz et al. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology* Vol. 14, 378-389, 2014 doi:10.1166/jnn.2014.9234

Biosensors for Diagnostic Applications. Friederike J. Gruhl et al. *Molecular Diagnostics* pp 115-148; doi.org/10.1007/10\_2011\_13

Biosensors for biomarkers in medical diagnostics. Mascini M, Tombelli S. *Journal Biomarkers*, Volume 13, 2008 - Issue 7-8; doi.org/10.1080/13547500802645905



# CELLULE STAMINALI PLURIPOTENTI INDOTTE, RIVOLUZIONE TECNOLOGICA PER LO STUDIO E IL TRATTAMENTO DELLE MALATTIE RARE

Rosario Iemmolo, Gabriele Bonaventura

In Europa si definisce come malattia rara una condizione patologica con una prevalenza inferiore alla soglia di 5 individui affetti su 10.000 persone. Sebbene questa percentuale possa sembrare irrisoria, nel loro complesso le malattie rare colpiscono dall'8 al 10% della popolazione mondiale, impattando pesantemente sui pazienti, le loro famiglie e sui sistemi sanitari nazionali. Sulla base di dati epidemiologici e genomici raccolti, esistono approssimativamente 7.000 malattie rare uniche nel mondo, l'80% delle quali ascrivibili a difetti genetici. A peggiorare la gravità clinica delle malattie rare contribuiscono difficoltà diagnostiche e terapeutiche dovute alla carenza di conoscenze medico-scientifiche. Queste carenze hanno spinto i ricercatori di tutto il mondo a compiere consistenti sforzi nel *modeling disease*, nella capacità di replicare anche in parte gli effetti o processi patologici di una mutazione attraverso l'uso di modelli animali e cellulari. I tradizionali modelli *in vivo* ed *in vitro* tuttavia falliscono nella capacità di traslare scoperte terapeutiche in trials clinici validi a causa di incongruenze anatomiche, genetiche e fenotipiche. Lo sviluppo della tecnologia delle cellule staminali pluripotenti indotte (iPSCs) sta rivoluzionando il mondo della ricerca medico-scientifica. Grazie ad essa è possibile riprogrammare geneticamente una cellula adulta pienamente differenziata in una linea cellulare completamente differente mantenendo il proprio background genetico e capaci quindi di riflettere i meccanismi molecolari che sottintendono la patofisiologia della malattia del singolo individuo. Mediante questa tecnologia è stato possibile identificare markers di patologia o compiere studi farmacologici altrimenti irraggiungibili, soddisfacendo così i criteri della medicina personalizzata e di precisione. Infine, la tecnologia iPSCs, in combinazione con le più moderne tecniche di editing genetico e dell'industria dei biomateriali, apre futuristici scenari nel campo della medicina rigenerativa.

---

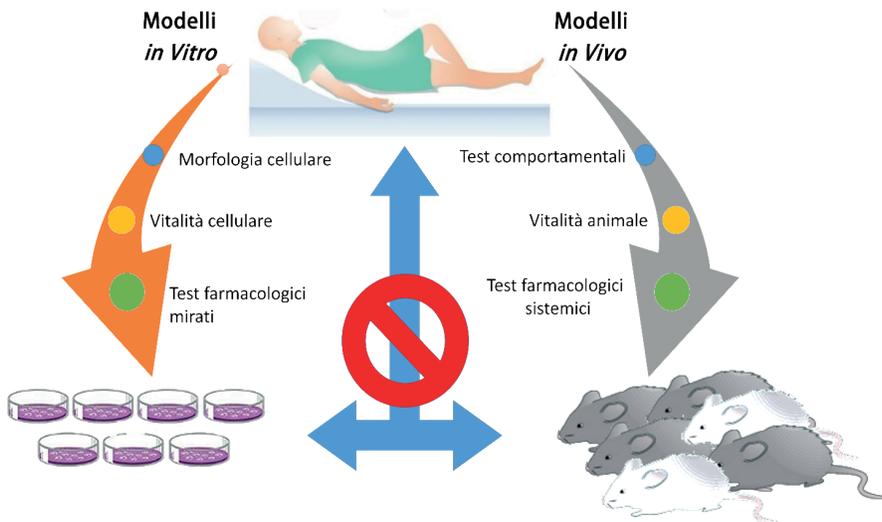
## Introduzione

Per definizione, una malattia viene considerata rara quando caratterizzata da bassa prevalenza. La soglia di prevalenza tuttavia cambia da paese a paese, in Europa la soglia è inferiore ai 5 individui affetti su 10.000 persone (prevalenza < 0,0005%) [1]. Sebbene questa percentuale possa sembrare irrisoria, nel loro complesso le malattie rare colpiscono dall'8 al 10% della popolazione mondiale, impattando pesantemente sui pazienti, le

loro famiglie e sui sistemi sanitari nazionali [2]. Circa la metà delle malattie rare si manifesta già in età pediatrica causando o ritardi nello sviluppo fisico e mentale o malformazioni anatomiche anche severe, rappresentando la causa principale di morte infantile in circa il 20% dei casi [3]. Sulla base di dati epidemiologici e genomici raccolti, esistono approssimativamente 7.000 malattie rare uniche nel mondo, l'80% delle quali causate da difetti genetici. In base al numero di geni mutati, le malattie rare possono essere distinte in monogeniche, quali la neurofibromatosi I e II, l'Atassia di Friedrich e diverse malattie metaboliche congenite, quando sono causate da mutazioni su di un singolo gene, e malattie poligeniche, quali ad esempio l'anemia di Fanconi e le distrofie muscolari, dove l'eterogeneità genetica contribuisce all'insorgenza di un unico fenotipo patologico. A peggiorare la gravità clinica delle malattie rare contribuiscono difficoltà diagnostiche e terapeutiche dovute alla carenza di conoscenze medico-scientifiche ed al poco interesse che le case farmaceutiche hanno e avrebbero nella ricerca e produzione di farmaci utilizzabili da pochissimi "clienti". Infatti, è stato stimato che esistono trattamenti terapeutici solo per meno del 10% di esse [2].

Nozioni dettagliate ed accurate sono necessarie per definire pratiche mediche, politiche di governo e pianificazioni dei sistemi sanitari. La carenza di conoscenze sui meccanismi eziopatogenetici alla base delle malattie rare ha spinto quindi i ricercatori di tutto il mondo a compiere consistenti sforzi nel *modeling disease*, cioè nella capacità di replicare in laboratorio i difetti genetici e fenotipici alla base della sintomatologia della malattia in esame in maniera sufficientemente attendibile. Ad oggi, i ricercatori hanno potuto contare su animali geneticamente modificati (modelli animali o *in vivo*) o su linee cellulari immortalizzate (modelli cellulari o *in vitro*) per svolgere studi di modeling disease. Questi due modelli di studio, seppur largamente utilizzati, presentano diverse limitazioni: il primo si avvale dell'uso di animali geneticamente modificati che non sono in grado di replicare efficacemente tutte le interazioni genoma-ambiente-malattia tipiche dell'uomo, quindi non sono sempre capaci di riflettere i meccanismi patogenetici di una malattia umana [4]. Seppur filogeneticamente vicini all'uomo, esistono differenze anatomiche, metaboliche e genetiche consistenti tra il topo e l'uomo. Ad esempio, i modelli murini transgenici comunemente usati nel *modeling* delle malattie neurodegenerative, inclusa la Sclerosi Laterale Amiotrofica (SLA), che esprimono elevati livelli del fattore trascrizionale TDP-43, soffrono di una riduzione della motilità gastrica ed hanno una ridotta longevità indipendentemente dai difetti del sistema nervoso centrale [5]. Emblematico è anche il caso dei modelli murini usati nello studio della malattia di Parkinson caratterizzati dalla mancata riduzione del numero dei neuroni dopaminergici

nigrostriatali. Nell'uomo, mutazioni sul gene *PARK2* sono altamente correlate alla malattia di Parkinson, mentre le differenze genetiche del gene omologo *Park2* nel topo sono alla base della mancanza del fenotipo patologico nel modello animale creato attraverso delezioni di parti di questo gene [6]. La seconda strategia di modeling disease utilizza colture di cellule umane nelle quali meccanismi di immortalizzazione cellulare (biologici o fisici) possono alterare irreversibilmente il fenotipo cellulare limitando il loro utilizzo in studi funzionali. Tutto ciò, quindi, si riflette spesso in una incapacità nel traslare scoperte terapeutiche in trials clinici validi (Fig. 1) [7].



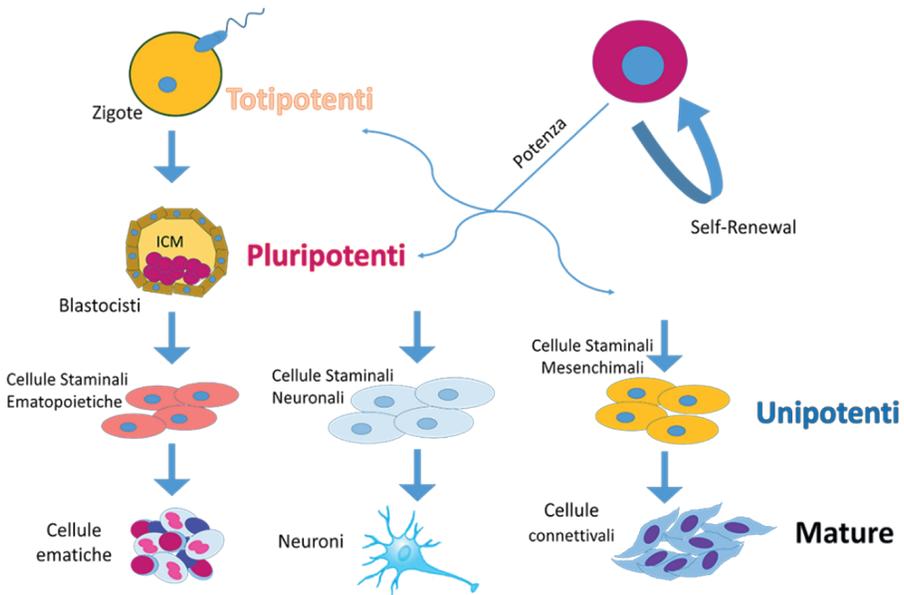
**Fig. 1. Metodi classici per lo studio delle malattie umane.** Modelli animali in vivo e Modelli cellulari in vitro rappresentano gli unici mezzi a disposizione dei ricercatori per lo studio delle malattie umane. Questi due modelli di studio, seppur largamente utilizzati, presentano diverse limitazioni: il primo si avvale dell'uso di animali geneticamente modificati (idealmente rappresentati nell'immagine dai topi bianchi) che tuttavia non sono sempre in grado di replicare efficacemente i meccanismi patogenetici di una malattia umana a causa di differenze anatomiche, metaboliche e genetiche tra topo e uomo. Il secondo modello utilizza colture di cellule umane patologiche immortalizzate. I meccanismi di immortalizzazione cellulare (biologici o fisici) possono alterare irreversibilmente il fenotipo cellulare limitando il loro utilizzo in studi funzionali. Tutto ciò, quindi, si riflette spesso in una incapacità nel traslare scoperte terapeutiche in trials clinici validi.

Le difficoltà intrinseche di questi approcci tradizionali sono stati in parte superate recentemente grazie allo sviluppo della tecnologia delle cellule staminali pluripotenti indotte (*induced Pluripotent Stem Cells* - iPSCs). Questa tecnologia sta rivoluzionando il mondo della ricerca medico-scientifica. Grazie ad essa infatti è possibile riprogrammare una cellula somatica adulta, preleva-

bile da campioni biologici tissutali dei pazienti in maniera mininvasiva come un prelievo di sangue periferico o un punching cutaneo, in una cellula staminale pluripotente dalla quale sarà possibile in laboratorio dare origine alla linea cellulare di maggior interesse nello studio di una determinata patologia.

## Cellule staminali e lo sviluppo della tecnologia delle iPSCs

**L**e problematiche associate al trattamento di patologie legate alla perdita di funzionalità o al semplice invecchiamento di organi e tessuti hanno orientato, negli ultimi anni, l'interesse della ricerca scientifica verso la medicina rigenerativa. L'obiettivo è quello di ripristinare la funzionalità degli organi compromessi, o almeno di migliorarla. In verità tutta la medicina, ad eccezione di quella preventiva, può essere definita rigenerativa, e si pone perciò l'esigenza di una definizione più puntuale e precisa di questo nuovo orizzonte. La Medicina rigenerativa identifica l'insieme delle ricerche e delle terapie che, nel perseguire l'obiettivo della rigenerazione, utilizzano le cellule staminali. Le terapie cellulari hanno come protagoniste le cellule staminali (SCs). Le cellule staminali sono cellule primitive, non specializzate e clonogeniche caratterizzate da due proprietà particolari: self-renewal o autorinnovamento e capacità differenziativa o potenza. L'autorinnovamento rappresenta la capacità delle cellule staminali di dividersi un numero infinito di volte mantenendo il medesimo stadio differenziativo. L'autorinnovamento viene mantenuto dalle cellule staminali grazie a due processi opposti: la divisione asimmetrica e il differenziamento stocastico. Tramite la divisione asimmetrica, la cellula staminale genera due cellule figlie delle quali una resterà staminale, l'altra differenzierà in una cellula più matura e specializzata. Il differenziamento stocastico invece è un meccanismo grazie al quale la popolazione di cellule staminali di un tessuto si mantiene inalterata poiché le cellule staminali dividendosi si manterranno tali o differenzieranno in percentuali pressoché identiche. La seconda caratteristica delle cellule staminali è la capacità differenziativa, la possibilità cioè di dare origine a diverse linee o fenotipi cellulari mediante il processo differenziativo. In base alla loro potenza, le cellule staminali possono essere classificate in **totipotenti** in grado di replicare un intero organismo vivente incluso il sincizio placentare-trofoblastico, **pluripotenti** in grado di dare origine ai tre foglietti embrionali (endoderma, mesoderma ed ectoderma) dal quale originano tutti i tessuti e organi, e **multi-** o **unipotenti** dalle quali originano poche linee cellulari mature. Gli organismi viventi superiori, quali i mammiferi, uomo incluso, sono costituiti da quattro classi di cellule staminali: embrionali, germinali primordiali, fetali e somatiche, ognuna delle quali caratterizzata da un peculiare livello di potenza (**Fig. 2**) [8].



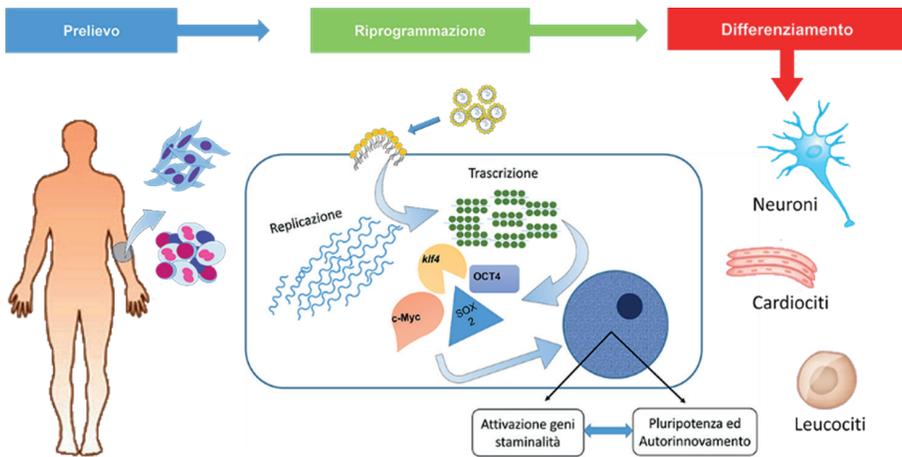
**Fig. 2. Caratteristiche e classificazione delle cellule staminali.** Le cellule staminali sono caratterizzate da autorinnovamento e capacità differenziativa. L'autorinnovamento rappresenta la capacità delle cellule staminali di dividersi un numero infinito di volte mantenendo il medesimo stadio differenziativo. La potenza è la capacità di dare origine a diverse linee o fenotipi cellulari mediante il processo differenziativo. In base alla loro potenza, le cellule staminali possono essere classificate in totipotenti (nell'uomo l'unica cellula totipotente è lo zigote) in grado di replicare un intero organismo, pluripotenti (caratteristica delle cellule della Inner Cell Mass (ICM) della blastocisti) in grado di dare origine ai tre foglietti embrionali (endoderma, mesoderma ed ectoderma) dal quale originano tutti i tessuti e organi, e multi- o unipotenti dalle quali originano poche linee cellulari mature, quali cellule ematopoietiche, cellule neuronali o connettivali.

I processi fisiologici alla base dell'abilità dei mammiferi di rigenerare cellule, tessuti o parti di organi hanno attirato l'attenzione di molti ricercatori in tutto il mondo. Lo scopo di questi studi è la possibilità di sviluppare terapie basate sul trapianto cellulare per la cura di patologia umana orfane e al momento incurabili, campo che prende il nome di medicina rigenerativa. Nonostante lo sviluppo di terapie cellulari sia molto promettente ed affascinante, esso implica difficoltà tecniche, mediche e soprattutto etiche. Sinora la principale fonte di cellule staminali pluripotenti era rappresentata da embrioni umani vivi. Le tecniche di raccolta delle cellule staminali embrionali comporta un elevato rischio di distruzione dell'embrione in quanto necessitano dell'apertura della blastocisti e del prelievo delle cellule della massa interna (*Inner Cell Mass*, ICM). L'elevato rischio di aborto, anche dietro consenso della madre, in

Europa e soprattutto in Italia hanno reso queste tecniche altamente controllate dalle legislature vigenti che ne limita fortemente l'utilizzo rasentando un divieto assoluto. Nei rari casi in cui si renda possibile la raccolta delle cellule della massa interna della blastocisti, si palesano difficoltà tecniche. Le cellule staminali pluripotenti sono molto delicate e difficilmente coltivabili in laboratorio tanto che solo centri dedicati possiedono il know-how necessario per questi studi. Infine, le terapie cellulari si basano sul trapianto in un organismo ospite (il malato) di cellule curative. Queste terapie sottostanno alle stesse regole di istocompatibilità e rigetto dei trapianti d'organo. Perciò è necessario stabilire la compatibilità immunologica tra donatore e ricevente e, nonostante la confermata compatibilità, può rendersi necessario somministrare al paziente farmaci immunosoppressori per ridurre ulteriormente il rischio di un rigetto o reazioni di ipersensibilità iatrogena.

La capacità di riprogrammare cellule somatiche adulte in cellule pluripotenti ha rivoluzionato lo scenario dei modelli cellulari in vitro per l'analisi delle malattie umane e lo sviluppo di nuove strategie terapeutiche nel campo della medicina rigenerativa. Questa tecnica di riprogrammazione cellulare è stata messa a punto nel 2006 dai ricercatori Kazutoshi Takahashi e Shinya Yamanaka, i quali hanno dimostrato che l'induzione mediante vettore retrovirale di quattro geni codificanti per i fattori trascrizionali KLF4, MYC, OCT4 e SOX2, sia sufficiente a riprogrammare geneticamente una cellula somatica adulta in una cellula staminale pluripotente, del tutto simile alle cellule staminali embrionali della blastocisti sia per morfologia, potenza, self-renewal, e antigeni di superficie, ottenendo così una **cellula staminale pluripotente indotta** (iPSC) [9, 10] capace di dare origine a qualsiasi tipo cellulare maturo dell'organismo di partenza altrimenti inaccessibili, come cardiomiociti o cellule nervose (**Fig. 3**).

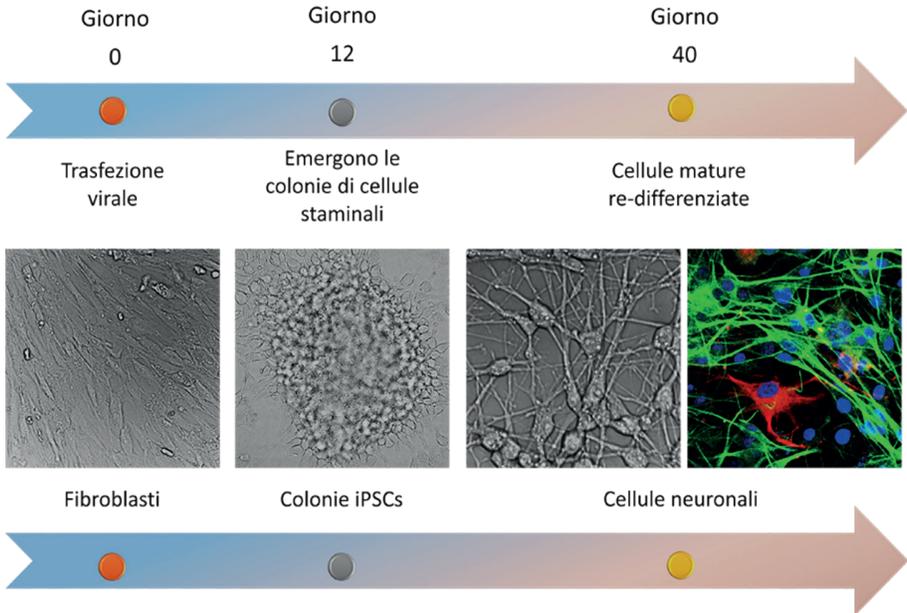
Sebbene centinaia di geni siano attivi nelle cellule embrionali, studi sull'intero genoma di queste cellule hanno dimostrato come le caratteristiche di staminalità si basino su pochi geni, tra questi SOX2, MYC, OCT4 e pochi altri attraverso meccanismi finemente regolati sia a livello trascrizionale che post-trascrizionale [8]. Un ruolo importante è svolto dai due fattori trascrizionali OCT4 e SOX2. Questi due fattori trascrizionali costituiscono un core regolatorio coinvolto sia nell'attivazione di geni che regolano il mantenimento dello stato pluripotente indifferenziato sia nella repressione di geni che regolano invece la differenziazione e la specificazione tissutale. Il mantenimento di questo circuito regolatorio trascrizionale è cruciale nel mantenimento della pluripotenza delle cellule staminali, così come ogni leggera variazione nell'espressione o nell'attività di questo particolare core regolatorio sia sufficiente per iniziare i processi di differenziazione e specificazione



**Fig. 3. La tecnologia iPSC.** La tecnologia iPSCs consiste nella capacità di riprogrammare una cellula somatica adulta matura in un citotipo diverso. Questa tecnologia si basa sulla scoperta di Takahashi e Yamanaka i quali hanno dimostrato la capacità dei quattro fattori trascrizionali KLF4, OCT4, SOX2 e c-MYC introdotti mediante vettori basati su retrovirus di riprogrammare una cellula somatica adulta riattivandone i geni della staminalità ed inducendola a cellula staminale caratterizzata da pluripotenza ed autorinnovamento. Questa cellula ha preso il nome di cellula staminale pluripotente indotta (iPSC). Con opportuni mezzi di coltura e protocolli differenziativi, la cellula iPSC può dare origine a qualsiasi altra cellula somatica adulta, quale ad esempio un neurone, un cardiomiocita o un leucocita.

cellulari [11]. Una volta introdotti i fattori di riprogrammazione, le modifiche nella trascrizione dei geni coinvolti al mantenimento della pluripotenza sono accompagnate da modifiche fenotipiche e comportamentali nella cellula riprogrammata. Questa infatti subirà un rimodellamento citoscheletrico diventando rotondeggiante ed andrà incontro ad espansione clonale generando corpi embrioidi, delle colonie sferoidee ricche di cellule pluripotenti indotte. Raggiunta una determinata dimensione, questi sferoidi possono essere isolati e re-differenziati nella cellula di maggior interesse in tempi più o meno brevi (**Fig. 4**).

Partendo dallo sviluppo delle tecniche di riprogrammazione, i protocolli sperimentali atti alla generazione delle iPSCs hanno avuto un rapido incremento. La tecnologia iPSCs oggi si è rivelata particolarmente utile nel caso dello studio e diagnosi *in vitro* delle patologie umane, sviluppo di farmaci e nella medicina rigenerativa superando quei veti etici e morali che insorgono nell'uso delle cellule staminali embrionali umane.



**Fig. 4. Esempio pratico di riprogrammazione cellulare mediante la tecnologia iPSCs.** La figura mostra la timeline semplificata di un protocollo di differenziamento cellulare. I fibroblasti prelevati da un paziente tramite punch biopsy, dopo trasfezione virale formeranno colonie sferoidee di iPSCs pronte ad essere isolate in circa 12 giorni. Dopo essere state isolate, iniziano i protocolli di differenziazione con mezzi di coltura e molecole biologiche (fattori di crescita, citochine, ed altri) peculiari del tipo cellulare maturo che si vuole ottenere. Nell'esempio, è mostrato il differenziamento della colonia iPSCs in cellule nervose in circa 40 giorni. L'avvenuto differenziamento è dimostrato dall'espressione di marcatori specifici di cellule nervose quali la tubulina  $\beta$  III (marcatore neuronale, in verde) e la proteina acida gliofibrillare GFAP (marcatore gliale, in rosso).

## Lo studio delle malattie rare tramite la tecnologia delle iPSCs

### Vantaggi della tecnologia iPSCs nello studio delle malattie rare

**S**in dal suo sviluppo, la tecnologia iPSCs ha mostrato un grande potenziale nello studio della patogenesi delle malattie rare. Infatti, la capacità di riprogrammare mediante questa tecnologia cellule ormai specializzate facilmente accessibili mediante un prelievo di sangue periferico o un punching tissutale in un qualsiasi fenotipo cellulare sotto opportuni stimoli, ha dato alla ricerca medico-scientifica una spinta rilevante. Il principale van-

taggio delle iPSCs paziente specifiche consiste nella possibilità di costruire un modello cellulare contenente il genoma, e quindi la mutazione patogena specifica del paziente, dal quale esse derivano. Esse sono quindi capaci di riflettere i meccanismi molecolari che sottintendono la patofisiologia della malattia del singolo individuo. I modelli basati sull'uso delle cellule staminali rappresentano un potente mezzo di studio dei disordini di origine genetica. Diversi studi condotti sulle malattie rare monogeniche hanno permesso una maggiore comprensione dei loro meccanismi patologici, specialmente quando essi producono un particolare e riconoscibile fenotipo cellulare, rendendo possibile una diagnosi molecolare e cellulare completa [12]. Grazie a questa tecnologia, è possibile studiare ad oggi diverse malattie rare dell'uomo comprese le malattie rare infantili dello sviluppo come ad esempio la disautonomia familiare, una neuropatia periferica autosomica recessiva rara e letale con un'incidenza di 1:3.600 nati vivi, causata da una mutazione puntiforme sul gene *IKBKAP* (*inhibitor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells, kinase complex-associated protein*) e caratterizzata dalla perdita dei neuroni autonomi e sensoriali. Lo studio di questa malattia attraverso la tecnologia iPSCs ha permesso di chiarire meglio il coinvolgimento dei neuroni periferici e i meccanismi della loro morte dimostrando un difetto nello *splicing* dell'RNA messaggero di *IKBKAP* tessuto specifica. Infatti le cellule precursori del sistema nervoso ottenute da pazienti affetti tramite iPSCs, esprimono bassi livelli del normale trascritto di *IKBKAP* suggerendo un meccanismo molecolare che spieghi i difetti nello sviluppo del sistema nervoso nell'embrione. Inoltre attraverso questo modello è stato possibile validare la potenza di farmaci candidati nel sovvertire l'aberrazione dei meccanismi di *splicing* del gene migliorando lo sviluppo di cellule nervose in vitro [13]. Recentemente la tecnologia iPSCs è stata utilizzata anche per lo studio della senescenza cellulare attraverso l'impiego di diverse molecole stressogene, quali perossido di idrogeno o antibiotici, in grado di generare specie reattive dell'ossigeno (ROS) e produrre danni mitocondriali [7, 14], o piccole molecole in grado di inibire l'attività delle telomerasi producendo i chiari effetti dell'invecchiamento cellulare come danni al DNA, ai mitocondri, generazione di ROS e la deregolazione di altri enzimi come la tirosina idrossilasi [15]. Queste ricerche hanno contribuito nello sviluppo di modelli per lo studio delle sindromi dell'invecchiamento precoce, come la progeria di Hutchinson-Gilford, patologia sporadica estremamente rara (prevalenza < 1/1.000.000) caratterizzata da invecchiamento prematuro a insorgenza postnatale e causata da una mutazione de novo dominante, ricorrente e troncante il gene della lamina A, permettendo così l'identificazione di markers legati all'invecchiamento cellulare che possono essere utilizzati per la diagnosi precoce di malattie più

comuni e ad insorgenza tardiva come la malattia di Parkinson [16, 17]. Un ulteriore vantaggio dell'utilizzo della tecnologia iPSCs nel modeling delle malattie umane è rappresentato dalla possibilità di ricreare e di studiare in laboratorio le interazioni spaziali tra i diversi fenotipi cellulari, siano essi sani che patologici, che costituiscono organi e tessuti umani. La cooperazione di diversi sottotipi cellulari immersi nella medesima coltura cellulare (condizione definita co-coltura) ha permesso diverse scoperte sui meccanismi patologici alla base delle malattie rare umane. Ciò ha permesso ad esempio di chiarire meglio i meccanismi di neurotossicità alla base della Sclerosi Laterale Amiotrofica, che risultano maggiormente evidenti quando motoneuroni derivanti da iPSCs di pazienti vengono co-coltivati con cellule gliali che esibiscono mutazioni per il gene *SOD1* (*SuperOssido Dismutasi tipo 1*) [18]. Una recente tecnica di coltura cellulare permette di ottenere strutture organoidi tridimensionali. In queste strutture è possibile studiare non solo le interazioni tra diversi tipi cellulari come abbiamo appena visto, ma anche le interazioni tra le cellule e il particolare microambiente dell'organoide tridimensionale, che mima più fedelmente un tessuto umano. Questa tecnica, combinata alla tecnologia iPSCs, ha permesso l'identificazione di un difetto migratorio di interneuroni nella Sindrome di Timothy, malattia multisistemica autosomica dominante caratterizzata da mutazioni del gene *CACNA1C* (*Calcium Voltage-Gated Channel Subunit Alpha1 C*) della quale sono stati descritti ad oggi meno di 20 casi nel mondo (Prevalenza < 1/1.000.000). La Sindrome di Timothy, oltre alla caratteristica facies costituita da sella nasale infossata, orecchie a bassa attaccatura, mascella ipoplasica e labbro superiore sottile, è caratterizzata anche da un difetto dello sviluppo neurologico con tratti autistici o disturbi dello spettro dell'autismo [19, 20]. Il difetto migratorio delle cellule neuronali evidenziato *in vitro*, potrebbe riflettere difetti di gastrulazione embrionale, spiegando la comparsa dei sintomi neurologici. In futuro, la capacità di fondere la tecnologia iPSCs con le moderne tecniche di colture e protocolli di differenziazione cellulari in un unico modello di malattia è destinata a diventare una necessità indispensabile per la comprensione dei difetti nelle organizzazioni spaziali tra cellule e nella morfogenesi tissutale che avvengono nelle malattie rare [21].

### **Principali svantaggi della tecnologia iPSCs nello studio delle malattie rare**

Nonostante l'avanzamento delle tecniche di riprogrammazione e differenziazione di cellule pluripotenti indotte, così come il loro uso a scopi diagnostici e terapeutici, diverse difficoltà limitano ancora l'uso delle iPSCs nello studio

e nel trattamento clinico delle malattie rare. I principali fattori limitanti sono rappresentati non soltanto dalla rarità delle malattie da studiare, ma anche dalla relativa pericolosità dei vettori utilizzati per la trasformazione cellulare, dai protocolli attualmente a disposizione per la generazione di modelli iPSCs, il mantenimento del background genomico ed epigenetico delle cellule pienamente re-differenziate, gli elevati costi economici e lunghi periodi di tempo necessari per la generazione dei modelli iPSCs, e la necessità di personale altamente qualificato e specializzato per studi iPSCs di alta qualità. I primi vettori utilizzati per introdurre i geni necessari alla riattivazione della staminalità, erano basati su retrovirus modificati e quindi in grado di interagire con il DNA genomico delle cellule ospiti, modificandolo permanentemente. Nonostante i transgeni retrovirali siano normalmente silenziati, la loro attività residua o la loro riattivazione può interferire con lo sviluppo delle cellule somatiche derivate da cellule iPS [22]. Il potenziale mutagenico dei retrovirus era rappresentato dall'integrazione genomica del gene *MYC*, un potente oncogene, in grado di iniziare lo sviluppo teratogenetico e carcinogenetico. Ciò ha spinto i ricercatori ad escogitare nuove strategie di riprogrammazione cellulare in modo da rendere i protocolli di differenziazione più sicuri ed allo stesso tempo più efficaci [23]. Diverse precauzioni sono state quindi adottate per minimizzare e virtualmente eliminare l'alterazione del DNA ad opera dei vettori virali impiegati, come l'uso di metodi liberi da integrazione [24], plasmidi episomici [25] o virus non integranti come il Sendai Virus (SeV) [26]. I vettori basati su SeV ricombinante hanno mostrato vantaggi unici in diversi utilizzi: innanzitutto questi vettori possiedono un più elevato numero di cellule ospiti bersaglio; inoltre la loro replicazione citoplasmatica evita l'integrazione di geni esogeni nel genoma della cellula ospite conferendo loro una minore patogenicità e rendendo la riprogrammazione maggiormente controllabile.

Una importante limitazione nell'utilizzo della tecnologia iPSCs consiste nel grado di eterogeneità delle cellule ottenute, dovuta alla scarsa efficienza di riprogrammazione delle cellule somatiche dei protocolli di differenziazione, alla variabilità dei modelli in differenziamento e nella loro funzionalità [27]. Il problema maggiore associato all'utilizzo di queste metodiche è la ridotta efficienza di riprogrammazione, stimata intorno al 2% delle cellule trasfettate. Ciò è dovuto soprattutto al non mantenimento dell'espressione dei fattori per un tempo sufficiente per permettere il completo rimodellamento epigenetico necessario. Inoltre, la generazione di linee cellulari di interesse può essere limitata dalla disponibilità dei protocolli differenziativi: mentre per il differenziamento di diversi tessuti neurali o cardiaci sono disponibili diversi protocolli consolidati, è necessario sviluppare metodi specifici per particolari

tipi di cellule bersaglio [28-31]. A causa della eterogeneità genetica inter-individuale, campioni di diversi pazienti dovrebbero essere raccolti e differenziati contemporaneamente. Tuttavia, la scarsa disponibilità di soggetti affetti da una particolare malattia rara ne limita la fattibilità. Pertanto, le analisi condotte su cellule iPSCs paziente specifiche che mostrano genotipi e fenotipi tipici della malattia, sono fondamentali nel dedurre gli effetti patologici di una particolare mutazione.

Altro fattore limitante è rappresentato dalla capacità delle cellule iPSCs di conservare lo stato epigenetico delle cellule somatiche usate nei protocolli di differenziazione. I meccanismi di memoria epigenetica che garantiscono il mantenimento dello stato di metilazione tessuto specifica non vengono sempre pienamente rimossi durante la riprogrammazione e ciò impatta negativamente sul differenziamento della linea cellulare di interesse e quindi sull'efficienza del protocollo di differenziazione in uso [32-34].

Nonostante queste limitazioni, la capacità intrinseca alle procedure di riprogrammazione giustificano e ripagano da tali limitazioni. Inoltre, gli sforzi effettuati per la generazione di bio-banche di iPSCs umane trovano largo impiego non solo nel tenere conto della variabilità all'interno dei modelli di malattia, ma anche a generare leucociti o altre linee cellulari umane immunocompatibili e trapiantabili per terapie sostitutive.

---

### **Trattamenti clinici delle malattie rare tramite la tecnologia iPSC: Studi farmacologici e screening terapeutici**

Come detto in precedenza, la più grande limitazione dei modelli *in vitro* ed *in vivo* è la scarsa capacità di traslare nella pratica clinica i risultati farmacologici ottenuti dal loro utilizzo. La tecnologia iPSCs trova largo uso anche come piattaforma per lo sviluppo, lo screening, e per predire l'efficacia di nuovi approcci farmacologici. Questi progressi sono stati particolarmente utili nella definizione delle risposte cellulari riscontrabili in malattie rare con disfunzioni neurologiche e cardiache dovute a deficit genomici e funzionali ben definiti a trattamenti farmacologici innovativi [13, 28, 29, 35-37]. Recentemente la tecnologia iPSCs ha permesso di chiarire gli effetti benefici di neuropeptidi fisiologicamente riscontrabili nel sistema nervoso centrale in un modello di motoneuroni derivati da cellule mononucleate del sangue periferico indotti ad apoptosi in modo da mimare la morte dei motoneuroni corticali, evento ritenuto alla base dell'eziopatogenesi della SLA [28]; o come visto in precedenza, attraverso la tecnologia iPSCs è stato possibile correggere difetti di *splicing* del gene *IKBKAP* proponendo un trattamento farmacologico innovativo per la cura della disautonomia familiare [13].

La tecnologia iPSCs trova ampio utilizzo anche nel campo della farmacogenetica in quanto, grazie ad essa, è possibile predire la tossicità di farmaci. Studi condotti su cellule simili ad epatociti derivati da iPSCs generate da pazienti con diverse mutazioni nei geni codificanti per il complesso enzimatico del citocromo P450 hanno replicato in maniera attendibile le funzioni epatiche alla base delle differenze farmacocinetiche interindividuali [38]. La capacità di predire ed interpretare in maniera accurata gli effetti e il metabolismo dei farmaci è necessaria per evitare la comparsa di reazioni avverse nel paziente, ciò è altrettanto vero ed ancor più necessario nel contesto delle malattie rare, dove il ridotto numero di pazienti a disposizione limita trials clinici mirati. Finora, i pazienti sono stati costretti ad affidarsi a casi clinici di sindromi correlate per decisioni terapeutiche riguardanti le loro cure. Inoltre, l'incentivo per lo sviluppo di farmaci da parte delle aziende farmaceutiche è generalmente poco attraente considerando la mancanza di una consistente quota di mercato e il mancato recupero dei capitali investiti, nonostante le diverse politiche sui farmaci orfani, destinati alla cura delle malattie rare, adottate da diversi paesi in tutto il mondo, primi tra tutti gli Stati Uniti con il Orphan Drug Act del 1983, seguiti da Giappone e Australia nel 1993 e 1997 rispettivamente, e infine dagli Stati Membri dell'Unione Europea con il Regolamento (CE) n° 141/2000 e il Regolamento (CE) n° 847/2000.

L'uso della tecnologia iPSCs per aumentare specificamente la scoperta di farmaci utilizzabili nel trattamento delle malattie rare e multifattoriali ha molte promesse, prestandosi alla medicina di precisione che garantisce sicurezza individualizzata e analisi di efficacia. Inoltre, i metodi di screening farmacologici basati su modelli iPSCs per la cura delle malattie rare possono riguardare lo studio di farmaci precedentemente approvati dagli enti governativi di competenza accelerando i percorsi terapeutici [39, 40].

---

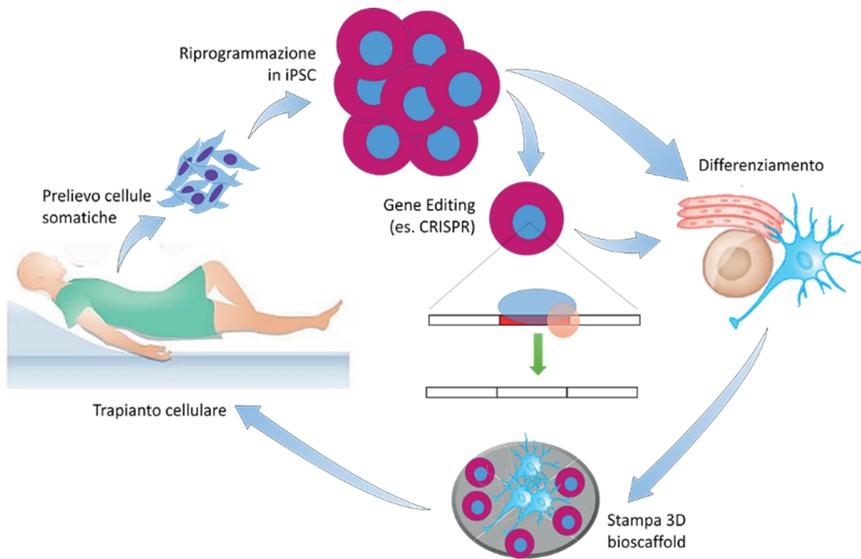
### Prospettive future: trapianti cellulari e gene editing

**A**bbiamo precedentemente accennato come le cellule generate mediante la tecnologia iPSCs derivate dalle cellule somatiche del paziente possano essere applicate nel campo della medicina rigenerativa e della terapia cellulare sostitutiva annullando il rischio di un rigetto, considerata l'immunocompatibilità dei derivati iPSCs in un trapianto cellulare autologo [41]. Diversi studi clinici hanno utilizzato la tecnologia iPSCs come fonte per la generazione di derivati cellulari impiantabili per il trattamento di patologie rare come la degenerazione maculare legata all'età [42]. Tuttavia, rigide linee guida e profili di sicurezza sono necessari prima che le applicazioni cliniche delle terapie basate su iPSCs possano

essere realizzate. Negli studi di trapianti e terapie cellulari devono essere prese in considerazione potenziali complicanze del tipo specifico di cellule da rimpiazzare o la latente teratogenicità di quei cloni iPSCs che non sono andati incontro a disattivazione dei fattori trascrizionali introdotti durante la riprogrammazione o ancora lo scarso attecchimento delle cellule trapiantate [43]. Come visto nei paragrafi precedenti, diverse strategie sono già state sviluppate in modo da prevenire ed evitare l'integrazione nel genoma del paziente dei geni codificanti i fattori di riprogrammazione necessari ad indurre la pluripotenza, abbattendo di fatto il potenziale teratogeno di queste cellule. La prospettiva di poter rimpiazzare le cellule malate di un paziente è uno scenario medico attraente per la gestione clinica delle patologie rare attualmente orfane di qualsiasi trattamento clinico e farmacologico. Tuttavia, come detto in precedenza, uno dei punti di forza della tecnologia iPSC consiste nella capacità di riprogrammare cellule di un paziente mantenendone inalterato il loro background genomico. Ciò comporta che si andrebbero ad inoculare nel paziente cellule portanti ancora la mutazione causativa della malattia. A tale scopo, tecniche di *editing* genetico sono state sviluppate. Ad oggi, il sistema CRISPR/cas9 ha trovato largo utilizzo nel generare cellule iPSCs modificate geneticamente per lo sviluppo di modelli malattia da donatori sani [44-46] o correggere difetti genetici patologici secondo due meccanismi: escissione delle basi mutate e conseguente introduzione delle basi corrette [47-49] o mediante il silenziamento del gene difettoso [50] in maniera precisa e permanente, facile ed economica [51].

Ai sistemi di *gene editing* si affianca il concetto dei bio-inchiostri. Un numero sempre crescente di studi scientifici ed aziende stanno sviluppando biomateriali quali gelatina, collagene, alginato, matrigel, grafene e tanti altri, stampabili in 3D, i quali possono essere "intrisi" di cellule staminali [52] e facilmente impiantabili. Questi scaffolds tridimensionali aiutano le cellule impiantate ad adattarsi al nuovo ambiente dove svolgere le loro funzioni curative come la sostituzione di tessuti molli e duri, di alberi vascolari o tessuti conduttivi o funzioni metaboliche (**Fig. 5**) [53-56].

Nonostante questi avanzamenti tecnici e bio-tecnologici, nessun protocollo differenziativo ad oggi ha ancora acquisito il consenso da parte delle agenzie regolatorie per lo sviluppo di un iter clinico standardizzato ma sicuramente aiuteranno al superamento di questi veti per il trattamento delle malattie rare.



**Fig. 5.** *La tecnologia iPSCs applicate alla medicina rigenerativa.* Le cellule somatiche prelevate dal paziente malato possono essere riprogrammate in iPSCs e modificate geneticamente mediante CRISPR/cas9 in maniera tale da rimuoverne i difetti genetici. Fatto ciò, le cellule “guarite” possono essere trapiantate nel soggetto di partenza grazie anche allo sviluppo di biomateriali o scaffold biocompatibili.

## Ringraziamenti

Gli autori ringraziano Cristina Cali, Alfia Corsino, Maria Patrizia D’Angelo, Francesco Rabboni and Francesco Marino per il loro supporto tecnico ed amministrativo.

**Conflitti di interesse.** Gli autori Rosario Iemmolo e Gabriele Bonaventura dichiarano di non aver alcun conflitto di interesse.

**Studi condotti su esseri umani e animali.** L’articolo non contiene alcuno studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori

## **Bibliografia**

De Vrueth, R., E. Baekelandt, and J. De Haan, *Background paper 6.19 rare diseases*. 2013, Technical report, World Health Organization, Geneva.

Melnikova, I., *Rare diseases and orphan drugs*. 2012, Nature Publishing Group.

Heron, M., et al., *Deaths: final data for 2006*. 2009.

Chester, N., et al., *Stage-specific apoptosis, developmental delay, and embryonic lethality in mice homozygous for a targeted disruption in the murine Bloom's syndrome gene*. *Genes & development*, 1998. 12(21): p. 3382-3393.

Hatzipetros, T., et al., *C57BL/6J congenic Prp-TDP43A315T mice develop progressive neurodegeneration in the myenteric plexus of the colon without exhibiting key features of ALS*. *Brain research*, 2014. 1584: p. 59-72.

La Cognata, V., et al., *Increasing the Coding Potential of Genomes Through Alternative Splicing: The Case of PARK2 Gene*. *Curr Genomics*, 2014. 15(3): p. 203-16.

Hamlin, R.L. and R.A. Altschuld, *Extrapolation from mouse to man*. 2011, Am Heart Assoc.

Bonaventura, G., et al., *Induced Pluripotent Stem Cells: An Innovative Patient-Specific Neurodegenerative Disease Modeling*, in *Journal of Stem Cell and Transplantation Biology*. 2017. p. 9.

Takahashi, K. and S. Yamanaka, *Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors*. *Cell*, 2006. 126(4): p. 663-76.

Takahashi, K., et al., *Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors*. *Cell*, 2007. 131(5): p. 861-72.

Wang, J., et al., *A protein interaction network for pluripotency of embryonic stem cells*. *Nature*, 2006. 444(7117): p. 364-8.

Davis, R.P., et al., *Cardiomyocytes derived from pluripotent stem cells recapitulate electrophysiological characteristics of an overlap syndrome of cardiac sodium channel disease*. *Circulation*, 2012: p. CIRCULATIONAHA. 111.066092.

Lee, G., et al., *Modelling pathogenesis and treatment of familial dysautonomia using patient-specific iPSCs*. *nature*, 2009. 461(7262): p. 402.

Byers, B., et al., *SNCA triplication Parkinson's patient's iPSC-derived DA neurons accumulate  $\alpha$ -synuclein and are susceptible to oxidative stress*. *PloS one*, 2011. 6(11): p. e26159.

Vera, E., N. Bosco, and L. Studer, *Generating late-onset human iPSC-based disease*

*models by inducing neuronal age-related phenotypes through telomerase manipulation.* Cell reports, 2016. 17(4): p. 1184-1192.

Miller, J.D., et al., *Human iPSC-based modeling of late-onset disease via progerin-induced aging.* Cell stem cell, 2013. 13(6): p. 691-705.

Liu, G.-H., et al., *Recapitulation of premature ageing with iPSCs from Hutchinson–Gilford progeria syndrome.* Nature, 2011. 472(7342): p. 221.

Di Giorgio, F.P., et al., *Non-cell autonomous effect of glia on motor neurons in an embryonic stem cell-based ALS model.* Nature neuroscience, 2007. 10(5): p. 608.

Smith, Q., et al., *Stochasticity and spatial interaction govern stem cell differentiation dynamics.* Scientific reports, 2015. 5: p. 12617.

Birey, F., et al., *Assembly of functionally integrated human forebrain spheroids.* Nature, 2017. 545(7652): p. 54.

Anderson, R.H. and K.R. Francis, *Modeling rare diseases with induced pluripotent stem cell technology.* Molecular and cellular probes, 2018.

Niwa, H., J.-i. Miyazaki, and A.G. Smith, *Quantitative expression of Oct-3/4 defines differentiation, dedifferentiation or self-renewal of ES cells.* Nature genetics, 2000. 24(4): p. 372-376.

Welstead, G.G., T. Brambrink, and R. Jaenisch, *Generating iPSC cells from MEFS through forced expression of Sox-2, Oct-4, c-Myc, and Klf4.* J Vis Exp, 2008(14).

Yu, J., et al., *Human induced pluripotent stem cells free of vector and transgene sequences.* Science, 2009. 324(5928): p. 797-801.

Woltjen, K., et al., *piggyBac transposition reprograms fibroblasts to induced pluripotent stem cells.* Nature, 2009. 458(7239): p. 766.

Nakanishi, M. and M. Otsu, *Development of Sendai virus vectors and their potential applications in gene therapy and regenerative medicine.* Curr Gene Ther, 2012. 12(5): p. 410-6.

Hu, B.-Y., et al., *Neural differentiation of human induced pluripotent stem cells follows developmental principles but with variable potency.* Proceedings of the National Academy of Sciences, 2010. 107(9): p. 4335-4340.

Bonaventura, G., et al., *PACAP and PAC1R are differentially expressed in motor cortex of amyotrophic lateral sclerosis patients and support survival of iPSC-derived motor neurons.* J Cell Physiol, 2017.

Lahti, A.L., et al., *Model for long QT syndrome type 2 using human iPSC cells demonstrates arrhythmogenic characteristics in cell culture.* Disease models & mechanisms, 2012. 5(2): p. 220-230.

Lopez-Onieva, L., et al., *Induced pluripotent stem cells derived from Bernard-Soulier Syndrome patient's peripheral blood cells with a p. Phe55Ser mutation in the GPIX*

gene. *Stem cell research*, 2017. 20: p. 10-13.

Paşca, S.P., et al., *Using iPSC-derived neurons to uncover cellular phenotypes associated with Timothy syndrome*. *Nature Medicine*, 2011. 17: p. 1657.

Kim, K., et al., *Epigenetic memory in induced pluripotent stem cells*. *Nature*, 2010. 467(7313): p. 285.

Ohi, Y., et al., *Incomplete DNA methylation underlies a transcriptional memory of somatic cells in human iPSCs*. *Nature cell biology*, 2011. 13(5): p. 541.

Kim, K., et al., *Donor cell type can influence the epigenome and differentiation potential of human induced pluripotent stem cells*. *Nature biotechnology*, 2011. 29(12): p. 1117.

DeRosa, B.A., et al., *Derivation of autism spectrum disorder-specific induced pluripotent stem cells from peripheral blood mononuclear cells*. *Neuroscience letters*, 2012. 516(1): p. 9-14.

Malan, D., et al., *Human iPSC cell model of type 3 long QT syndrome recapitulates drug-based phenotype correction*. *Basic research in cardiology*, 2016. 111(2): p. 14.

Shcheglovitov, A., et al., *SHANK3 and IGF1 restore synaptic deficits in neurons from 22q13 deletion syndrome patients*. *Nature*, 2013. 503(7475): p. 267.

Takayama, K., et al., *Prediction of interindividual differences in hepatic functions and drug sensitivity by using human iPSC-derived hepatocytes*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2014. 111(47): p. 16772-16777.

Ko, H.C. and B.D. Gelb, *Concise review: drug discovery in the age of the induced pluripotent stem cell*. *Stem cells translational medicine*, 2014. 3(4): p. 500-509.

Suh, W., *A new era of disease modeling and drug discovery using induced pluripotent stem cells*. *Archives of pharmacal research*, 2017. 40(1): p. 1-12.

Morizane, A., et al., *Direct comparison of autologous and allogeneic transplantation of iPSC-derived neural cells in the brain of a nonhuman primate*. *Stem cell reports*, 2013. 1(4): p. 283-292.

Mandai, M., et al., *Autologous induced stem-cell-derived retinal cells for macular degeneration*. *New England Journal of Medicine*, 2017. 376(11): p. 1038-1046.

Trounson, A. and N.D. DeWitt, *Pluripotent stem cells progressing to the clinic*. *Nature reviews Molecular cell biology*, 2016. 17(3): p. 194.

Horii, T., et al., *Generation of an ICF syndrome model by efficient genome editing of human induced pluripotent stem cells using the CRISPR system*. *International journal of molecular sciences*, 2013. 14(10): p. 19774-19781.

Shinkuma, S., Z. Guo, and A.M. Christiano, *Site-specific genome editing for correction of induced pluripotent stem cells derived from dominant dystrophic epidermolysis bullosa*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 2016. 113(20): p. 5676-5681.

- Gupta, R.M., et al., *Genome-Edited Human Pluripotent Stem Cell-Derived Macrophages as a Model of Reverse Cholesterol Transport*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2015: p. ATVBAHA. 115.305956.
- Li, H.L., et al., *Precise correction of the dystrophin gene in duchenne muscular dystrophy patient induced pluripotent stem cells by TALEN and CRISPR-Cas9*. Stem cell reports, 2015. 4(1): p. 143-154.
- Ishikawa, T., et al., *Genetic and pharmacological correction of aberrant dopamine synthesis using patient iPSCs with BH4 metabolism disorders*. Human molecular genetics, 2016. 25(23): p. 5188-5197.
- Xu, X., et al., *Reversal of phenotypic abnormalities by CRISPR/Cas9-mediated gene correction in Huntington disease patient-derived induced pluripotent stem cells*. Stem cell reports, 2017. 8(3): p. 619-633.
- Limpitikul, W.B., et al., *A precision medicine approach to the rescue of function on malignant calmodulinopathic long QT syndrome*. Circulation research, 2016: p. CIR-CRESAHA. 116.309283.
- Zhang, F., Y. Wen, and X. Guo, *CRISPR/Cas9 for genome editing: progress, implications and challenges*. Hum Mol Genet, 2014. 23(R1): p. R40-6.
- Lothar, K., et al., *Laser bioprinting of human induced pluripotent stem cells—the effect of printing and biomaterials on cell survival, pluripotency, and differentiation*. Biofabrication, 2018. 10(3): p. 035005.
- Zhang, Q., et al., *3D bio-printed scaffold-free nerve constructs with human gingiva-derived mesenchymal stem cells promote rat facial nerve regeneration*. Sci Rep, 2018. 8(1): p. 6634.
- Pascoal, J.F., et al., *Three-Dimensional Cell-Based Microarrays: Printing Pluripotent Stem Cells into 3D Microenvironments*. Methods Mol Biol, 2018. 1771: p. 69-81.
- Sorkio, A., et al., *Human stem cell based corneal tissue mimicking structures using laser-assisted 3D bioprinting and functional bioinks*. Biomaterials, 2018. 171: p. 57-71.
- Ong, C.S., et al., *3D bioprinting using stem cells*. Pediatric Research, 2017. 83: p. 223.



## BIOINFORMATICA AVANZATA, STRUMENTO EFFICACE PER UNA MEDICINA DI PRECISIONE

*Antonio Gianmaria Spampinato*

**G**estire enormi quantità di dati, analizzare le informazioni biologiche con metodi matematici, statistici e computazionali per comprendere i meccanismi biologici al fine di formulare ipotesi sui processi della vita, è il ruolo affidato alla bioinformatica. Tale disciplina ha assunto un ruolo fondamentale nell'era della genomica perché ha permesso la risoluzione di problemi biologici a livello molecolare con metodi informatici ed ha dato un rilevante contributo nella comprensione della patogenesi delle malattie.

### Banche dati biologiche

**C**on l'avvento e la crescente disponibilità delle tecnologie di sequenziamento di nuova generazione e di quelle ad "alta densità" (ad ex. microarray), si è avuta una crescita esponenziale riguardante la produzione di dati genomici che sono costantemente generati e messi a disposizione da vari gruppi di ricerca. Si è data origine ad una vera e propria rivoluzione scientifica che ha consentito di progettare e realizzare sistemi di condivisione di una grande quantità di "big data". Questo ha contribuito alla creazione di un immenso patrimonio, alimentato anche grazie dai grandi progetti scientifici multicentrici internazionali, come ad esempio il progetto ENCODE (The ENCYclopedia Of DNA Elements) (1), il cui obiettivo è stato quello di costruire una lista completa di elementi funzionali facenti parte del genoma umano, mappando sistematicamente regioni di trascrizione utili per la formazione di proteine e gli elementi regolatori che controllano le cellule e le circostanze in cui un gene è attivo. Con questo progetto, sono stati generati più di 2600 dataset genomici ottenuti mediante tecnologie innovative quali ChIP-seq, RNA-seq, ChIA-PET, CAGE, high-C, ed altro tipo di esperimenti. Numerosi sono oggi i siti biologici esistenti, ciò in relazione allo sviluppo delle biotecnologie molecolari che hanno portato alla produzione diversificata di enormi quantità di dati.

I siti biologici oggi esistenti sono distinguibili in due macro-categorie:

1. banche dati primarie relative a sequenze nucleotidiche e amminoacidiche; queste contengono informazioni molto generiche, ovvero quel minimo di informazioni associate alla sequenza per identificarla dal punto di vista specie-funzione;
2. banche dati specializzate relative a domini e motivi proteici, strutture proteiche, geni, trascrittoma, profili di espressione, pathways metaboliche

e altro. Queste banche dati derivano dalle primarie mediante l'estrazione di un sottoinsieme funzionale di dati che sono a loro volta caratterizzati dall'aggiunta di informazioni supplementari.

Tra le più rappresentative banche dati di interesse biologico, vi è quella prodotta grazie al progetto Cancer Genome Atlas (TCGA) (2), che racchiude al suo interno un vasto catalogo di informazioni relative a mutazioni somatiche, copy number variation (CNV), profili di espressione genica e proteica, associate a pazienti affetti da varie tipologie di cancro.

In continua crescita, sono i dati presenti all'interno dei repository pubblici, come ad esempio, Array Express (3) ospitato dall'Istituto Europeo di Bioinformatica (EBI) di Hinxton, Regno Unito. È uno dei più grandi archivi di dati di espressione genica del mondo il cui numero che raddoppia ogni anno (4).

---

### Tipologie di dati genomici

**L**a bioinformatica si avvale di numerosi ed innovativi metodi matematici, statistici e computazionali per l'analisi di dati biologici ottenuti da differenti piattaforme, incluse quelle per il sequenziamento del DNA e dell'RNA e quelle relative alla determinazione dei profili di espressione genica nelle diverse condizioni sperimentali (ad ex. microarray).

L'analisi di dati trascrittomici permette di identificare e quantificare i geni e i corrispondenti trascritti di mRNA che sono differenzialmente espressi tra due diverse condizioni sperimentali. L'espressione dei trascritti infatti varia in dipendenza delle condizioni ambientali e della cellula, quindi la quantificazione del trascrittoma è utile a comprendere quali geni siano attivati nelle diverse fasi del ciclo cellulare o nello sviluppo di condizioni patologiche. I risultati di tale analisi possono essere successivamente utilizzati per identificare potenziali biomarcatori per la diagnosi e la prevenzione delle malattie. L'ampia diffusione ed utilizzo di tali piattaforme ha consentito lo sviluppo di numerosi database pubblici per l'archiviazione e l'organizzazione di una così grande mole di dati.

Questi rappresentano uno strumento indispensabile per i ricercatori e i medici operanti nel settore biomolecolare. Tra i più importanti repository pubblici, è possibile annoverare ArrayExpress dell'Istituto Europeo di Bioinformatica e Gene Expression Omnibus del National Center for Biotechnology Information (5),

L'avvento delle tecnologie per il sequenziamento del DNA ad alta risoluzione ha consentito la generazione di un nuovo livello di indagine molto potente per lo studio di genomi, proteine e delle loro associazioni con malattie e

fenotipi, consentendo l'identificazione di potenziali biomarcatori diagnostici e prognostici e target farmacologici. Tali strumenti vengono inoltre utilizzati nella biologia evolutiva, per l'identificazione e l'analisi contemporanea del corredo genomico di intere comunità microbiche (metagenoma) presenti in un determinato ambiente, consentendo una comprensione più approfondita del ruolo ecologico, del metabolismo, della storia evolutiva dei microorganismi in un determinato contesto e di come l'ambiente influisca sulla composizione genomica di intere specie. Le metodologie di analisi di sequenza includono l'allineamento di sequenza e la ricerca all'interno dei database biologici.

Il sequenziamento dell'RNA è utilizzato principalmente come alternativa ai microarrays, ma ne estende l'utilità analitica permettendo l'identificazione di mutazioni, il rilevamento di virus e RNA esogeni, e l'analisi di meccanismi post-trascrizionali e di poliadenilazione. L'analisi di sequenza risulta inoltre essere più efficace dell'analisi di microarray, poiché i dati di sequenza includono informazioni più ricche, ma richiede strumenti analitici più sofisticati e infrastrutture di calcolo per gestire le enormi quantità di dati di sequenza prodotti (6). Tra i più importanti database di sequenze che operano all'interno del settore biologico vi sono: il DNA Data Bank of Japan (DDBJ) (<http://www.ddbj.nig.ac.jp>) che insieme a GenBank e allo European Molecular Biology Laboratory fa parte della International Nucleotide Sequence Database Collaboration; il Ribosomal Database Project (RDP) (<http://rdp.cme.msu.edu>) che fornisce alla comunità di ricerca dati di sequenza dell'RNA ribosomiale (rRNA) allineati e annotati; e il miRBase (<http://www.mirbase.org>) che fornisce i dati di sequenza dei micro RNA (miRNA), le annotazioni, i riferimenti bibliografici e i links ad altre risorse per tutti i miRNA pubblicati. Nell'ambito dell'analisi su larga scala di dati ottenuti da piattaforme -omiche, un ruolo importante è rivestito dallo studio delle interazioni proteina-proteina (PPI) che permettono una corretta comprensione delle funzioni delle proteine, fornendo importanti informazioni su tutti i processi biologici e la costruzione ed analisi di reti di interazione proteica (network). Le interazioni tra proteine sono cruciali per il funzionamento della cellula, pertanto loro anomalie sono la base di varie malattie complesse, incluse quelle oncologiche e neurodegenerative. Le interazioni proteina-proteina sono state studiate in diversi campi di ricerca, come la bioinformatica, la biochimica, la chimica quantistica e la dinamica molecolare, dando così luogo a un volume elevato di dati eterogenei per quanto riguarda le interazioni. Importanti repository contenenti informazioni sulle interazioni proteina-proteina, sono STRING (<http://string.embl.de>) e BioGRID (<http://thebiogrid.org>).

La mancanza di una terminologia standard universale nel campo della biolo-

gia e domini correlati, rende la comunicazione e la condivisione dei dati più difficile. Tramite il progetto Gene Ontology (GO) (<http://www.geneontology.org>), nato nel 1998, i ricercatori hanno a disposizione un vasto database, contenente dati genomici, tramite il quale si possono ottenere informazioni dinamiche, strutturate e specie-indipendente, per facilitare l'interrogazione a diversi livelli. Tale progetto è stato sviluppato su tre vocabolari strutturati e controllati che forniscono una ontologia di termini definiti che rappresentano le proprietà dei prodotti dei geni. Tali ontologie sono organizzate gerarchicamente in una struttura ad albero, includendo le informazioni relative ai processi biologici, ai componenti cellulari e alle funzioni molecolari. Il database GO è stato ampiamente utilizzato per vari scopi, come la creazione di ontologie per le anatomie, per convalidare i risultati di analisi semi-supervisionati e non supervisionati dai dati e per sviluppare linee temporali per organismi modello, malattie umane e ambienti di crescita delle piante. Un vasto numero di strumenti utilizza il database GO per la ricerca bioinformatica. Molti di questi strumenti sono basati su terze parti; tuttavia, il progetto GO stesso mantiene alcuni strumenti, come AmiGO, DAG-Edit e OBO-Edit. La catena di strumenti basata su GO è talmente vasta che esistono strumenti, come SerbGO (7), per cercare gli strumenti GO appropriati per un particolare problema di bioinformatica.

Un altro processo di analisi dell'arricchimento funzionale di insiemi di geni rispetto ai termini della Gene Ontology, è rappresentato dall'analisi delle *pathways* biologiche che risulta utile per comprendere le basi molecolari di una patologia, consentendo di identificare i geni e le proteine associati all'eziologia della stessa e predicendo i possibili bersagli farmacologici. Le principali fonti di dati riguardanti le pathway, sono KEGG (8), il più grande e più consultato database di informazioni genomiche e Reactome (9).

---

## Una nuova era nell'analisi dei dati omici

L'analisi dei dati clinici e biologici è una delle principali sfide affidate alla bioinformatica. L'avanzamento tecnologico ha consentito la produzione di un'enorme quantità di dati ad alta capacità ed elevati throughput, quelli che oggi vengono definiti "big data". Spesso l'applicazione di analisi statistiche dirette, tra controllo e condizione sperimentale, non permette una efficace analisi e ancor meno una corretta interpretazione dei risultati. Per questo motivo sono stati sviluppati metodi computazionali per l'analisi descrittiva e predittiva sui big data che consentano l'apprendimento automatico dai dati. Questi algoritmi sono in grado di estrapolare informazioni utili dal processamento di grandi quantità di dati. Gli algoritmi

di apprendimento automatico si dividono in due ampie classi: algoritmi supervisionati e non supervisionati. Entrambe le classi sono adatte a rispondere a domande distinte, ed entrambe saranno richieste per focalizzare efficacemente i “big data” sui problemi biomedici, apportando un contributo rilevante alla comprensione della patogenesi delle malattie. A tal proposito, questi algoritmi prevedono l’utilizzo di approcci integrativi che combinino in maniera automatica su larga scala i diversi livelli di informazione (genomica, trascrittomica, proteomica, database clinici, letteratura scientifica, dati ambientali, ecc) o che consentano analisi integrative su dataset distinti (metanalisi).

---

### La bioinformatica: strumento per lo studio delle malattie rare

**L**e malattie rare coinvolgono diversi meccanismi genetici e molecolari, che descrivono fenotipi e condizioni diversi e specifici rendendo difficile la concentrazione degli sforzi per ricercare e proporre nuove terapie per i pazienti. La ricerca clinica e la sperimentazione sulle malattie rare devono affrontare evidenti ostacoli: una prevalenza delle patologie estremamente bassa, popolazioni di pazienti piccole ed eterogenee, la difficoltà nel reclutare questi pazienti, la gravità della malattia, la scarsa conoscenza della sua storia naturale e gli elevati tassi di abbandono durante i processi di ricerca e sviluppo. Attualmente non esiste un trattamento farmacologico approvato per il 95% di queste malattie, ma la bioinformatica sta cambiando questa visione (10). L’utilizzo di validi strumenti bioinformatici offre la possibilità di ottenere una migliore comprensione della complessità molecolare alla base delle malattie rare ed esplorare la potenziale applicazione dei farmaci esistenti sul mercato per il trattamento di tali patologie (11).

Attualmente i dati clinici relativi alle malattie rare vengono acquisiti e gestiti in database interni contenenti importanti dati fenotipici ed epidemiologici e mantenuti autonomamente da ricercatori, medici e operatori sanitari. Inoltre tali dati sono spesso localizzati in posizioni geograficamente distanti, come uffici, istituzioni e ospedali. A causa dell’estrema varietà dei registri dei pazienti affetti da malattie rare, è necessario sviluppare un metodo uniforme e standardizzato di raccolta dei dati che consenta l’implementazione di un *framework* bioinformatico flessibile e generico in grado di far fronte ai progressi in continua evoluzione di tecnologie, algoritmi, formati di dati e infrastrutture cluster ad alte prestazioni, pur consentendo strategie di analisi personalizzate. Nel contesto delle malattie rare, le soluzioni offerte da un approccio bioinformatico riguardano soprattutto il modo in cui i dati dei pazienti vengono acquisiti e analizzati (standard dei dati, protocolli di progettazione e

analisi sperimentale), i sistemi di classificazione delle malattie (ontologie), la condivisione dei dati (interoperabilità, sicurezza, privacy) e la loro gestione (progettazione e implementazione appropriate delle informazioni sistemi di gestione). A sua volta, l'adozione di queste strategie dovrebbe facilitare la ricerca traslazionale e portare infine a migliori protocolli di trattamento del paziente.

Da una prospettiva strategica ci sono una serie di iniziative internazionali che tentano di affrontare almeno alcuni dei colli di bottiglia della bioinformatica nella ricerca sulle malattie rare. Nel 2010, al workshop "Advancing Rare Disease Research: The Intersection of Patient Registries, Biospecimen Repositories, and Clinical Data", l'Ufficio di Ricerca sulle Malattie Rare (ORDR) presso il Centro nazionale per lo sviluppo delle scienze traslazionali (NCATS/NIH) ha avviato un movimento per creare un registro globale di genotipi e fenotipi (dbGaP) come deposito di dati federali del network di ricerca clinica sulle malattie rare (RDCRN). Il *Consorzio Internazionale per la Ricerca sulle Malattie Rare (IRDiRC)* è stato istituito per coordinare gli sforzi della ricerca in questo campo, ottimizzare le scarse risorse, e per fornire ai pazienti delle terapie efficaci nel più breve tempo possibile (12). Per raggiungere questi obiettivi, nel maggio 2015 il Comitato Esecutivo dell'*IRDiRC* ha deciso di costituire una task force che si occupa delle sperimentazioni cliniche nei piccoli gruppi nel campo delle malattie rare, composta da esperti, rappresentanti delle aziende farmaceutiche e delle agenzie per la valutazione dei medicinali. Punto focale di tale attività è la necessità di elaborare approcci bioinformatici innovativi per facilitare la condivisione, l'analisi e l'integrazione di dati provenienti da biobanche e registri, al fine di facilitare la scoperta di strumenti diagnostici e terapie per popolazioni piccole ed eterogenee, quali quelle affette da malattie rare. A tal proposito un progetto interessante promosso dall'Unione Europea nell'ambito del Consorzio IRDiRC, riguarda lo sviluppo di una piattaforma integrata, chiamata RD Connect, in cui i dati delle "omiche" saranno combinati con database, registri, biobanche e bioinformatica clinica per la ricerca nell'ambito delle malattie rare (<http://rd-connect.eu>). Il prodotto più recente di RD-Connect è il "*Registry and Biobank Finder*" un database che, per dirla in modo molto semplificato e sintetico, funziona come un motore di ricerca per individuare i dati e i campioni collegati ai registri e alle biobanche esistenti al mondo nell'ambito delle malattie rare. In pratica, questo strumento dovrebbe permettere di trovare riuniti in un solo "posto" tutti i dati e i campioni utili nello svolgimento di un progetto di ricerca su una determinata malattia rara. Affinché questo strumento possa funzionare al meglio, è necessario che tutti i registri e tutte le biobanche esistenti (o quantomeno una parte significativa di questi) conferiscano a RD Connect

le informazioni essenziali per essere “indicizzati” nel database. A tal fine, dalla sua creazione, RD-Connect ha messo in campo forti collaborazioni con progetti e piattaforme quali *NeurOmics*, che prevede l’utilizzo del sequenziamento genico di nuova generazione per migliorare la conoscenza genetica delle malattie neurodegenerative e neuromuscolari rare, *EURenOmics*, che si concentra sulle cause, sulla diagnosi, sui biomarcatori e sui modelli di malattia per i disturbi renali rari, e l’Archivio Europeo Genoma-Fenoma (*EGA –European Genome-Phenome Archive*). Nel 2018, è stato lanciato il progetto *Solve-RD*, per “risolvere le malattie rare irrisolte”. Questo nuovo progetto è finanziato dal programma di ricerca e innovazione *Horizon 2020* dell’Unione Europea. La piattaforma di RD-Connect svolgerà un ruolo fondamentale in questo progetto e collaborerà con le Reti di Riferimento Europee (ERN) per le malattie neurologiche, per le malattie neuromuscolari, per la disabilità cognitiva e per le sindromi genetiche che determinano rischio tumorale.

Un’ulteriore esempio esplicativo del ruolo chiave che la bioinformatica svolge ormai nella caratterizzazione delle malattie umane complesse, con particolare riferimento ai disordini rari, è rappresentato dal sistema analitico Yabi, una piattaforma online che fornisce ai ricercatori di malattie rare un ambiente intuitivo e facile da usare basato sul web per la creazione, la gestione e la gestione di flussi di lavoro di analisi bioinformatica (<https://ccgapps.com.au/yabi/login/?next=/yabi/>) (13). Yabi implementa flussi di lavoro standardizzati senza soluzione di continuità in una vasta gamma di dati di natura medica per la ricerca sulle malattie rare, consentendo la progettazione e l’implementazione di un quadro bioinformatico flessibile e generico per analisi specializzate dei dati di -omics. Il design modulare e l’architettura di Yabi sono scalabili, altamente configurabili, user-friendly, sicuri e open source.

Altre risorse che recentemente hanno ricevuto l’etichetta “*IRDiRC Recommended*” sono:

- il *Framework per la condivisione responsabile dei dati relativi alla genomica e alla salute* sviluppato nell’ambito della Alleanza Globale per la Genomica e la Salute (*GA4GH*), che fornisce un quadro pratico per la condivisione responsabile dei dati genomici e relativi alla salute. La risorsa è stata elogiata per il suo quadro generale di governance, per la sua metodologia chiara e per il coinvolgimento di una vasta gamma di parti interessate (14);
- *DECIPHER* del Wellcome Trust Sanger Institute, una piattaforma di database che consente la deposizione, l’analisi e la condivisione di fenotipi collegati alle possibili variazioni patologiche in pazienti affetti da malattie

genetiche rare, facilitando la collaborazione e la comunicazione tra medici e scienziati di tutto il mondo. DECIPHER è stata anche definita una risorsa eccellente per lo scambio di informazioni cliniche e genomiche su pazienti che soffrono di patologie per le quali la diagnosi è sconosciuta (15);

- lo *Human Phenotype Ontology (HPO)*, che mira a fornire un vocabolario standardizzato di anomalie fenotipiche incontrate nelle malattie umane. La piattaforma è in fase di sviluppo, con riferimenti incrociati alla letteratura medica, Orphanet, Decipher e OMIM. HPO è stata valutata positivamente perché rappresenterebbe il sistema migliore esistente per standardizzare le informazioni fenotipiche nei registri delle malattie rare (16);
- il consorzio internazionale di *Human Phenotype Terminologies (ICHPT)*, che fornisce alla comunità una serie di termini per descrivere le caratteristiche fenotipiche e per realizzare l'interoperabilità tra le banche dati, in particolare per consentire il collegamento tra database di fenotipo e quello di genotipo per le malattie rare. ICHPT è stata valutata positivamente per la sua facilità di standardizzazione nella descrizione delle caratteristiche delle malattie rare.

In aggiunta allo sviluppo di risorse analitiche centralizzate, la bioinformatica svolge un ruolo chiave nella caratterizzazione dei meccanismi molecolari alla base delle patologie rare e nella messa a punto di strategie diagnostiche e terapeutiche personalizzate. A tal proposito come parte del progetto pilota sulle malattie rare per il Progetto "100.000 Genomi Umani", sono stati sviluppati vari metodi che modellano i dati del fenotipo codificato da HPO da migliaia di pazienti affetti da malattie rare per scoprire se particolari classi di codificazione o aberrazioni genetiche specifiche dei geni regolatori sono condivisi da pazienti con particolari combinazioni di anomalie fenotipiche (17). Questo approccio ha permesso di identificare nuovi geni la cui alterazione risulta essere alla base di malattie ereditarie rare che coinvolgono la formazione di cellule del sangue mieloide, come ad esempio anomalie piastriniche (ad es. Sindrome piastrinica simile a grigia e mielofibrosi; macrotrombocitopenia e deficit uditivo). Inoltre, molte diverse varianti o combinazioni di esse possono essere responsabili di degli stessi fenotipi patobiologici. Ad esempio, ci sono nove geni noti associati alla sindrome di Hermansky-Pudlak e molte varianti differenti all'interno di ciascuno di questi nove geni sono state implicate. È ragionevole presumere che l'eterogeneità genetica possa estendersi su gruppi di più geni che codificano per proteine che interagiscono nello stesso percorso molecolare e che le cause inspiegabili della malattia potrebbero essere individuate cercando varianti tra gruppi di geni che codificano

per proteine interagenti. *IntAct* è la più grande risorsa curata di dati di interazione proteica, contenente 526.612 evidenze di interazione binaria curate dalla letteratura scientifica, basate esclusivamente su evidenze sperimentali (18), in aggiunta alle annotazioni di dominio importate dal database InterPro di famiglie di sequenze proteiche e domini (19).

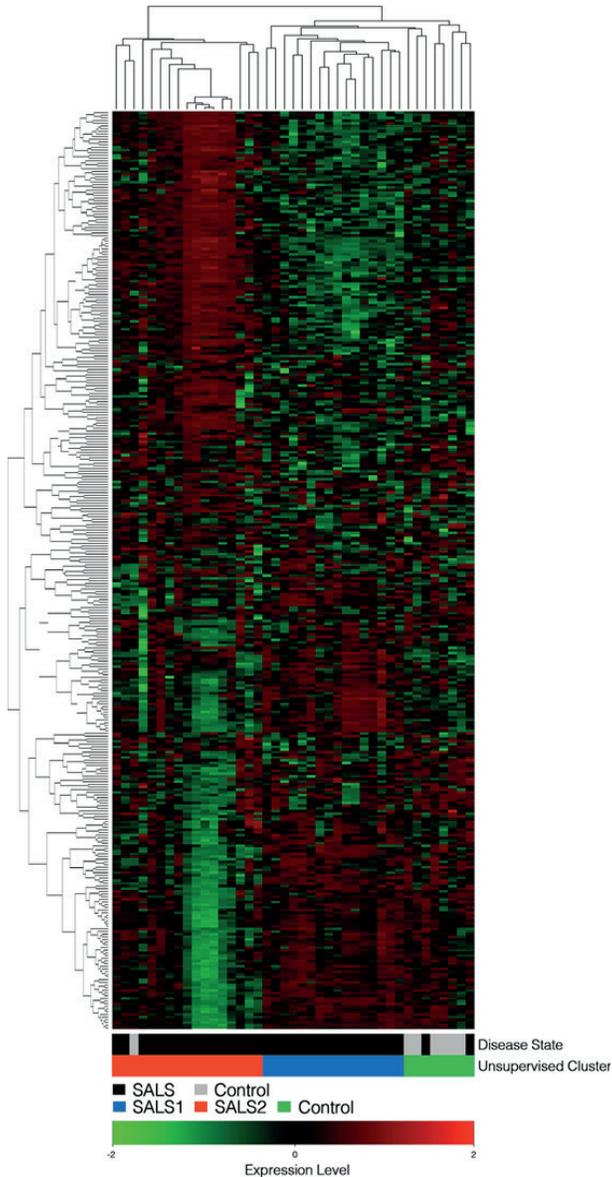
---

## Esempio di uno studio genomico

L'oncologia rappresenta l'esempio più interessante di come le scienze omiche hanno rivoluzionato la comprensione, la diagnosi ed il trattamento delle patologie. Progresso tuttavia modesto se applicato alla caratterizzazione di malattie complesse, quali le patologie neurodegenerative. Il nostro gruppo di ricerca ha recentemente caratterizzato i profili trascrizionali di corteccia motoria di pazienti con SLA di tipo sporadico (20), differenziando questi ultimi in due sottogruppi associati a specifici geni e pathway deregolate ed identificando potenziali biomarcatori e target farmacologici. La classificazione delle malattie costituisce uno strumento necessario per l'attività diagnostica e per l'impostazione personalizzata delle terapie.

I profili trascrittomici del gruppo di studio, sono stati ottenuti da prelievi post morte di campioni di corteccia motoria appartenenti a 41 pazienti; 31 del gruppo in studio e 10 per la fase di validazione indipendente. È stato possibile separare nettamente i profili di espressione ottenuti dai campioni dei pazienti affetti dalla patologia da quelli di controllo. Gli stessi pazienti SLA, sono stati inoltre suddivisi in due sottogruppi caratterizzati da geni e processi biologici differenzialmente deregolati. Con un'analisi simile è stato possibile ottenere in maniera "unsupervised" la stessa suddivisione in gruppi omogenei, caratterizzati da specifici meccanismi fisiopatologici su una analisi ristretta di geni già associati alla SLA ed ottenuti dall'integrazione dei dati presenti nei database ALSod (<http://alsod.iop.kcl.ac.uk/>) and ALSGene (<http://www.alsgene.org>) (21).

Sulla base dei nostri risultati appare evidente la possibilità, con una analisi bioinformatica "automatizzata" dei dati, di ottenere una classificazione molecolare dei pazienti SLA, con vantaggi sia per la diagnosi che per la terapia.



**Fig. 1.** Cluster gerarchico ottenuto mediante classificazione non supervisionata. La clusterizzazione non supervisionata è stata utilizzata per separare i pazienti di controllo e da quelli SLA sulla base della somiglianza dei loro profili di espressione. In questa raffigurazione bidimensionale, ciascuna colonna rappresenta i profili di espressione di ciascun campione di corteccia motoria proveniente dai pazienti di SLA o controllo, mentre ciascuna riga rappresenta una singola sonda genica. Come mostrato nella barra dei colori, rosso indica una up-regolazione del profilo genico, viceversa il verde indica una down-regolazione verde. Nessuna variazione in caso di nero.

---

## Conclusioni

L' avanzamento delle nuove tecniche diagnostiche basate sul genoma ha permesso un notevole progresso nell'individuazione dell'origine genetica delle malattie rare. In questo contesto la bioinformatica con le sue sofisticate tecniche di analisi dei dati, riveste un ruolo di rilievo. In questo settore della medicina più che in altre, diventerà insostituibile. Richiederà nuovi metodi e nuove professionalità, poiché il futuro delle patologie rare, la cui causa non è attribuibile ad un singolo gene mutato ma a complessi meccanismi che coinvolgono aberrazioni in numerose proteine e pathway, è affidato alla ricerca in campo genomico.

Dal punto di vista terapeutico l'identificazione del difetto su base molecolare permetterà di sviluppare protocolli personalizzati di terapia genica e di intervenire con farmaci già esistenti ed approvati (22) o con la sintetizzazione di nuovi, per la sua correzione.

***Conflitti di interesse.** L'autore Antonio G. Spampinato dichiara di non aver alcun conflitto di interesse.*

***Studi condotti su esseri umani e animali.** L'articolo non contiene alcun studio eseguito su esseri umani e su animali da parte degli autori.*

## **Bibliografia**

ENCODE Project Consortium, An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature*. 489, 57–74 (2012).

D. C. Koboldt et al., Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 490, 61–70 (2012).

G. Rustici et al., ArrayExpress update--trends in database growth and links to data analysis tools. *Nucleic Acids Res.*41, D987–90 (2013).

V. Marx, Biology: The big challenges of big data. *Nature*. 498, 255–60 (2013).

E. Clough, T. Barrett, The Gene Expression Omnibus Database. *Methods Mol. Biol.*1418, 93–110 (2016).

A. Nekrutenko, J. Taylor, Next-generation sequencing data interpretation: enhancing reproducibility and accessibility. *Nat. Rev. Genet.*13, 667–672 (2012).

J. L. Mosquera, A. Sánchez-Pla, SerbGO: searching for the best GO tool. *Nucleic Acids Res.*36, W368–71 (2008).

M. Kanehisa, S. Goto, KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes. *Nucleic Acids Res.*28, 27–30 (2000).

D. Croft et al., Reactome: a database of reactions, pathways and biological processes. *Nucleic Acids Res.*39, D691–D697 (2011).

P. Stolk, M. J. Willemsen, H. G. Leufkens, Rare essentials: drugs for rare diseases as essential medicines. *Bull World Heal. Organ.* 84, 745–751 (2006).

A. C. Johnson et al., Studying a Rare Disease Using Multi-Institutional Research Collaborations vs Big Data: Where Lies the Truth? *J Am Coll Surg* (2018), doi:10.1016/j.jamcollsurg.2018.05.009.

R. Thompson et al., RD-Connect: an integrated platform connecting databases, registries, biobanks and clinical bioinformatics for rare disease research. *J Gen Intern Med.* 29 Suppl 3, S780–7 (2014).

A. A. Hunter, A. B. Macgregor, T. O. Szabo, C. A. Wellington, M. I. Bellgard, Yabi: An online research environment for grid, high performance and cloud computing. *Source Code Biol Med.* 7, 1 (2012).

J. Kelleher et al., htsget: a protocol for securely streaming genomic data. *Bioinformatics* (2018), doi:10.1093/bioinformatics/bty492.

E. S. Wright, DECIPHER: harnessing local sequence context to improve protein multiple sequence alignment. *BMC Bioinformatics.* 16, 322 (2015).

S. Kohler et al., The Human Phenotype Ontology in 2017. *Nucleic Acids Res.* 45, D865–D876 (2017).

S. K. Westbury et al., Human phenotype ontology annotation and cluster analysis to unravel genetic defects in 707 cases with unexplained bleeding and platelet disorders. *Genome Med.* 7, 36 (2015).

S. Orchard et al., The MIntAct project--IntAct as a common curation platform for 11 molecular interaction databases. *Nucleic Acids Res.* 42, D358-63 (2014).

A. Mitchell et al., The InterPro protein families database: the classification resource after 15 years. *Nucleic Acids Res.* 43, D213-21 (2015).

E. Aronica et al., Molecular classification of amyotrophic lateral sclerosis by unsupervised clustering of gene expression in motor cortex. *Neurobiol Dis.* 74, 359–376 (2015).

G. Morello, A. G. Spampinato, S. Cavallaro, Molecular Taxonomy of Sporadic Amyotrophic Lateral Sclerosis Using Disease-Associated Genes. *Front Neurol.* 8, 152 (2017).

Y. Y. Li, S. J. Jones, Drug repositioning for personalized medicine. *Genome Med.* 4, 27 (2012).

## **Autori**

### **Claudio Ales**

*Presidente Associazione PTEN Italia*

### **Salvatore Amato**

*Dipartimento di Giurisprudenza, Università degli Studi di Catania*

*Componente del Comitato Nazionale per la Bioetica, e del Comitato etico Catania 1;*

### **Christian Argano**

*U.O.C. di Medicina Interna ad indirizzo geriatrico-riabilitativo, con Diabetologia e Piede Diabetico, Reumatologia, Dermatologia, Lungodegenza; Dipartimento di Medicina, A.R.N.A.S. Civico, Di Cristina, Benfratelli, Palermo.*

*Centro di Riferimento Regionale per le Malattie del Sistema Cardiocircolatorio (vasculiti, sindrome di Budd-Chiari, Linfedemi primari) e Reumatologiche*

### **Maria Chiara Battaglini**

*U.O.C. di Malattie Rare e del Sistema Nervoso in età Pediatrica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

### **Innocenzo Bianca**

*U.O.C. di Cardiologia Pediatrica, Dipartimento Materno infantile, A.R.N.A.S.-Garibaldi, Catania*

### **Gabriele Bonaventura**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

### **Annarita Bongiovanni**

*Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania*

### **Luigi Calvo**

*U.O.C. di Medicina Interna ad indirizzo geriatrico-riabilitativo, con Diabetologia e Piede Diabetico, Reumatologia, Dermatologia, Lungodegenza; Dipartimento di Medicina, A.R.N.A.S. Civico, Di Cristina, Benfratelli, Palermo.*

*Centro di Riferimento Regionale per le Malattie del Sistema Cardiocircolatorio (vasculiti, sindrome di Budd-Chiari, Linfedemi primari) e Reumatologiche*

### **Anna Cardillo**

*Centro Riferimento Regionale Malattie Metaboliche,*

*Centro Screening Neonatale Esteso, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Stefano Catanzaro**

*U.O.C. di Malattie Rare del Sistema Nervoso in Età Pediatrica – A.O.U. Policlinico-Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania*

**Carla Cimino**

*U.O.C. di Pediatria, A.O.U. “Policlinico-Vittorio Emanuele”, Catania*

**Luigi Citrigno**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Elena Commodari**

*Dipartimento di Scienze della Formazione, Università degli Studi di Catania*

**Salvatore Corrao**

*U.O.C. di Medicina Interna ad indirizzo geriatrico-riabilitativo, con Diabetologia e Piede Diabetico, Reumatologia, Dermatologia, Lungodegenza; Dipartimento di Medicina, A.R.N.A.S. Civico, Di Cristina, Benfratelli, Palermo.*

*Centro di Riferimento Regionale per le Malattie del Sistema Cardiocircolatorio (vasculiti, sindrome di Budd-Chiari, Linfedemi primari) e Reumatologiche.*

*Dipartimento PROMISE (Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza “G. D’Alessandro”), Università degli Studi di Palermo*

**Giovanni Corsello**

*Dipartimento di Promozione della Salute, Materno-Infantile, di Medicina Interna e Specialistica di Eccellenza “G. D’Alessandro”, Università degli Studi di Palermo*

**Raffaele Falsaperla**

*U.O.C. di Pediatria, A.O.U. “Policlinico-Vittorio Emanuele”, Catania*

**Marco Fichera**

*Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università degli Studi di Catania IRCCS Associazione Oasi Maria Santissima, Troina, Enna*

**Alberto Fischer**

*Presidente della Sez. Sicilia della Società Italiana di Pediatria*

**Agata Fiumara**

*U.O.C. Clinica Pediatrica,*

*Centro Riferimento Regionale Malattie Metaboliche, A.O.U. “Policlinico-Vittorio Emanuele”, Catania*

**Maria Teresa Garozzo**

*U.O.C. di Malattie Rare e del Sistema Nervoso in età Pediatrica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Loretta Giuliano**

*Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate "G.F. Ingrassia", Università degli Studi di Catania*

**Maria Guarnaccia**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Antonino Gulino**

*Pediatra di Famiglia – Federazione Italiana Medici Pediatri*

**Rosario Iemmolo**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Valentina La Cognata**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Flavia La Mendola**

*U.O.C. di Pediatria, Ospedale S. Elia, Caltanissetta*

**Salvatore Leonardi**

*U.O.C. di Broncopneumologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Gaspare Majelli**

*Federazione italiana sport paralimpici degli intellettivo relazionali*

**Selene Mantegna**

*Scuola di Specializzazione in Pediatria, Università degli Studi di Firenze*

**Silvia Marino**

*U.O. di Clinica Pediatrica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università degli Studi di Catania*

**Teresa Mattina**

*Dipartimento di Scienze Biomediche e Biotecnologiche, Università degli Studi di Catania*

**Laura Mauceri**

*A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Concetta Meli**

*Centro Riferimento Regionale Malattie Metaboliche,  
Centro Screening Neonatale Esteso, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Marianna Messina**

*Centro Riferimento Regionale Malattie Metaboliche,  
Centro Screening Neonatale Esteso, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Giovanna Morello**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Maria Muglia**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Matteo Negro**

*Dipartimento di Scienze politiche e sociali, Università degli Studi di Catania  
Componente del Comitato etico Catania 1.*

**Maria Angela Nicolosi**

*Psicologa Psicoterapeuta, Enna*

**Maria Papale**

*U.O.C. di Broncopneumologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Giuseppe Fabio Parisi**

*U.O.C. di Broncopneumologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Piero Pavone**

*U.O. di Clinica Pediatrica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Dipartimento di  
Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università degli Studi di Catania*

**Concetta Pirrone**

*Dipartimento di Scienze della Formazione, Università degli Studi di Catania*

**Giovanni Pistone**

*U.O.C. di Medicina Interna ad indirizzo geriatrico-riabilitativo, con Diabetologia e Piede  
Diabetico, Reumatologia, Dermatologia, Lungodegenza; Dipartimento di Medicina,  
A.R.N.A.S. Civico, Di Cristina, Benfratelli, Palermo.  
Centro di Riferimento Regionale per le Malattie del Sistema Cardiocircolatorio (vasculiti,  
sindrome di Budd-Chiari, Linfedemi primari) e Reumatologiche*

**Andrea Praticò**

*U.O.P.I. di Malattie Rare del Sistema Nervoso Centrale, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania*

**Federica Raudino**

*Centro Riferimento Regionale Malattie Metaboliche,  
Centro Screening Neonatale Esteso, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Catia Romano**

*U.O.C. di Pediatria, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Claudio Romano**

*U.O. di Gastroenterologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, Dipartimento di Patologia Umana e dell'età evolutiva, Università degli Studi di Messina*

**Corrado Romano**

*U.O.C. di Pediatria e Genetica Medica, IRCCS Associazione Oasi Maria Santissima, Troina, Enna*

**Novella Rotolo**

*U.O.C. di Broncopneumologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Irene Ruggeri**

*U.O.C. di Medicina Interna ad indirizzo geriatrico-riabilitativo, con Diabetologia e Piede Diabetico, Reumatologia, Dermatologia, Lungodegenza; Dipartimento di Medicina, A.R.N.A.S. Civico, Di Cristina, Benfratelli, Palermo.*

*Centro di Riferimento Regionale per le Malattie del Sistema Cardiocircolatorio (vasculiti, sindrome di Budd-Chiari, Linfedemi primari) e Reumatologiche*

**Martino Ruggieri**

*U.O.C. di Malattie Rare e del Sistema Nervoso in età Pediatrica. A.O.U. Policlinico-Vittorio Emanuele, Università degli Studi di Catania*

**Luca Sabino**

*U.O. di Clinica Pediatrica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università degli Studi di Catania*

**Mauro Sapienza**

*U.O.C. di Medicina Interna, Gastroenterologia & Lungodegenza, Ospedale "Umberto I", Azienda Ospedaliera di Enna*

**Marco Andrea Nicola Saporito,**

*A.O.U. "Policlinico-Vittorio Emanuele", Catania*

**Angelo E. Sberna**

*Scuola di Scienze Motorie dell'Università degli Studi Kore di Enna*

**Vito Sofia**

*Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche e Tecnologie Avanzate "G.F. Ingrassia",  
Università degli Studi di Catania*

**Antonio Gianmaria Spampinato**

*Istituto di Scienze Neurologiche, Consiglio Nazionale delle Ricerche*

**Federica Sullo**

*U.O.P.I. di Malattie Rare del Sistema Nervoso Centrale, Dipartimento di Medicina  
Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Catania*

**Lucia Tardino**

*U.O.C. di Broncopneumologia Pediatrica e Fibrosi Cistica, A.O.U. "Policlinico-Vittorio  
Emanuele", di Catania*

**Sebastiano Emanuele Torrisi**

*Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Rare del Polmone, A.O.U. "Policlinico-  
Vittorio Emanuele", Catania*

**Carlo Vancheri**

*Centro di Riferimento Regionale per le Malattie Rare del Polmone, A.O.U. "Policlinico-  
Vittorio Emanuele", Catania*