QUADRIMESTRALE DI ATTUALITA' IN MEDICINA
Pubblicazione registrata al Tribunale di Milano n. 11 del 10 gennaio 2017 - Poste Italiane Spa
Spedizione in Abbonamento Postale - 70% - LO/MI

anno I - n. 1 febbraio 2017

MR la Rivista

La Rivista delle Malattie Rare

editoriale

Perché una Rivista dedicata alle Malattie Rare *B. Bembi*

review

Iperfenilalaninemie: dalla diagnosi alla terapia *I. Mascaro, S. Ferraro, D. Concolino*
La diagnosi prenatale: dalla tradizione all'innovazione *L. Ronzoni, N. Persico, F. Lalatta*

l'opinione

Eliminare le malattie genetiche è eugenismo? *B.M. Assael*

il caso clinico

Sindrome di Maffucci *F. Falvo, M. Ceravolo, D. Concolino*
Istiocitosi a cellule di Langerhans con coinvolgimento osseo e del cavo orale in giovane paziente adulto *E. Passoni, F. Germiniasi, G. Nazzaro, E. Berti*

la pagina dismorfologica

Strani capelli in una bambina che "cambia" lentamente, sotto gli occhi della madre *G. Ciana*

ricerca e innovazione

La Bioinformatica applicata allo studio delle malattie rare *P. Iatrapoulos, E. Daina*

direttore scientifico



Bruno Bembi,
Direttore Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, AOU Santa Maria della Misericordia, Udine

comitato di redazione



Daniela Concolino,
Responsabile Centro Regionale Pediatria Genetica e Malattie Rare, Università degli Studi "Magna Græcia", Catanzaro



Emanuela De Juli,
Responsabile Coordinamento Aziendale Malattie Rare, Struttura complessa di Pneumologia, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano



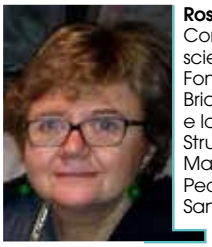
Angelo Selicorni
Direttore Unità Operativa Complessa di Pediatria, ASST-Lariana, Como



Daniela Damiani,
Professore Associato di Ematologia, Dipartimento di scienze mediche sperimentali e cliniche, AOU Santa Maria della Misericordia, Udine



Faustina Lalatta,
Responsabile UOSD di Genetica Medica, Dipartimento Area della Donna del Bambino e del Neonato, Fondazione IRCCS Ca' Granda, Milano



Rossella Parini
Consulente medico-scientifico per la Fondazione Monza e Brianza per il Bambino e la sua Mamma, Struttura Semplice Malattie Rare, Clinica Pediatrica, Ospedale San Gerardo, Monza



Erica Daina,
Responsabile Laboratorio di Documentazione e Ricerca sulle Malattie Rare, IRCCS - Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Bergamo



Laura Obici,
Dirigente Medico I livello, Centro per lo Studio e la Cura delle Amiloidosi Sistemiche, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia



Andrea Elena Dardis
Responsabile Laboratorio, Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, AOU Santa Maria della Misericordia, Udine



Dario Roccatello,
CMID Centro di Ricerche di Immunopatologia e Documentazione su Malattie Rare Coordinamento Inter-regionale Rete Malattie Rare del Piemonte e della Valle d'Aosta SCDU Nefrologia e Dialisi Osp. San Giovanni Bosco e Università di Torino

MR la Rivista
La Rivista delle Malattie Rare

sommario

editoriale

Perché una Rivista dedicata alle Malattie Rare *B. Bembi* pag. 5

review

Iperfenilalaninemie: dalla diagnosi alla terapia *I. Mascaro, S. Ferraro, D. Concolino* pag. 6

La diagnosi prenatale: dalla tradizione all'innovazione *L. Ronzoni, N. Persico, F. Lalatta* pag. 11

l'opinione

Eliminare le malattie genetiche è eugenismo? *B.M. Assael* pag. 18

il caso clinico

Sindrome di Maffucci *F. Falvo, M. Ceravolo, D. Concolino* pag. 21

Istiocitosi a cellule di Langerhans con coinvolgimento osseo e del cavo orale in giovane paziente adulto *E. Passoni, F. Germiniasi, G. Nazzaro, E. Berti* pag. 24

la pagina dismorfologica

Strani capelli in una bambina che "cambia" lentamente, sotto gli occhi della madre *G. Ciana* pag. 27

ricerca e innovazione

La Bioinformatica applicata allo studio delle malattie rare *P. Iatrapoulos, E. Daina* pag. 30

letteratura

pag. 35

leggi e regolamenti

Novità in tema di screening neonatale della malattie metaboliche *B. Bembi* pag. 37

dalle reti europee

Coordinamento della rete europea (ERN) sulle malattie rare dell'osso *L. Sangiorgi* pag. 39

politica sanitaria

Il management delle malattie rare all'interno dell'ospedale *M. Trivelli, G. Genduso* pag. 42



ANNO I - N. 1 FEBBRAIO 2017
QUADRIMESTRALE DI ATTUALITA' IN MEDICINA

ISBN: 9788899343231

Pubblicazione registrata al Tribunale di Milano n. 11 del 10 gennaio 2017

editore medpoint

Med Point srl
Via Gallarate, 106 - Milano
Tel. 02 3343281 - Fax 02 38002105
e-mail medpointsrl@medpointsrl.it - www.malattierare.eu
www.medpointsrl.it

Direttore Responsabile: Ida Tacconi
Redazione: Anna Invernizzi, Monica Luciani
Direzione grafica: Marcella Ronca
Segreteria di Redazione: Federica Rebora - federica.rebora@medpointsrl.it
Stampa: Magicgraph srl - Busto Arsizio (VA)

@ 2017 **Med Point srl** Tutti i diritti riservati. All rights reserved.

Ogni diritto sul presente lavoro è riservato ai sensi della normativa vigente.
La traduzione, l'adattamento, l'elaborazione, la riproduzione con qualsiasi mezzo (compresa la memorizzazione elettronica), totali o parziali, di tutto il materiale contenuto in questa rivista sono riservati per tutti i paesi.

MR la Rivista
La Rivista delle Malattie Rare

editoriale

Perché una Rivista dedicata alle Malattie Rare

Eccoci qua, la Rivista Italiana Malattia Rare riparte. Un collega e caro amico mi ha chiesto il perché, non ti basta la presenza della miriade di journal, generalisti o dedicati, dove questo tema trova voce? Coinvolgendo per di più autori che sono autorità internazionali del settore. E ancora, chi te/ve lo fa fare a proporre un giornale italiano, avrà un pubblico limitato e si spegnerà presto.

Ma noi siamo temerari, testardi, curiosi e una volta deciso…va fatto. A volte uno dei maggiori limiti di noi umani è che vediamo noi stessi come il tutto o che il tutto sia quello che noi percepiamo. Così, quando si vive in un mondo di "specialisti", si corre il rischio di perdere il rapporto con chi "specialista" non è: la maggioranza, il mondo reale. Ed è questo "mondo reale" della sanità che abbiamo eletto come nostro obiettivo: i medici e pediatri di famiglia, gli internisti e gli specialisti operanti nelle strutture del sistema sanitario nazionale, ma lontani dal mondo delle malattia rare.

Sono molti e per fortuna i più mantengono viva la curiosità ed il desiderio di capire il nuovo che si presenta alla loro osservazione nella quotidianità e per il quale spesso non hanno il tempo o la freschezza per un approfondimento su riviste internazionali.

Crediamo, speriamo, che un approccio divulgativo, scientificamente "alto" possa essere d'aiuto a espandere e condividere elementi di cultura che possono essere d'aiuto nella pratica professionale. Ecco allora il tentativo di aprire/aprirsi a linguaggi spesso criptici: quello della genetica, della biochimica, della biologia molecolare. Dare una traccia per riconoscere possibili fenotipi di malattia, in malati a volte lungamente seguiti e mai diagnosticati, o per sapere dove e a chi rivolgersi per uno specifico esame, per una diagnosi o semplicemente per fornire assistenza.

Troveremo allora in queste pagine l'approfondimento della review, la descrizione del caso clinico, la revisione della letteratura, la descrizione delle nuove terapie, la discussione etica, l'approccio tecnologico, la storia dei malati ed il loro punto di vista. Vorremmo insomma una rivista viva, pulsante, che possa divulgare gocce di conoscenza ed ospitare punti di vista differenti su "hot spot" terapeutici e di organizzazione sanitaria (pensiamo agli screening, ai costi terapeutici, alle decisioni di sospensione delle cure), ma che allo stesso tempo riconduca ad una razionalità operativa, utile ai malati e di riferimento decisionale per i professionisti.

Ci siamo così trovati una mattina di ottobre con entusiasmo e forse ingenuità attorno ad un tavolo ed abbiamo deciso di partire, con la speranza, ma sotto sotto, la certezza che molti ci seguiranno. Comunque vada a finire, l'avventura merita di essere intrapresa!

Bruno Bembi

review

Italia Mascaro, Stefania Ferraro, Daniela Concolino
Pediatria, Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università "Magna Graecia", Catanzaro

Iperfenilalaninemie: dalla diagnosi alla terapia

Introduzione

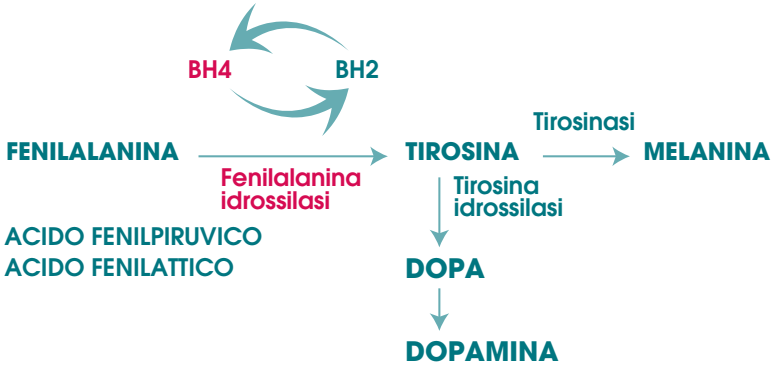
L'iperfenilalaninemia (HPA) è una condizione biochimica caratterizzata da valori di fenilalanina (Phe) plasmatica >2 mg/dl (120 µmol/l), individuata attraverso il test di screening neonatale, causata da un difetto di conversione della Phe dietetica in tirosina (Tyr) con aumento secondario della Phe ematica. Il 98% delle HPA sono causate da un deficit parziale o totale dell'enzima fenilalanina idrossilasi (PAH; OMIM 261600), mentre nel 2% dei casi il deficit riguarda uno degli enzimi coinvolti nella sintesi o nel recycling del suo cofattore funzionale, la tetraidrobiopterina (BH4)), causando la "PKU maligna" (1).

Il deficit di PAH rappresenta uno dei più frequenti disordini metabolici con ereditarietà autosomica recessiva (1: 10.000- 20.000 bambini nati vivi) e, ad oggi, sono conosciute più di 900 differenti mutazioni del gene PAH localizzate sul cromosoma 12q23.2 (2).

Tra le condizioni di HPA, la fenilchetonuria (PKU) è la patologia più conosciuta.

L'aumento di Phe, centrale nella biosintesi proteica e nella sintesi di tirosina, può compromettere lo sviluppo psicomotorio

Fig. 1 **Catabolismo della fenilalanina (Phe)**



Fisiopatologia

La Phe è un aminoacido essenziale introdotto con la dieta o ottenuto mediante proteolisi che gioca un ruolo fondamentale nella biosintesi proteica e nella sintesi della tirosina e dei suoi derivati (dopamina, norepinefrina e melanina) (3). Normalmente circa il 50% dell'aminoacido introdotto con la dieta è trasformato in Tyr mediante la PAH, mentre il 50% restante viene utilizzato per la sintesi proteica. Una piccola percentuale di Phe va incontro a transaminazione e viene trasformata in acido fenilpiruvico.

La principale via catabolica della Phe è la sua idrossilazione a tirosina ad opera della PAH sia a livello epatico che renale, ma affinché tale enzima svolga correttamente la propria funzione di idrossilazione necessita della presenza di un cofattore, la tetrabiopterina (BH4) (*Fig. 1*) (1).

In caso di normale intake dietetico di Phe, nei pazienti con PKU, l'alterazione della via catabolica principale della Phe causa un aumento della concentrazione ematica di Phe ed una anomala escrezione urinaria di fenilchetoni (acido fenilpiruvico, acido fenilattico, acido fenilacetico e acido orto-idrossifenilpruvico),

una riduzione dei livelli plasmatici di Tyr con conseguente riduzione della biosintesi della melanina e ridotti livelli plasmatici di precursori dei neurotrasmettitori[1]. La fenilalanina attraversa la barriera emato-encefalica tramite un trasportatore di aminoacidi neutri. L'accumulo della fenilalanina a livello cerebrale può compromettere lo sviluppo psicomotorio attraverso svariati meccanismi. Il deficit di PAH determina un aumento di Phe ematica che diviene tossico a livello del sistema nervoso centrale (SNC) per concentrazioni superiori a 480 µmol/l (8 mg/dl).
Ad oggi lo screening su tutti i neonati e l'inizio del trattamento dietetico fin dalle prime settimane di vita consente un fisiologico sviluppo cerebrale e previene il ritardo psicomotorio che altrimenti sarebbe severo ed irreversibile.

Classificazione

Sulla base dei valori di Phe alla diagnosi la HPA viene classificata come PKU "classica" o HPA tipo I per valori di Phe>1200 µmol/L, PKU "moderate" o HPA II per valori di Phe tra 600 e 1200 µmol/L, PKU "mild" o HPA tipo III per valori di Phe<600 µmol/L e HPA "mild" quando le concentrazioni di Phe sono tra 120- 360 µmol/L (4,5).

Sulla base della tolleranza alla Phe introdotta con la dieta, la HPA viene classificata come "HPA- a bassa tolleranza" per valori di Phe dietetica di 250-350 mg/die (PKU classica), "HPA-a ridotta tolleranza" par valori di 350-400 mg/die (HPA II),"HPA-a normale tolleranza" per valori di 400-600 mg/die (HPA III) e "mild HPA" per valori >600 mg/dl (1) (*Tab. 1*).

Diagnosi

Il sospetto diagnostico di HPA è posto attraverso l'esecuzione del test di screening neonatale (Guthrie test) atto ad identificare in fase preclinica i pazienti affetti e, quindi, poter prevenire le devastanti manifestazioni cliniche del disordine metabolico (6).
Screening di primo livello: il test di Guthrie consiste nella misurazione della concentrazione di Phe tra il terzo e quarto giorno di vita. Tale metodica presenta un'elevata incidenza di risultati falsi positivi per errata raccolta del campione, immaturità epatica, sovraccarico di proteine e possibile carenza di PAH nei neonati prematuri (7). Sulla base di tali considerazioni i risultati preliminari necessitano di conferma mediante esami di secondo livello.
Esami di secondo livello: i risultati positivi allo screening neonatale richiedono conferma tramite dosaggio di Phe e Tyr ematica mediante la cromatrografia, per effettuare una diagnosi presuntiva di deficit di PAH.
Il test da carico con BH4 (somministrazione orale di 20 mg/Kg di BH4) o doppio carico (Phe e BH4), consente di escludere le forme di PKU da deficit di cofattore. Nei pazienti con deficit di BH4 i livelli plasmatici di Phe si normalizzano dopo 4-8-12 ore dalla somministrazione di BH4. Qualsiasi difetto di BH4, sospettato mediante i test da carico, deve essere confermato tramite l'analisi dei metaboliti dei neurotrasmettitori nel liquido cerebrospinale (LCR), il profilo delle pterine urinarie e la misurazione della diidropterina reduttasi consentendo di distinguere i bambini con deficit di PAH da quelli con alterata sintesi o riutilizzo del BH4 (8).
Tutti i pazienti risultati positivi alle indagini di primo e secondo livello vengono sottoposti ad analisi genetica per ricerca delle mutazioni, indagini neuropsicologiche e neurofisiologiche.

Terapia

Nei pazienti con PKU il gold standard del trattamento consiste in una dieta a basso contenuto di Phe, da iniziare nel periodo neonatale e da prosegui-

Lo screening e l'inizio del trattamento dietetico nelle prime settimane di vita permette il normale sviluppo cerebrale, prevenendo il ritardo psicomotorio

Tab. 1 Classificazione delle HPA

Tipo	Attività enzimatica media (%)	Concentrazione Phe ematica (µmol/l)	Tolleranza Phe dietetica (mg/die)	Dietoterapia
Classic PKU	<1	>1200	<350	Si
Moderate PKU	<10	600-1200	350-400	Si
Mild PKU	<10	360-600	400-600	Si
Mild HPA	10-35	120-360	>600	No

HPA: Iperfenilalaninemia; Phe: Fenilalanina; PKU: Fenilchetonuria.

La dieta a basso contenuto di Phe va proseguita tutta la vita prevenendo e limitando la progressione biologica e clinica

re per tutta la vita prevenendo e limitando la progressione biologica e l'evoluzione clinica della malattia (9).
La Phe è contenuta nella maggior parte dei cibi, perciò è necessaria una dieta caratterizzata da piccole porzioni di proteine animali associate a supplementi dietetici, composti aminoacidici e vitaminici per ottenere una crescita appropriata ed un'adeguata percentuale di calorie e proteine (10).
Tale dieta dovrebbe essere iniziata entro le prime 4 settimane di vita, con apporto ridotto e controllato di Phe, formulata in base all'età e al peso del paziente, al livello plasmatico basale di Phe e alla tolleranza individuale alla stessa e deve essere proseguita per tutta la vita, specialmente nelle pazienti femmine in età fertile (11).
I livelli plasmatici di Phe vengono usati come indice dello status metabolico, per determinare l'appropriato intake dietetico di Phe e come predittore di miglioramento clinico. Le linee guida indicano un target di Phe di 120-360 µmol/L (2-6 mg/dl) per avere un ottimo outcome cognitivo. È raccomandato un ristretto monitoraggio della Phe ematica e della Tyr in ogni situazione caratterizzata da un incremento dell'anabolismo (bambini, adolescenti, gravidanza) (12).
Dal momento che la produzione endogena di Tyr e l'intake proteico di proteine intatte sono limitate dal deficit di PAH, il monitoraggio della Tyr e il rapporto Phe/Tyr sono necessari per confermare un'adeguata supplementazione ed ottenere una concentrazione fisiologica (11).
Nonostante la dietoterapia sia il gold standard nella prevenzione del ritardo mentale, la restrizione dietetica e dello stile di vita e le scarse proprietà organolettiche dei prodotti a basso contenuto di Phe, limitano la compliance dei pazienti alla terapia. Pertanto sono stati studiati nuovi approcci terapeutici (13).
I nuovi regimi terapeutici prevedono l'uso di formule più palatabili per incrementare il contenuto calorico supplemetate con acidi grassi polinsaturi a lunga catena (LC-PUFAs) (l'acido arachidonico (AA) e il decosaessanoico (DHH)) che consentono di migliorare il sistema visivo e l'abilità motoria nei pazienti affetti (13,14).
Altro trattamento proposto è l'uso del Glicomacropeptide (GMP), proteina contenuta nel formaggio. Il suo contenuto di Phe è basso, pertanto rappresenta un'eccellente fonte di proteine intatte, ma nel contempo migliora il gusto, la varietà e la sazietà dei cibi (23) e, insieme agli aminoacidi liberi delle formulazioni standard, migliora l'assorbimento delle proteine e quindi della Phe agevolando il trattamento della PKU (15).
Gli aminoacidi neutri (Large Neutral Amino Acid-LNAA) competono con lo stesso trasportatore della Phe attraverso il tratto gastrointestinale e la barriera ematoencefalica (BEE), riducendo l'assorbimento di Phe e l'accumulo cerebrale. La supplementazione orale di LNAA, da sola o combinata ad una dieta a basso contenuto di Phe, può ridurre le concentrazioni cerebrali di Phe ed il funzionamento neuropsicologico (25) migliorando l'outcome clinico negli individui con scarsa compliance alla dieta a basso contenuto di Phe (16).
Alcuni pazienti affetti da PKU rispondono a dosi farmacologiche di BH4 con riduzione dei livelli plasmatici di Phe. La BH4 agisce come uno chaperone molecolare che promuove il corretto ripiegamento e la stabilità dell'enzima PAH potendo migliorare la terapia della PKU (17).
Tutti i pazienti con livelli di Phe >360 µmol/L (6 mg/dl) potrebbero essere testati per la responsività alla BH4 (20 mg/Kg/die); una riduzione del 30% o più dal basale è indicativa di una risposta alla terapia a lungo termine con BH4 che potrebbe migliorare la tolleranza alla Phe ed in alcuni casi interrompere il regime dietetico restrittivo (18,19).
La terapia enzimatica sostitutiva con Fenilalanina ammonio liase (PAL; E.C.4.3.1.5) è un altro trattamento alternativo per la PKU.
La PAL è una sostanza con bassa tossicità convertita dal fegato ad acido benzoico ed escreta nella urine come ippurato, che catalizza la deaminazione di Phe ad ammonio libero ed acido trans-cinammico. La coniugazione con polietilene glicole (PEG-PAL) riduce la risposta immune e la somministrazione sottocutanea di PAL-PEG è sicura e ben tollerata e sembra efficace nel ridurre i livelli plasmatici di Phe (20). La terapia genica consiste nella clonazione di PAH cDNA con lo scopo di re-esprimere il PAH nel fegato, ma sfortunatamente tutti gli esperimenti sui topi non hanno mostrato una correzione permanente (scarsa espressione genica, produzione di almeno 130 tipi di anticorpi neutralizzanti e la perdita di cofattori in organi non target) (13). In conclusione, i pazienti affetti da PKU, che interrompono precocemente la terapia dietetica, durante

Tab. 2 **Follow-up clinico dei pazienti affetti da HPA**

	1-12 mesi	1-3 anni	3-15 anni	>15 anni
Anamnesi/recall ed esame obiettivo	Mensile	Ogni 3 mesi	Ogni 3 mesi	Ogni 3 mesi
Dosaggio Phe e rapporto Phe/Tyr e Guthrie card	2 volte/mese	Ogni 3 mesi e comunque in base alla compliance	Ogni 3 mesi e comunque in base alla compliance	Ogni 3 mesi e comunque in base alla compliance
Dietoterapia	Mensile	Ogni 3 mesi	Ogni 4 mesi	Ogni 6 mesi
Valutazione nutrizionale e metabolica	Ogni 6 mesi	Ogni 6 mesi	Ogni 6 mesi	Annuale
Fundus oculi	Annuale	Annuale	Annuale	Annuale
EEG	Annuale	Annuale	Annuale	Annuale
Quoziente di sviluppo/ quoziente intellettivo	Annuale	Annuale	Annuale	Annuale
Visita neuropsichiatrica infantile	Annuale	Annuale	Annuale	Annuale
MOC		In base alla clinica	A 5 anni	In base alla clinica
Dosaggio neurotrasmettitori e pterine nel liquor (solo deficit BH4)	Ogni 2 mesi	Annuale	Annuale	Annuale

l'età adulta presenteranno deterioramento intellettivo, deficit neuropsicologici e neurologici minori e lesioni cerebrali visibili alla RMN. Pertanto, è necessario iniziare la terapia dietetica nei primi mesi di vita e monitorare costantemente l'aderenza alla dieta. Infine nelle donne con PKU è necessario un attento monitoraggio della Phe al fine di prevenire i danni fetali (1).

Tra i nuovi approcci, la terapia enzimatica sostitutiva con PAL, in grado di ridurre i livelli plasmatici di Phe

Follow up

In base all'età del paziente ed alla forma clinica diagnosticata, il follow-up prevede: anamnesi/recall ed esame obiettivo, monitoraggio dietoterapia, valutazione nutrizionale e metabolica (esami ematochimici, indici nutrizionali, aminoacidemia, lc-pufa, acidi grassi plasmatici), prolattinemia, fundus oculi, elettroencefalogramma (EEG), quoziente di sviluppo/quoziente intellettivo, MOC (mineralometria ossea computerizzata), visita neuropsichiatrica infantile (NPI) (*Tab. 2*).

Bibliografia

1 Donlon J, Levy H, Scriver CR. Hyperphenylalaninemia: phenylalanine hydroxylase deficiency. In: Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, et al. The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (OMMBID). New York, NY: McGraw-Hill. Chap 77. Available online. 2014.

2 Hoang L, Byck S, Prevost L, Scriver CR. PAH Mutation Analysis Consortium Database: a database for disease-producing and other allelic variation at the human PAH locus. Nucleic Acids Res 1996; 24:127-131.

3 Williams RA, Mamotte CD, Burnett JR. Phenylketonuria: an inborn error of phenylalanine metabolism. Clin Biochem Rev 2008; 29:31-41.

4 Blau N, Hennermann JB, Langenbeck U, Lichter-Konecki U. Diagnosis, classification, and genetics of phenylketonuria and tetrahydrobiopterin (BH4) deficiencies. Mol Genet Metab 2011; 104 (Suppl):S2-9.

5 Camp KM, Parisi MA, Acosta PB, et al. Phenylketonuria Scientific Review Conference: state of the science and future research needs. Mol Genet Metab 2014; 112:87-122.

6 Brosco JP, Sanders LM, Seider MI, et al. Adverse medical outcomes of early newborn screening programs for phenylketonuria. Pediatrics 2008; 122:192-197.

7 Hennermann JB, Loui A, Weber A, Mönch E. Hyperphenylalaninemia in a premature infant with heterozygosity for phenylketonuria. J Perinat Med 2004; 32:383-385.

8 Blau N, Thöny B, Cotton RGH, Hyland K. Disorders of Tetrahydrobiopterin and Related Biogenic Amines In: Valle D, Beaudet AL, Vogelstein B, Kinzler KW, Antonarakis SE, Ballabio A, Gibson K, Mitchell G, eds. The Online Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease (OMMBID). New York, NY: McGraw-Hill. Chap 78. Available online. 2014.

9 Ahring K, Bélanger-Quintana A, Dokoupil K, et al. Dietary management practices in phenylketonuria across European centres. Clin Nutr 2009;28:231-236.
10 Giovannini M, Verduci E, Salvatici E, et al. Phenylketonuria: dietary and therapeutic challenges, J Inherit Metab Dis 2007; 30:145-152.
11 National Institutes of Health Consensus Development Panel. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: phenylketonuria: screening and management, October 16-18, 2000. Pediatrics 2001; 108:972-982.
12 Waisbren SE, Noel K, Fahrbach K, et al. Phenylalanine blood levels and clinical outcomes in phenylketonuria: a systematic literature review and meta-analysis. Mol Genet Metab 2007; 92:63-70.
13 Strisciuglio P, Concolino D. New Strategies for the Treatment of Phenylketonuria (PKU). Metabolites 2014; 4:1007-1017
14 Beblo S, Reinhardt H, Demmelmair H, et al. Effect of fish oil supplementation on fatty acid status, coordination, and fine motor skills in children with phenylketonuria. J Pediatr 2007; 150:479-484.
15 MacLeod EL, Clayton MK, van Calcar SC, Ney DM. Breakfast with glycomacropeptide compared with amino acids suppresses plasma ghrelin levels in individuals with phenylketonuria. Mol Genet Metab 2010;100:303-308.
16 Schindeler S, Ghosh-Jerath S, Thompson S, et al. The effects of large neutral amino acid supplements in PKU: An MRS and neuropsychological study. Mol Genet Metab 2007; 91:48-54.
17 Cerone R, Andria G, Giovannini M, et al. Testing for tetrahydrobiopterin responsiveness in patients with hyperphenylalaninemia due to phenylalanine hydroxylase deficiency. AdvTher 2013; 30:212-228.
18 Scala I, Concolino D, Della Casa R, et al. Long term follow-up of patients with hyperphenilalaninemia treated with tetrahydrobiopterin. Orphanet J Rare Dis 2015;10:14.
19 Blau N. Sapropterindihydrochloride for the treatment of hyperphenylalaninemias. Expert Opin Drug MetabToxicol 2013; 9:1207-1218
20 Longo N, Harding CO, Burton BK, et al. Single-dose, subcutaneous recombinant phenylalanine ammonia lyase conjugated with polyethylene glycol in adult patients with phenylketonuria: An open-label, multicentre, phase 1 dose-escalation trial. Lancet 2014;384:37-44.

MR la Rivista
La Rivista delle Malattie Rare

Luisa Ronzoni[1], Nicola Persico[2], Faustina Lalatta[1]
[1]UOSD di Genetica Medica e [2]Centro di Chirurgia Fetale, OUC di Ostetricia e Ginecologia della Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

La diagnosi prenatale: dalla tradizione all'innovazione

Premesse e definizione

La diagnosi prenatale è resa possibile dall'insieme delle indagini strumentali e di laboratorio utilizzate per il riconoscimento di patologie genetiche e non genetiche prima della nascita.

Lo sviluppo della diagnosi prenatale ha significativamente modificato il comportamento di molte coppie a rischio specifico o generico di avere figli con malattie genetiche e/o malformazioni, consentendo loro di ottenere informazioni sulla presenza o assenza di una determinata patologia e di praticare la scelta ritenuta più idonea. Nella maggior parte dei casi la scelta consiste nel valutare se proseguire la gravidanza, preparandosi ad accogliere un bambino affetto, oppure interromperla volontariamente; tuttavia, la letteratura scientifica degli ultimi anni sta documentando un numero crescente di casi in cui, alla diagnosi prenatale di una patologia malformativa, è possibile far seguire un trattamento in utero. Ad una valutazione più attenta si evidenzia però che la scelta "vera" non è quella di interrompere o meno una gravidanza dopo la diagnosi prenatale, ma la scelta è a monte: sottoporsi o meno agli accertamenti che potrebbero rivelare anomalie fetali. Si comprende quindi il motivo per cui la diagnosi prenatale debba essere un'attività multidisciplinare nella quale sono coinvolte diverse figure professionali il cui obiettivo primario è quello di garantire alla coppia una informazione completa, procedure sicure, avendo sempre come obiettivo il raggiungimento di una scelta autonoma e consapevole.

L'accesso ai servizi di diagnosi prenatale avviene sulla base di due principali indicazioni:

- diagnosi prenatale per coppie con rischio di occorrenza elevato per anamnesi personale o familiare positiva per malattie genetiche trasmissibili, ad esempio i genitori di un bambino con una malattia rara geneticamente determinata;
- diagnosi prenatale di una o più anomalie congenite a seguito di test di screening sulla popolazione ostetrica generale.

L'obiettivo di questa review è delineare i principali percorsi di diagnosi prenatale che possono essere intrapresi da una coppia sulla base delle diverse indicazioni cliniche.

Naturalmente non è possibile prescindere dalla descrizione, anche se sintetica, delle tecniche ostetriche e di laboratorio disponibili per giungere ad una diagnosi specifica o indefinita di patologia genetica e/o malformativa.

Le tecniche ostetriche e di indagine genetica utilizzate durante la gravidanza

Le tecniche ostetriche tradizionali sono l'ecografia, sia come tecnica diagnostica che di screening, e i prelievi invasivi di tessuto fetale: villocentesi, amniocentesi, prelievo di sangue fetale e biopsie fetali. Le tecniche di indagine genetica includono la tradizionale analisi citogenetica, l'analisi array-CGH, l'analisi di singoli geni e la valutazione del

Le diverse figure professionali coinvolte devono garantire alla coppia informazioni complete e procedure sicure, per una scelta autonoma e consapevole

DNA fetale libero nel sangue materno. L'applicazione delle tecniche di Sequenziamento di Nuova Generazione (NGS) in ambito fetale è ancora molto limitata, ma promettente.

Ecografia

L'ecografia ostetrica rappresenta una tecnica imprescindibile in diversi ambiti della diagnosi prenatale. Essa va considerata una tecnica diagnostica vera e propria quando è utilizzata per lo studio morfologico fetale o come tecnica di ausilio nell'ambito di procedure di prelievo di tessuti fetali e nell'ambito dello screening nei vari trimestri di gravidanza.

Quando l'ecografia viene utilizzata come test diagnostico per anomalie selezionate in pazienti ad alto rischio, la sua sensibilità risulta molto elevata (73%-99%). La sensibilità dell'ecografia tuttavia può variare considerevolmente anche nell'ambito dei singoli studi per numerose cause: training degli operatori, difficoltà tecniche che comportano una visualizzazione del feto non ottimale (obesità materna, posizione fetale, oligoamnios, polidramnios, gravidanza multipla); assenza di segni ecografici della malformazione attesa (fistola tracheo-esofagea, sindrome di Down senza evidenti anomalie strutturali); comparsa tardiva dei segni ecografici (atresia duodenale, ostruzione del piccolo intestino, idrocefalia, microcefalia, uropatie ostruttive), scarsa collaborazione della paziente.

Prelievi invasivi

Villocentesi

La villocentesi o prelievo di villi coriali consiste nel prelievo di una piccola quantità (20-30 mg) di placenta (tessuto trofoblastico) mediante l'introduzione di un ago sottile attraverso la parete dell'addome materno.

Viene eseguita preferibilmente tra la 11ª e la 13ª settimana di gravidanza, ma è possibile anche successivamente.

Il tessuto placentare viene analizzato mediante due tecniche: metodica diretta, completata in 48-72 ore, e coltura, completata in 14-21 giorni. L'uso di entrambe le tecniche consente di raggiungere la massima affidabilità della diagnosi citogenetica, cioè il 99%. Nel 2% dei casi il campione dimostrerà una condizione di mosaicismo, cioè coesistenza di due linee cellulari con cariotipo diverso tra loro. Il rischio di perdita fetale attribuibile alla villocentesi, alla luce delle più recenti evidenze scientifiche, risulta inferiore a 1 su 500 procedure.

Amniocentesi

L'amniocentesi consiste nel prelievo di liquido amniotico mediante l'introduzione di un ago sottile nella cavità amniotica per via trans-addominale. In genere viene eseguita tra la 16ª e la 18ª settimana. Le cellule fetali contenute nel liquido (provenienti dalla desquamazione della cute fetale) sono poste in coltura e consentono di ottenere il cariotipo fetale in 15-20 giorni circa. Il rischio di perdita fetale attribuibile all'amniocentesi, alla luce delle più recenti evidenze scientifiche, risulta simile a quello legato alla villocentesi, e cioè inferiore a 1 su 500 procedure.

Prelievo di sangue fetale

Il prelievo di sangue fetale consiste nel prelievo di un campione di sangue a livello del funicolo, della porzione intra-addominale della vena ombelicale o dei ventricoli cardiaci, mediante ago sottile introdotto per via transaddominale sotto guida ecografica continua, in genere a partire da 16 settimane.

Sul campione di sangue fetale è possibile eseguire, oltre al cariotipo, anche indagini ematologiche, biochimiche, immunologiche e genetiche.

Il rischio di perdita fetale attribuibile al prelievo di sangue fetale è di circa l'1%.

Quale tecnica utilizzare?

La scelta della procedura ostetrica di prelievo di cellule fetali è il risultato di una serie di considerazioni e circostanze che devono guidare il medico e la paziente, all'interno di un rapporto di fiducia, alla scelta "ottimale". In linea di massima è possibile affermare che:

- la villocentesi è la procedura da utilizzare in modo praticamente esclusivo per tutte le indicazioni di diagnosi prenatale di malattie geniche, indagabili con tecniche molecolari o biochimiche. In questi casi è possibile eseguire, sullo stesso tessuto, il cariotipo fetale.
- per le coppie con rischi di anomalie cromosomiche compreso tra 1/300 e 1/100 l'amniocentesi, che è una

In tutte le indicazioni di diagnosi prenatale va utilizzata la villocentesi, l'amniocentesi è una buona opzione per l'affidabilità diagnostica per rischi compresi tra 1/300 e 1/100. Rispetto al passato, i criteri di accesso alle diagnosi prenatale considerano l'influenza della volontarietà anche in presenza di un rischio contenuto

tecnica molto diffusa, di facile esecuzione e con elevatissima affidabilità diagnostica, soprattutto per una bassa percentuale di mosaicismi rispetto alla villocentesi, deve essere considerata una buona opzione.

La nostra opinione è che, in ogni caso, la valutazione dei vantaggi o svantaggi delle procedure del I e del II trimestre debba essere condivisa dalla donna/coppia alla luce delle opinioni personali, delle aspettative riguardo la diagnosi prenatale e della percezione, anche soggettiva, del proprio rischio riproduttivo.

Bisogna considerare che, nel corso degli ultimi 15 anni, si è assistito ad un progressivo cambiamento dei criteri di accesso alla diagnosi prenatale, passando da una richiesta basata su rischio elevato a priori ad una maggiore influenza della volontarietà anche in presenza di rischio riproduttivo contenuto. La *Tabella 1* riassume le caratteristiche delle procedure ostetriche tradizionali di diagnosi prenatale.

Indagini genetiche

Cariotipo

Anomalie numeriche o strutturali dei cromosomi possono essere causa di malformazioni, ritardo cognitivo o sindromi specifiche. Le anomalie cromosomiche di numero più frequenti sono la trisomia 21 (sindrome di Down), la trisomia 18 (sindrome di Edwards) e le alterazioni dei cromosomi sessuali. Le anomalie di struttura (delezioni, duplicazioni e traslocazioni) sono più rare.

Lo studio del cariotipo, per quanto accurato, non evidenzia anomalie dei cromosomi di dimensioni inferiore a 10-15 Mb. Alterazioni cromosomiche specifiche, di dimensioni inferiori, possono essere indagate con la FISH, cioè ibridazione in situ con sonda fluorescente, la cui risoluzione è di 1 Mb. L'accuratezza dell'analisi citogenetica, eseguita su un numero appropriato di cellule, è del 99%.

Array-CGH

L'ibridazione genomica comparativa (array-CGH) è una tecnologia capace di indagare l'intero genoma allo scopo di identificare variazioni del contenuto di piccole porzioni cromosomiche (CNV, ovvero variazioni del numero di copie), come delezioni o duplicazioni, di dimensioni ridotte, non rilevabili attraverso l'analisi tradizionale del cariotipo. Microelezioni o microduplicazioni di porzioni cromosomiche possono essere causa di disabilità.

Questa indagine, applicata alla popolazione di feti con anomalie congenite o ritardo di accrescimento, è patologica in circa il 6% dei casi. Uno dei limiti dell'analisi mediante Array è la possibilità di un esito dubbio nel 3% circa dei casi, cioè riscontro di una variazione del numero di copie di sequenze del DNA di significato clinico incerto.

Sequenza di singoli geni

La modalità d'elezione per la diagnosi prenatale di malattia genica è rappresentata dall'identificazione della mutazione, sul DNA estratto dai villi coriali.

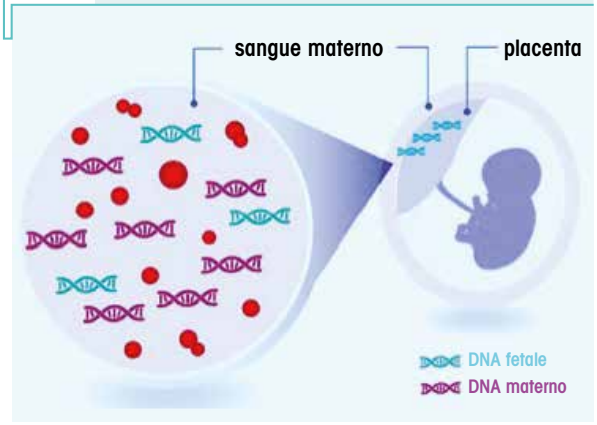
Le diverse mutazioni vengono identificate mediante tecniche di biologia molecolare: PCR gene-specifica e sequenziamento diretto del gene per l'identificazione di mutazioni, MLPA per l'identificazione di delezioni/duplicazioni. Si tratta di metodi

La valutazione dei vantaggi o svantaggi delle procedure del I e del II trimestre deve essere condivisa dalla donna/coppia

Tab. 1

Procedura	Epoca gestazionale	Metodo e accuratezza	Rischio per la madre	Rischio per il feto
Ecografia	I-II-III trimestre	Transaddominale o Transvaginale; 60-90% in base al tipo di difetto e all'esperienza	Nessuno	Nessuno
Villocentesi	11-13 s.g ma anche epoche successive	Prelievo transaddominale, 99% di successo, accuratezza diagnostica 98%	Perdite ematiche; infezioni	1 su 500
Amniocentesi	16-18 s.g. ma anche epoche successive	Prelievo transaddominale, 99.6% di successo, accuratezza diagnostica 99%	Perdite ematiche o di liquido amniotico; infezioni	1 su 500
Prelievo di sangue fetale o funicolocentesi	16 s.g. ma anche epoche successive	Prelievo intraepatico, 98% di successo, accuratezza diagnostica circa 100%	Emorragia fetale; infezioni	1%

Fig. 1 **Studio del cffDNA**



L'analisi del cffDNA è considerata un test di screening e non di diagnosi

molto sicuri e riproducibili che permettono una affidabilità del 99%.
Negli ultimi anni si sono sviluppate tecniche di Next-Generation Sequencing (NGS) che permettono il sequenziamento parallelo di più geni contemporaneamente o anche dell'intero genoma (WES: Whole Exome Sequencing). Esse sono una risorsa promettente ma non ancora applicabile alla diagnosi prenatale inaspettata.

La grande innovazione: l'analisi del DNA fetale circolante nel plasma materno

L'utilizzo di nuove piattaforme per l'analisi degli acidi nucleici ha recentemente permesso la messa a punto e la commercializzazione di test che utilizzano il DNA di origine fetale circolante nel plasma materno (cffDNA). Questo DNA deriva principalmente da cellule di villi coriali (placenta) che, anche in condizioni fisiologiche, migrano nella circolazione materna rilasciando il DNA.
Il cffDNA può essere isolato precocemente a partire dalla 10ª settimana, quando raggiunge quantità sufficienti per il potenziale impiego clinico (*Fig. 1*). Ad oggi, la principale applicazione riguarda l'identificazione della trisomia 21, 13 e 18, oltre all'identificazione del sesso fetale e delle aneuploidie dei cromosomi sessuali.
Recentemente l'evoluzione tecnologica ha permesso di espandere il pannello delle anomalie che è possibile cercare; sono stati messi a punto pannelli che analizzano singole microdelezioni associate ad alcune sindromi clinicamente riconoscibili (delezione 1p36, delezione 5p, delezione 15q, delezione 22q), tuttavia il processo di validazione è ancora in corso.
Altra sfida che attende lo sviluppo e la ricerca relativa all'impiego clinico del cffDNA riguarda le malattie mendeliane.
E' importante sottolineare che attualmente l'analisi NIPT (Non-Invasive Prenatal Test) basata sullo studio del cffDNA è considerata un test di screening e non un'analisi diagnostica. La sua incredibile diffusione è motivata, oltre che dalla spinta commerciale particolarmente intensa, anche dall'assenza di rischio per il feto, trattandosi di una procedura non invasiva.

Percorso della donna nei due ambiti di diagnosi prenatale

Diagnosi prenatale per coppie con rischio elevato di feto affetto

L'aumento del rischio riproduttivo rispetto a quello della popolazione generale (3-5%) è la conseguenza dell'identificazione di uno o più fattori, tra cui: anomalia congenita (cromosomica, genica o morfologica) in un precedente figlio; anamnesi personale o familiare positiva per malattie genetiche (genitore con malattia genetica o anomalia cromosomica, entrambi i genitori portatori sani di patologia genica).
In tutti i casi di richiesta di diagnosi prenatale per rischio genetico aumentato, è necessario garantire alla coppia una consulenza genetica nelle prime settimane di gravidanza, o ancor meglio in epoca preconcezionale, nell'ambito della quale inquadrare la richiesta della coppia, la loro comprensione del rischio e i possibili esiti della diagnosi prenatale, le loro aspettative riguardo alla gravidanza in corso o futura. Per ogni caso è poi necessario valutare la fattibilità tecnica della diagnosi: il periodo in cui eseguire l'analisi, il tipo di materiale ottimale (villi coriali, amniociti, sangue fetale), l'analisi tecnica più appropriata a seconda della problematica da indagare (cariotipo, array, FISH o analisi del singolo gene specifico) (*Fig. 2*).
Negli ultimi anni sono inoltre diventate più accessibili le tecniche di diagnosi pre-impianto per specifiche patologie geniche (per esempio fibrosi cistica e talassemia). Queste metodologie permettono di valutare, nelle coppie a rischio per una determinata patologia genica, la presenza dell'eventuale alterazione molecolare sugli embrioni ottenuti con tecniche di procreazione medicalmente assistita, prima che gli embrioni vengano impiantati in utero. Non sempre è però possibile eseguire una diagnosi prenatale molecolare specifica; questo succede, ad esempio, quando non sono note le mutazioni responsabili della patologia per la quale la coppia ha un rischio aumentato (diagno-

si clinica di patologia).
Come è facile immaginare, gli esiti della diagnosi prenatale, sia ecografica che molecolare/citogenetica costituiscono un ambito di comunicazione clinica particolarmente delicato, spesso connesso a profonda sofferenza della coppia che deve essere assistita sul piano clinico e psicologico affinché possa giungere alla decisione migliore per sé.

Diagnosi prenatale a seguito di test di screening nei vari trimestri di gravidanza

Sempre più spesso la diagnosi prenatale viene effettuata dopo l'individuazione di un rischio elevato per anomalie cromosomiche o genetiche dopo l'esecuzione di test di screening ecografici e biochimici nel I e nel II trimestre di gravidanza. Si tratta di una situazione con valenze particolari: la mancanza di un rischio a priori, che non permette di eseguire indagini mirate; la necessità di formulare una definizione prognostica in tempi rapidi, con la consapevolezza degli ampi margini di incertezza; lo stato emotivo della donna e del partner che, inaspettatamente, si trovano ad affrontare una problematica che provoca paura ed ansia e che li pone in una condizione di grande fragilità. In questi casi il lavoro di équipe è fondamentale. E' necessario seguire un percorso diagnostico per tappe successive sfruttando tutte le possibili risorse ostetriche e di laboratorio.

Malformazione ecografica

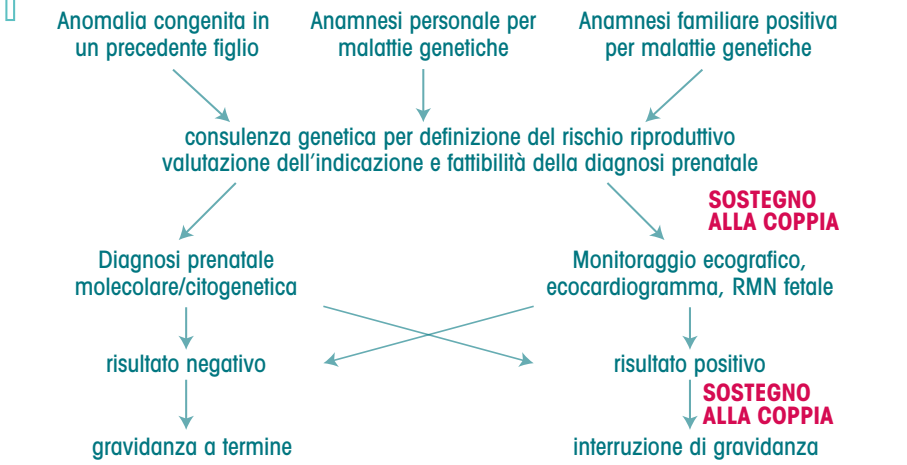
Il riscontro inaspettato di una malformazione ecografica richiede una consulenza multidisciplinare (ginecologo, genetista, psicologo ed altre figure professionali a seconda del tipo di anomalia) per la spiegazione del quadro ecografico e del suo significato clinico.
La malformazione può essere isolata oppure associata ad altre alterazioni ed essere parte di una sindrome genetica; è quindi necessario valutare l'indicazione ad eseguire opportune analisi genetiche su DNA fetale (cariotipo, array-CGH o analisi del singolo gene specifico) e il tipo di prelievo invasivo più appropriato (villocentesi, amniocentesi, prelievo di sangue fetale). Non sempre le analisi eseguite forniscono un risultato univoco, ma spesso il risultato richiede una opportuna interpretazione diagnostica; basti pensare alle incertezze suscitate da un esito dubbio dell'array-CGH. La diagnosi o le possibili ipotesi diagnostiche e la prognosi fetale devono quindi essere comunicate alla coppia, che deve anche essere assistita e sostenuta nelle proprie scelte riguardo alla gravidanza (*Fig. 3*).

Screening del primo trimestre

Il test combinato (combinazione dell'età materna, della frequenza cardiaca fetale, dello spessore della translucenza nucale a 11-13 settimane, e del dosaggio biochimico materno della ß-hCG e della proteina A associata alla gravidanza (PAPP-A) a 9-13 settimane di gestazione) rappresenta, attualmente, il metodo nazionale di screening per anomalie cromosomiche offerto a tutte le donne nel primo trimestre di gravidanza in molti Paesi Europei. Negli ultimi anni è emersa una crescente documentazione scientifica sull'utilità di includere, nella parte ecografica del test combinato per la sindrome di Down e in aggiunta alla misurazione della NT, la valutazione di altri indicatori, quali la presenza o meno dell'osso nasale fetale e la valutazione del flusso attraverso la valvola tricuspide e nel dotto venoso.
E' stato riportato che l'inclusione di uno o più indicatori aggiuntivi può permettere di aumentare la sensibilità dello screening combinato e ridurre la percentuale di falsi positivi. L'esecuzione di uno screening com-

Nei casi a rischio aumentato, va garantita una consulenza genetica nelle prime settimane di gravidanza o ancor meglio in epoca preconcezionale

Fig. 2 **Diagnosi prenatale in coppie con rischio elevato di feto affetto**



binato per la sindrome di Down a 11-13 settimane permette, utilizzando le stesse valutazioni ecografiche e biochimiche, di identificare anche la maggior parte dei feti affetti dalle altre due più comuni anomalie cromosomiche, la trisomia 18 (sindrome di Edwards) e la trisomia 13 (sindrome di Patau).
Infine, è stato dimostrato che la misurazione della NT rappresenta un valido metodo per identificare feti a rischio per altre anomalie cromosomiche, malformazioni congenite maggiori e sindromi genetiche.
Gli esiti possibili del test di screening sono sostanzialmente tre:

- alto rischio (allarmante)
- basso rischio (rassicurante)
- rischio intermedio.

Alla coorte di pazienti che affronta un esito allarmante del test di screening, viene offerto un percorso di diagnosi prenatale tradizionale, sostanzialmente sovrapponibile a quello offerto in seguito al riscontro inaspettato di una malformazione ecografica.
La coorte di donne che affronta invece un rischio basso o intermedio può essere candidata a valutare l'opportunità data dalla diagnosi non invasiva delle aneuploidie cromosomiche fetali, su sangue materno (NIPT).
Prendendo in considerazione innanzitutto l'obiettivo di diffondere informazioni corrette e complete sulle tecniche innovative, contrastare l'uso incontrollato dei test, ma anche di offrire alla donna che lo richieda l'esecuzione dell'esame all'interno di un percorso clinico che dovrebbe garantire la gestante ed i professionisti è raccomandata l'istituzione di un momento informativo, dedicato alla popolazione di donne in gravidanza iniziale, che vogliano conoscere l'applicazione, i limiti e i vantaggi dei diversi approcci alla diagnosi prenatale.

Conclusioni

L'ambito della diagnosi prenatale concentra e suscita dilemmi che non possono essere ignorati, soprattutto in un'era di scarse risorse del SSN, di globalizzazione dell'informazione e di aspettative irrealistiche da parte della popolazione verso la medicina e la salute. Queste stesse aspettative costituiscono il carburante per il crescente mercato della salute prenatale, un mercato che non ha precedenti nel creare nuovi e quasi illimitati bisogni di rassicurazione.
La diagnosi prenatale è ovviamente un potente strumento diagnostico per identificare rilevanti patologie fetali anche se si spera che, in un futuro, possa lasciare il campo alla loro prevenzione o, almeno, alla loro terapia.
Ma non può essere scollegato da processi che incidano profondamente nelle due componenti: la coppia che affronta la riproduzione ed i clinici che dispongono delle risorse diagnostiche. Alcuni interventi sono prioritari. Ad esempio, promuovere l'autonomia delle coppie, assicurare la qualità dei servizi, garantire la confidenzialità, evitare discriminazione nell'accesso ai servizi. Il primo punto è un requisito essenziale dell'attività di diagnosi prenatale. Affinchè le coppie possano condurre scelte libere e consapevoli è necessario un vero e proprio impegno educativo. Questa educazione deve partire dall'informazione completa e approfondita sul significato, finalità e limiti della diagnosi prenatale. In secondo luogo deve essere assicurato un accesso paritario ai servizi, indipendentemente dallo stato socio-economico della

Nella diagnosi prenatale dopo malformazione ecografica o test di screening va seguito un percorso diagnostico articolato che utilizzi le risorse disponibili

Fig. 3 **Diagnosi prenatale dopo test di screening**



Va aumentato l'impegno educativo su obiettivi e limiti della diagnosi assicurando l'accesso ai servizi e la libertà di scelta

coppia. Sono anche necessarie procedure omogenee di informazione che contrastino opinioni selvagge depositate nel web, procedure semplici e chiare di consenso informato e, soprattutto, la difesa della libertà di scelta mantenendo ai limiti più bassi possibili la pressione commerciale dell'uso dei test genetici in gravidanza. Essa può essere contrastata promuovendo il rafforzamento dell'autonomia dei pazienti e il controllo economico delle prestazioni. Naturalmente è necessario ottenere che i professionisti si assumano le loro responsabilità. Questo comporta la verifica che la professionalità sia appropriata (sia sugli aspetti scientifici, che etici, legali e socio-economici) e che la formazione sia realmente disponibile. Ideare un sistema di accreditamento dei centri che offrono la diagnosi prenatale, richiedere che la consulenza genetica sia garantita, assicurare la trasparenza delle attività sono alcuni esempi di come questo impegno potrebbe realizzarsi.

Bibliografia

- Bianchi DW. From prenatal genomic diagnosis to fetal personalized medicine: progress and challenges Nat Med. 2012; 18(7):1041-1051.
- Davey S. Next generation sequencing: considering the ethics Int J Immunogenet. 2014; 41(6):457-62.
- SIEOG Linee Guida Società Italiana di Ecografia Ostetrico Ginecologica 2015.
- ISUOG Practice Guidelines: performance of first-trimester fetal ultrasound scan. Ultrasound Obstet Gynecol. 2013; 41(1):102-13.
- Hixson L, Goel S, Schuber P, et al. An Overview on Prenatal Screening for Chromosomal Aberrations J Lab Autom. 2015; 20(5):562-73.
- Lo JO, Shaffer BL, Feist CD, Caughey AB. Chromosomal microarray analysis and prenatal diagnosis Obstet Gynecol Surv. 2014; 69(10):613-21.
- Ministero della Salute, Consiglio Superiore di Sanità Linee-Guida: Screening prenatale non invasivo basato sul DNA (Non Invasive Prenatal Testing – NIPT) 2015.
- Munthe C. A new ethical landscape of prenatal testing: individualizing choice to serve autonomy and promote public health: a radical proposal Bioethics. 2015; 29(1):36-45.
- Sterckx S, Worthington G, Van Steirteghem A. Current controversies in prenatal diagnosis 4: does industry-sponsorship accelerate or hinder the pace of research? Prenat Diagn. 2011; 31(3):244-5.
- Wilson RD, Ledbetter DH, Pergament E. Current controversies in prenatal diagnosis 3: the ethical and counseling implications of new genomic technologies: all pregnant women should be offered prenatal diagnostic genome-wide testing for prenatally identified fetal congenital anomalies Prenat Diagn. 2015; 35(1):19-22.
- Wong FC, Lo YM. Prenatal Diagnosis Innovation: Genome Sequencing of Maternal Plasma Annu Rev Med. 2016; 67:419-32.



l'opinione

Baroukh Maurice Assael
Libero professionista, consulente scientifico Centro Adulti Fibrosi Cistica, Milano

Eliminare le malattie genetiche è eugenismo?

Anche se non tutte le malattie rare sono genetiche, la maggior parte di quelle genetiche, forse tutte, sono considerate rare. In alcune aree del mondo, malattie genetiche recessive sono state eliminate con programmi di screening dei portatori (1). L'esempio classico è quello della talassemia. Le campagne di ricerca dei portatori nella popolazione generale propugnate da Bianco e Silvestroni(2) hanno avuto un rapido effetto prima nelle aree del delta del Po, poi nel Lazio dove il Centro per la microcitemia ha condotto una continua informazione e ricerca dei portatori che ha portato alla scomparsa di casi di talassemia indigena. Cipro fu il primo paese a promuovere, sull'esempio di quanto era successo in Italia, una sistematica campagna di ricerca mediante un programma di screening, con il supporto della Chiesa ortodossa, che introdusse l'obbligatorietà del test prematrimoniale.

Più che imporre un modello di salute o di "perfezione umana" le campagne di prevenzione vogliono migliorare consapevolezza procreativa e capacità decisionale

Al successo del programma contribuirono anche le scelte di aderire al progetto delle autorità sanitarie turche nella loro parte dell'isola (3). Questo non fu il primo test genetico che aveva come obiettivo la scomparsa di una malattia. Infatti, la campagna di sistematica ricerca dei portatori finì per far sparire la malattia di Tay-Sachs fra gli ebrei di origine ashkenazita, dapprima negli Stati Uniti e poi a livello mondiale (4).

La promozione dello screening per questa patologia ebbe anche una via originale fra gruppi di ebrei ultra-ortodossi che promossero il programma oggi noto come Dor Yeshorim, evidenziando la necessità etica di programmi di screening di popolazione per evitare ulteriori nascite di bambini malati, pur rifiutando la prospettiva dell'aborto. Oggi, il programma Dor Yeshorim è esteso a una serie di condizioni la cui frequenza è elevata fra gli ebrei ashkenaziti (5).

Va sottolineato come l'esigenza morale di prevenire malattie genetiche attraverso la consulenza genetica e l'esecuzione di test genetici venne posta nel mondo cattolico già nel 1959, quando Papa Pio XI, in risposta a una richiesta dei medici cattolici, prospettava la possibilità di rendere la consulenza obbligatoria nel caso di malattie gravi (1).

Grazie al successo ottenuto nella prevenzione della malattia di Tay-Sachs, in Israele il Ministero della Sanità ha sviluppato programmi di informazione sulla malattia, non solo fra la popolazione di origine ebraica ashkenazita, ma anche fra gruppi arabi di varia origine e fra le popolazioni beduine che, per la forte tendenza endogamica, mantengono un'elevata prevalenza di specifiche malattie, come forme di sordità congenita e la m. di Krabbe (6). Il programma di prevenzione di malattie gene-

tiche messo in atto in Israele è stato recentemente illustrato dai genetisti.

L'esempio più recente di una malattia rara che potrebbe scomparire ci viene dal Veneto, dove negli ultimi anni è stata segnalata una forte riduzione dell'incidenza della fibrosi cistica. Il risultato sembra attribuibile ad un programma di screening dei portatori fra la popolazione generale, promosso inizialmente dall'Università di Padova (7,8). Dati recenti, che confermano come un programma di informazione e di promozione del test genetico possa portare ad una analoga forte riduzione dell'incidenza della fibrosi cistica sono di nuovo attribuibili ai programmi di prevenzione sviluppati in Israele.

Infine, è interessante ricordare la vasta campagna condotta in vari paesi islamici per la prevenzione di malattie genetiche attraverso l'offerta attiva del test del portatore sia preconcezionale che premaritale. Questa campagna gode del forte sostegno delle autorità religiose islamiche, che si trovano a dover affrontare la solida convinzione che le popolazioni locali nutrono sull'importanza di matrimoni endogamici, prevalentemente fra cugini primi (9).

A fronte dell'ampia promozione di diffusione di test genetici per la prevenzione di malattie gravi da parte di autorità religiose e politiche, l'idea sembra meno accettata da associazioni scientifiche. Anche se l'Accademia Americana di Ostetricia e Ginecologia e l'Associazione di Genetica Medica degli Stati Uniti hanno indicato in vari documenti, consultabili sui loro siti web, la necessità di raccomandare l'esecuzione di test genetici preconcezionali per la prevenzione di varie malattie soprattutto per specifici gruppi etnici, documenti simili sono difficilmente reperibili presso altre associazioni mediche. Rare sono anche le posizioni esplicitamente favorevoli agli screening preconcezionali di associazioni laiche o di pazienti, di cui uno dei pochi esempi, se non l'unico, resta quello della Claire Heine Foundation per la prevenzione della atrofia muscolo-spinale.

La disponibilità di test di nuova generazione e la riduzione dei costi dei test genetici ha portato anche ad una diffusione difficilmente controllabile di test diretti al consumatore. I rischi connessi all'esecuzione di esami genetici non corredati di adeguate consulenze genetiche e fuori dal controllo di società scientifiche o della sanità pubblica finisce per porre questioni urgenti:

- *La diffusione di test genetici deve essere lasciata alla logica della domanda-offerta, oppure deve essere presa in considerazione da programmi di sanità pubblica?*
- *La prevenzione di malattie genetiche è un obiettivo dichiarabile di un programma di sanità pubblica? Quali sono i limiti accettabili della prevenzione genetica e quali sono gli interessi in gioco?*
- *I limiti sono legati alla tecnologia disponibile, dipendono esclusivamente da analisi economiche di costo/beneficio oppure si devono anche porre limiti etici?*

In Italia, paese che ha eliminato la talassemia e in cui sta per scomparire la fibrosi cistica, manca ancora un dibattito culturale approfondito su questi temi

- *La strada aperta dalla prevenzione di malattie rare genetiche ritenute gravi non conduce a un piano inclinato che riporta a tematiche di tipo eugenico?*
- *Un programma di screening e di prevenzione di malattie genetiche non si pone in alternativa, almeno parziale, con la ricerca di cure?*
- *La ricerca della prevenzione non ha aspetti vessatori per le persone colpite dalle stesse malattie che finiscono per soffrire ulteriormente il fatto di rappresentare un peso sociale evitabile?*

Una serie di interrogativi che ha aperto una forte discussione in campo bioetico, filosofico e sociologico.

Il sociologo israeliano Aviad Raz (10,11) ha dedicato vari studi alla percezione delle malattie genetiche e alla diffusione di test genetici in alcune aree geografiche mettendole in rapporto con fondamenti culturali, etici, religiosi e studiando questi aspetti in maniera comparativa.

Filosofi, come Savulescu, fortemente impegnati nel campo della bioetica hanno avanzato ipotesi estreme sostenendo l'imperativo morale della prevenzione genetica, fino alla ricerca necessaria del

figlio perfetto, sollevando posizioni polemiche su fronti opposti di sostenitori e detrattori. Il dibattito, come spesso accade, è molto avanzato nel mondo anglosassone e nord europeo, molto meno sviluppato in Italia. E ciò sembra paradossale proprio per la storia della talassemia e per quanto si sta verificando per la fibrosi cistica. L'accusa di eugenismo va respinta, perché l'obiettivo oggi non è imporre un modello di salute o peggio un modello di perfezione umana che nell'eugenica del 1900 ebbe sempre un carattere razzista.

Le campagne di prevenzione di malattie genetiche che si propongono oggi di aumentare la consapevolezza procreativa e la capacità decisionale di un individuo o di una coppia.
L'Italia ha quasi eliminato la talassemia, in Veneto l'incidenza della fibrosi cistica è fortemente diminuita, ma manca un confronto etico, antropologico, medico e sociale sull'opportunità che simili programmi abbiano un'opportuna diffusione e soprattutto che siano sostenuti dalla sanità pubblica (10,12,13).

Bibliografia

1. Assael BM. Il gene del diavolo. Le malattie genetiche, le loro metafore, il sogno e le paure di eliminarle. Bollati Boringhieri, Torino, 2016.
2. Bianchi Silvestroni I. Storia della microcitemia in Italia. Pagine di scienza e di vita. Giovanni Fioriti Editore, Roma.2002.
3. Angastiniotis M, Kyriakidou S, Hadjiminas M. How thalassemia was controlled in Cyprus. World Health Forum, 7, 1986:291-297.
4. Kaback M, Lim-Steele J, Dabholkar D, Brown D, Levy N, Zeiger K. Tay-Sachs disease-carrier screening, prenatal diagnosis, and the molecular era. An international perspective 1970 to 1993. The International TSD Data Collection Network. JAMA 1993;270:2307-15.
5. Ekstein J, Katzenstein H (2001) The Dor Yeshorim story: community based carrier screening for Tay-Sachs disease. Adv Genet 44:297–310
6. Macarov M, Zlotogora J, Meiner V, Khatib Z, Sury V, Mengistu G, Bargal R, Shmueli E, Meidan B e Zeigler M, Genetic screening for Krabbe disease: Learning from the past and looking to the future, Am J Med Genet, 2011, A 155: 574-76.
7. Castellani C, Picci L, Tridello G, Casati E, Tamanini A, Bartoloni L, Scarpa, BM, Assael BM. Cystic fibrosis carrier screening effects on birth prevalence and newborn screening. Genet Med. 2015 Jun 18. doi: 10.1038/gim.2015.68.
8. Castellani C, Picci L, Tamanini A, Girardi P, Rizzotti P, Assael BM. Association between carrier screening and incidence of cystic fibrosis. JAMA. 2009 Dec 16;302(23):2573-9. doi: 10.1001/jama.2009.1758
9. Galanello R, Eleftherfiou A, Traeger-Synodinos J, Old J, Petrou M, Angastiniotis M. Eds Prevention of Thalassemias and other haemoglobin disorders. The International Talassemia Federation, Nicosia 2003.
10. Raz AE. Community genetics and genetic alliances. Eugenis, carrier testing and networks of risk. Routledge, London-New York, 2010.
11. Savulescu J e Kahane G, The Moral Obligation to Create Children with the Best Chance of the Best Life, Bioethics, 2009, 23: 274-90
12. Ten Kate LP, Al-Gazali L, Anand S, Bittles A, Cassiman JJ, Christianson A, Cornel MC, Hamamy H, Kääriäinen H, Kristoffersson U, Marais AD, Penchaszadeh VB, Rahman P, Schmidtke J Community genetics. Its definition 2010. J Community Genet 2010 1:19–22.
13. Cassata F, Eugenetica senza tabù. Usi e abusi di un concetto, Einaudi, Torino 2015.

Francesca Falvo, Miriam Ceravolo, Daniela Concolino
Pediatria, Dipartimento Scienze Mediche e Chirurgiche, Università "Magna Graecia", Catanzaro

Sindrome di Maffucci

La storia clinica di Antonio inizia all'età di dieci anni con la comparsa di tumefazioni non dolenti sulle dita della mano destra. Successivamente data la comparsa di dolore articolare viene posta diagnosi di Artrite Reumatoide e, pertanto, inizia trattamento con cortisone e sulfasalazina senza alcun miglioramento della sintomatologia, né variazione delle caratteristiche della mano.

All'età di 17 anni subisce intervento chirurgico con asportazione delle lesioni presenti sulla superficie volare del dito indice e medio il cui quadro istologico depone per "dermatofibroma ed emangiomi a cellule fusate" e per il recidivare delle lesioni effettua un secondo intervento chirurgico con referto istologico di "emangio-endotelioma composto".

Giunto alla nostra osservazione, Antonio ha ormai 26 anni e si presenta come un ragazzo in buone condizioni cliniche generali.

Non sono evidenti dismetrie degli arti, ma presenta un'importante deformità della mano destra, per la presenza di tumefazioni a profilo irregolare sia sulla superficie volare che palmare delle dita della mano nonché di una voluminosa tumefazione (3 cm di diametro circa) sulla superficie laterale del polso (*Fig. 1*).

Sulla base del referto istologico di tumori vascolari emangioma-like e nel sospetto che le lesioni vascolari si possano associare ad alterazioni ossee, viene effettuato studio radiografico comparativo delle due mani che mostra la presenza di lesioni "encondromatose diffuse" e di "calcificazioni" a livello delle malformazioni vascolari, evidenti solo a livello della mano e del polso si destra (*Fig. 2*).

È stata inoltre effettuata RMN della mano che mostrava la presenza di lesioni ipointense in T1 ed iperintense in T2, compatibili con "encondromi multipli" (*Fig. 3 a, b*).

Sulla base della presenza di lesioni encondromatose multiple a livello delle ossa della mano associati ad emangiomi, è stata posta diagnosi di Sindrome di Maffucci.

Il paziente presenta un'importante deformità alla mano destra con tumefazioni a profilo irregolare

Fig. 1 **Aspetto caratteristico delle tumefazioni**



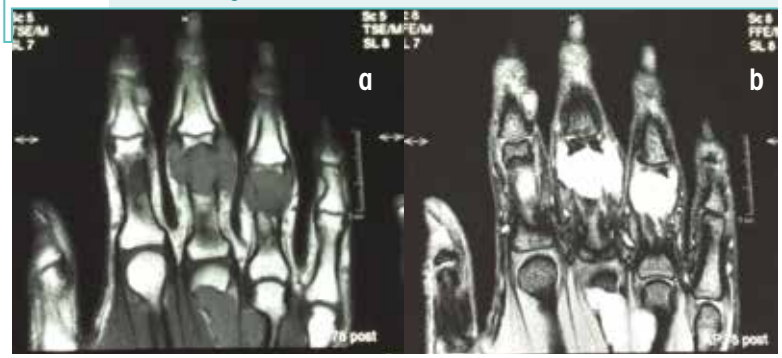
Fig. 2 **Radiografia comparativa delle due mani.** La radiografia mostra multipli encondromi e fleboliti dei tessuti molli



La Sindrome di Maffucci

La Sindrome di Maffucci è una rara condizione, non ereditaria, caratterizzata dalla combinazione di encondromatosi ed emangiomi, descritta per la prima volta dall'anatomopatologo italiano Angelo Maria Maffucci nel 1881 (1). L'esatta prevalenza della malattia non è conosciuta, sebbene ad oggi sono stati descritti più di 200 casi in tutto il mondo

Fig. 3 **RMN mano destra.** Multiple masse dei tessuti molli con basso segnale in T1 (a) ed alto segnale in T2 (b), compatibili con emangiomi



Tab. 1 **Sindrome di Maffucci e Malattia di Ollier a confronto**

	Malattia di Ollier	Sindrome di Maffucci
Incidenza	1/100.000	200 casi circa descritti
Encondromi multipli	Si	Si
Emangiomi	No	Si
Rischio di sviluppare condrosarcoma	20%	40%
Rischio si sviluppare altri tumori	Si, elevata	Si, molto elevata

Nei pazienti con S. di Maffucci è alto il rischio di sviluppare neoplasie maligne anche in distretti diversi dall'apparato muscolo-scheletrico

(2). L'eziologia della malattia non è ancora definita, alcuni autori ritengono che alla base vi siano anomalie genetiche nelle cellule somatiche dei tessuti tumorali (mutazioni somatiche del gene isocitrate dehydrogenase (IDH1 e IDH2)), altri invece sostengono si tratti di una displasia mesodermica congenita (3-4).

Clinica

I primi segni clinici della malattia consistono nella comparsa di emangiomi, che si manifestano come tumefazioni anomale dei tessuti molli, inizialmente non dolenti, di consistenza teso elastica con possibile colorazione bluastra, più frequentemente a livello delle mani e dei piedi e di encondromi, tumori cartilaginei benigni che si sviluppano all'interno dell'osso e che interessano prevalentemente le ossa corte e tubulari degli arti. L'esordio può essere, inoltre, caratterizzato dalla comparsa di fratture patologiche in corrispondenza delle lesioni ossee o da dismetrie degli arti per accorciamento del segmento colpito. Nell'80% dei casi insorge alla pubertà e solo nel 25% dei pazienti si manifesta entro il primo anno di vita. La malattia può coinvolgere un singolo segmento corporeo o tutti e quattro gli arti, il più delle volte con distribuzione asimmetrica (5-6-7).

I pazienti con Sindrome di Maffucci hanno un elevato rischio di sviluppare neoplasie maligne dell'apparato muscolo scheletrico, in particolare condrosarcomi, ma anche sarcomi vascolari, fibromi, adenomi, teratomi ovarici, gliomi, adenomi ipofisari, adenocarcinomi pancreatici, emangioendoteliomi (8-9-10-11).

La diagnosi si basa sulle caratteristiche cliniche e sulla dimostrazione radiografica ed istologica della presenza di encondromi multipli ed emangiomi. In tutti i pazienti con encondromatosi multipla, alla diagnosi, deve essere effettuata una risonanza magnetica nucleare (RMN) total body per la ricerca di emangiomi oltre che di una eventuale neoplasia maligna associata (12).
La presenza di encondromi multipli in assenza di emangiomi è definita Malattia di Ollier, che rappresenta la principale condizione che entra in diagnosi differenziale con la Sindrome di Maffucci. In *Tabella 1* sono evidenziate le caratteristiche distintive delle due condizioni. Sebbene la Sindrome di Maffucci e la Malattia di Ollier in letteratura vengano descritte come due malattie distinte, alcuni autori ritengono che si tratti della diversa espressione di uno stesso processo patologico (13).

Terapia

Il management dei pazienti con Sindrome di Maffucci ha l'obiettivo di gestire i sintomi e portare alla diagnosi precoce dei tumori maligni. Sono stati descritti interventi chirurgici per le neoplasie dello scheletro nonché scleroterapia, radioterapia e chirurgia per le lesioni vascolari. Le lesioni dei tessuti molli o le lesioni scheletriche che aumentano di dimensioni o diventano dolorose senza trauma, dovrebbero essere sottoposte a indagine bioptica per il rischio di degenerazione maligna (14).

Appunti sinottici

- **Un encondroma** è un tumore cartilagineo benigno che si sviluppa all'interno dell'osso.
- **Un emangioma** è un tumore benigno costituito dalla proliferazione di cellule endoteliali.
- **Per encondromatosi** si intende la presenza di encondromi multipli.
- **La presenza di encondromi multipli associata ad emangiomi** è caratteristica della Sindrome di Maffucci; in assenza degli emangiomi parliamo di Malattia di Ollier.
- **I pazienti con Sindrome di Maffucci** hanno un elevato rischio di degenerazione neoplastica degli encondomi, ma anche di sviluppare neoplasie maligne in distretti diversi dall'apparato muscolo-scheletrico e, pertanto, necessitano di un attento follow-up per il riconoscimento tempestivo delle neoplasie.

Bibliografia

1. Maffucci A. Di un caso di encondroma ed angioma multiplo. Movimento medicochirurgico Napoli 1881;3:399–412; 565–575.
2. Katz P, Colbert R, Drolet B. Unilateral mosaic cutaneous vascular lesions, enchondroma, multiple soft tissue chondromas and congenital fibrosarcoma - a variant of Maffucci syndrome? Pediatr Dermatol 2008;25:205-9.
3. McDermott A-L, Dutt S, Chavda SV. Maffucci's syndrome: clinical and radiological features of a rare condition. J Laryngol Otol 2001;115:845-847.
4. Amyere M, Dompmartin A, Wouters V, Enjolras O, Kaitila I, Docquier PL, Godfraind C, Butler Mulliken J, Boon LM, Vikkula M. Common Somatic Alterations Identified in Maffucci Syndrome by Molecular Karyotyping. Mol Syndromol 2014;5:259–267
5. Tsao YP, Tsai CY, Chen WS. Maffucci Syndrome. J Rheumatol. 2015 Dec;42(12):2434-5.
6. Gao H, Wang B, Zhang X, Liu F, Lu Y. Maffucci syndrome with unilateral limb: a case report and review of the literature. Chin J Cancer Res. 2013 Apr;25(2):254-8. .
7. Maione V, Stinco G, Errichetti E. Multiple enchondromas and skin angiomas: Maffucci syndrome. Lancet. 2016 Aug 27;388(10047):905
8. Ramina R, Neto MC, Meneses M, Ari AA. Maffucci, s syndrome associated with a cranial base chondrosarcoma: case report and literature review. Neurosurgery 1997;41:269-272.
9. Bonnet C, Thomas L, Psimaras D, Bielle F, Vauléon E, Loiseau H, Cartalat-Carel S, Meyronet D, Dehais C, Honnorat J, Sanson M, Ducray F. Characteristics of gliomas in patients with somatic IDH mosaicism. Acta Neuropathol Commun. 2016 Mar 31;4:31.
10. Birsasteanu F, Costachescu D. Chondrosarcoma of the Scapula in a Patient with Maffucci Syndrome - Case Report and Literature Review. West Indian Med J. 2015 Oct 20.
11. Herget G W, Strohm P, Rottenburger C, Kontny U, Krauss T, Bohm J, Sudkamp N, Uhl M. Insights into Enchondroma, Enchondromatosis and the risk of secondary Chondrosarcoma. Review of the literature with an emphasis on the clinical behaviour, radiology, malignant transformation and the follow up. Minireview Neoplasma 2014; 61, 4: 365-378
12. Noel G, Fevret L, Calugaru V, et al. Chondrosarcomas of the base of the skull in Ollier's disease or Maffucci's syndrome: three case reports and review of the literature. Acta Oncol 2004;43:705-710. 5.
13. Ahmed SK, Lee WC, Irving RM, Walsh AR. Is Ollier's disease an understaging of Maffucci's syndrome? J Laryngol Otol 1999;113:861-864
14. Prokopchuk O, Andres S, Becker K, Holzapfel K, Hartmann D, Friess H. Maffucci syndrome and neoplasms: a case report and review of the literature. BMC Res Notes. 2016 Feb 27;9:126.

Emanuela Passoni, Francesca Germiniasi, Gianluca Nazzaro, Emilio Berti
U.O.C. Dermatologia. Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano

Istiocitosi a cellule di Langerhans con coinvolgimento osseo e del cavo orale in giovane paziente adulto

Il caso di un uomo di 39 anni non fumatore con abitudini di vita ed alimentari nella norma che in seguito alla comparsa, durante la masticazione, di dolore mandibolare ed insorgenza di tumefazione alla gengiva inferiore è stato sottoposto a ortopantomografia (OPT) con riscontro di area di rarefazione ossea apicale aspecifica in prossimità della sinfisi mandibolare.

L'indagine TC documentava una formazione di aspetto similcistico con diametro latero-laterale di 15 mm e spessore vestibolo-linguale di 9 mm, nel cui interno si riconoscevano gli apici radicolari degli incisivi inferiori come da cisti odontogena. La gengiva, in corrispondenza della lesione, presentava manifestazioni di tipo papulo-erosivo. Per progressivo incremento del dolore mandibolare e comparsa di mobilità degli incisivi inferiori veniva eseguita una valutazione da parte del chirurgo maxillo-facciale che, dopo nuovo controllo radiologico documentante incremento delle dimensioni della lesione cistica (40 mm), eseguiva exeresi della neoformazione e contestuale avulsione di cinque elementi dentari.

L'esame istologico evidenziava tessuto fibroso con focolai di necrosi ascessualizzata, granulociti eosinofili, linfociti T (CD3+) e proliferazione di elementi istiocitari CD1a+, S100+, Langerina CD207+ (*Foto 1*) mono e plurinucleati con nucleo inciso e cromatina finemente dispersa (*Foto 2*).

Foto 1 **Immunoistochimica. Positività Langerina CD 207+**

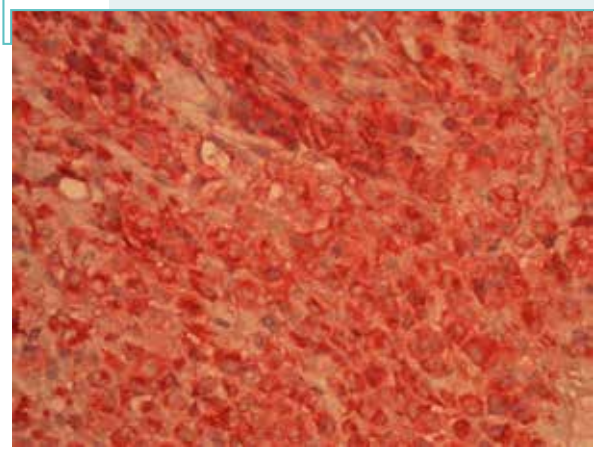
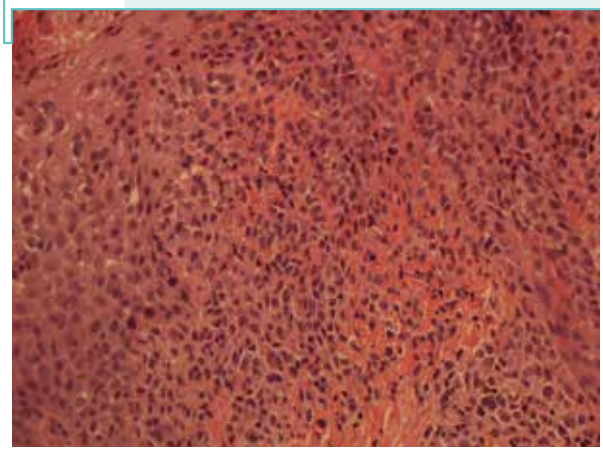


Foto 2 **Istologia. Evidenza di istiociti mono e plurinucleati con nucleo inciso**



La porzione di tessuto osseo associata appariva rimaneggiata.

La diagnosi

Veniva posta diagnosi di Istiocitosi a cellule di Langerhans ed eseguiti esami di screening per l'individuazione di ulteriori localizzazioni.

L'istiocitosi a cellule di Langerhans (LCH) è una malattia rara cronica che a seconda del numero di organi/sistemi coinvolti può essere di tipo monosistemico o multisistemico. E' caratterizzata dalla proliferazione ed accumulo delle cellule di Langerhans patologiche in organi e tessuti. La malattia può colpire entrambi i sessi in qualunque fascia di età. Eziologia e patogenesi sono argomento aperto; non ancora ben chiaro se si tratti di una patologia di origine neoplastica o di un disordine immunitario di tipo reattivo.

Dopo otto mesi dall'intervento chirurgico il controllo OPT segnalava persistenza della lesione mandibolare (*Foto 3*) e lo studio TC riportava la presenza di una vasta lesione osteolitica a carico del terzo medio della branca orizzontale della mandibola con lisi a tutto spessore del tavolato interno ed esterno ed assenza di vitalità di altri due elementi dentali.

Il paziente segnalava persistenza del dolore mandibolare, compromissione della masticazione e perdita di peso. Veniva posta indicazione ad approccio locale tramite radioterapia previa valutazione da parte di un Centro esperto nella LCH; il paziente giungeva pertanto alla nostra attenzione.

L'esame clinico dermatologico confermava la presenza di lesioni papulo-erosive a carico della gengiva inferiore (*Foto 4*) e del palato duro (non documentate all'esordio di malattia), assenza di lesioni in ulteriori distretti cutanei e mucosi tipici per l'LCH.

La revisione istologica confermava la diagnosi di Istiocitosi a cellule di Langerhans, lo screening documentava localizzazione ossea (mandibola) e delle mucose (gengiva inferiore e palato duro). Si concludeva pertanto per malattia multisistemica ed il paziente veniva avviato a chemioterapia di prima linea secondo protocollo LCH della Histiocyte Society.

Il trattamento prevedeva una "fase di induzione," della durata di sei settimane, con vinblastina e prednisone. Al termine della fase di induzione si osservava iniziale buona risposta per riduzione della estensione delle lesioni mucose e pertanto si programmava "schema di mantenimento" con vinblastina, prednisone e 6 mercaptopurina.

Dopo sei mesi il paziente veniva rivalutato clinicamente e radiologicamente con OPT: si osservava netta riduzione delle lesioni al cavo orale (*Foto 5*) e riparazione della lesione osteolitica (*Foto 6*) in assenza di nuovi foci. Il paziente riferiva regressione completa del dolore, buone condizioni cliniche e ripresa della normale alimentazione; veniva pertanto proseguito il mantenimento farmacologico per altri sei mesi.

A tutt'oggi il paziente è clinicamente e radiologicamente in remissione completa.

Foto 3 **OPT precedente a chemioterapia.**
Lesione osteolitica mandibolare con coinvolgimento delle radici di 34 e 43



Foto 4 **Cavo orale precedente a chemioterapia.**
Lesioni papulo-erosive alla gengiva inferiore



La revisione istologica e lo screening confermano il coinvolgimento multisistemico, per il quale si esegue chemioterapia con remissione completa

Il commento

Nel paziente adulto il coinvolgimento osseo è abbastanza frequente e l'interessamento della mandibola è circa del 30%. Il gold standard per la diagnosi di Istiocitosi a cellule di Langerhans rimane la biopsia dell'organo lesionato con il riscontro istologico del granuloma e la presenza delle cellule di Langerhans patologiche positive per CD1a e/o Langerina CD207+.

Questo caso sottolinea l'importanza di una diagnosi precoce, la necessità di saper riconoscere le caratteristiche della malattia e l'importanza di un'efficace collaborazione/comunicazione tra gli specialisti in modo tale da favorire, prima possibile, il trattamento ed evitare l'insorgenza di progressione della malattia e delle sue complicanze.

La chemioterapia è riservata alle forme multisistemiche, alle forme monosistemiche con malattia ossea multifocale, alla localizzazione in siti a rischio del SNC e alle forme monosistemiche con lesioni in "siti speciali".

Le diverse esperienze, sia in ambito pediatrico sia nell'adulto, hanno documentato come il prolungamento del trattamento riduca il tasso di riattivazione; su queste evidenze si è deciso di proseguire, per dodici mesi, il mantenimento della chemioterapia.

La radioterapia, largamente adottata in passato, può essere efficace sul controllo delle lesioni ossee ma è gravata da un'alta probabilità di sequele tardive talora invalidanti; in ogni caso non è indicata nel trattamento di prima linea della malattia multisistemica come nel caso del nostro paziente.

In letteratura viene segnalato l'impiego dello steroide, mediante infiltrazione locale, per le localizzazioni ossee unifocali; nel presente caso clinico tale trattamento è stato escluso in considerazione del pregresso intervento chirurgico, delle dimensioni dell'area osteolitica e dello stato di malattia multisistemica.

Foto 5 **Cavo orale dopo 6 mesi di chemioterapia.**
Netta riduzione delle lesioni mucose



Foto 6 **OPT dopo 6 mesi di chemioterapia.**
Iniziali segni di riossificazione della sinfisi mandibolare



Centrali la diagnosi precoce e la collaborazione multidisciplinare che hanno favorito la terapia ed evitato progressione e complicanze

Bibliografia

1. Girschikofsky M, Aricò M, Castillo D, et al. Management of adult patients with Langerhans cell Histiocytosis: recommendations from an expert panel on behalf of Euro-Histio-Net. Orphanet J Rare Dis 2013; 8:72.
2. Kumar YP, Agrawal J, Mohanlakshmi J, Kumar PS. Langerhans cell histiocytosisrevisited:case report with review. Contemp Clin Dent. 2015 Jul-Sep;6(3):432-6.
3. Haupt R, Minkov M, Astigarraga I, Schäfer E, Nanduri V, Jubran R, et al. Langerhans cell histiocytosis (LCH): guidelines for diagnosis, clinical work-up, and treatment for patients till the age of 18 years. Pediatr Blood Cancer. 2013 Feb;60(2):175-84.
4. Yashoda-Devi B, Rakesh N, Agarwal M. Langerhans cell histiocytosis with oral manifestations: A rare and unusual case report. J Clin Exp Dent. 2012;4:252–5.
5. Madrigal-Martínez-Pereda C, Guerrero-Rodríguez V, Guisado-Moya B, Meniz-García C. Langerhans cell histiocytosis: literature review and descriptive analysis of oral manifestations. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2009 May;14(5): E222–E228.
6. Weitzman S. and Marteen Egeler R. Langerhans cell Histiocytosis of bone in "Histiocytic Disorders of Children and Adults". Cambridge University Press 2005;154 – 173
7. Aricò M, De Juli E, Gènèrau T. and Saven A. Special aspect of Langerhans cell Histiocytosis in adult. In "Histiocytic Disorders of Children and Adults". Cambridge University Press 2005;174 - 186

Giovanni Ciana
Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, AOU Santa Maria della Misericordia, Udine

Strani capelli in una bambina che "cambia" lentamente, sotto gli occhi della madre

Sabrina, la vogliamo chiamare così, è una bambina di 12 anni, secondogenita, nata al termine da una gravidanza regolare con parto eutocico senza problemi perinatali ed un'anamnesi familiare negativa. Le prime tappe dello sviluppo psicomotorio sono state regolari: acquisizione della posizione seduta a 6 mesi, primi passi a 14 e prime parole ai 12 mesi. All'età di 3 anni la bambina ha presentato prima un arresto e poi una regressione dello sviluppo motorio e cognitivo, accompagnati dalla perdita del controllo degli sfinteri e dall'inizio di una storia di infezioni delle prime vie aeree, in particolare otiti ripetute. In quegli anni fu visitata più volte dal pediatra di famiglia e in ospedale. All'età di 5 anni fu iniziata logopedia e sedute di stimolazione psicomotoria più volte alla settimana.
Nel sospetto di un'origine "genetica" del ritardo cognitivo, il pediatra di famiglia chiese l'esecuzione di un cariotipo, risultato normale. All'età di 6 anni, in seguito al ripetersi degli episodi di otite ed alla comparsa di apnee notturne, Sabrina venne sottoposta ad adenotonsillectomia, con persistenza comunque di un respiro prevalentemente orale, rumoroso. Nell'estate degli 8 anni, durante una vacanza al mare, una vicina di ombrellone notò che la bambina presentava dei tratti del volto simili a quelli di sua figlia, cui all'età di un anno era stata posta diagnosi di mucopolisaccaridosi I trattata con trapianto di midollo. La signora ne parlò con la madre di Sabrina che per la prima volta, in modo conscio, "realizza" la presenza dei tratti fisiognomici della bambina e tramite internet si rivolge al nostro centro, inviando

Foto 1-4



La bambina presenta un evidente cambiamento della tessitura dei capelli e lievi alterazioni somatiche

una serie di fotografie della piccola in età diverse. Nella sua lettera pose l'accento in particolare sul cambiamento delle tessitura dei capelli, divenuti nel tempo crespi, stopposi, folti e molto biondi, in contrasto alle sopracciglia scure (*Foto 1-4*). Vedendo questi elementi venne suggerito un ricovero in day-hospital, per un inquadramento complessivo della situazione di Sabrina. Al momento del ricovero, oltre alle caratteristiche somatiche descritte, Sabrina presentava un'importante poliposi nasale occludente la narice destra. All'ascoltazione cardiaca era presente un soffio sistolico 2/6 sul focolaio mitralico. Non evidente epatosplenomegalia, ma presenza di ipotonia assiale (con iperlordosi e rigidità articolari), impaccio motorio con movimenti grossolani e stereotipie. La valutazione neuropsichiatrica confermò un ritardo cognitivo di grado moderato con disturbo dell'attenzione e iperattività. All'ecografia addominale era presente un lieve aumento dei volumi di fegato e milza, mentre quella cardiaca mostrava un lieve inspessimento della valvola mitrale. Alla risonanza magnetica cerebrale era visibile un'atrofia cerebrale diffusa. Non fu possibile eseguire un'indagine radiologica scheletrica per l'irritabilità della bambina. Nell'ipotesi diagnostica di una possibile mucopolisaccaridosi, venne eseguita in prima istanza la valutazione dei GAGs urinari che risultarono normali in due esami successivi. Il risultato non ci soddisfò e decidemmo comunque di eseguire una biopsia cutanea per un approfondimento enzimatico sui fibroblasti, nel sospetto di un quadro di MPS III (S. di Sanfilippo) che ci appariva come la più probabile tra le mucopolisaccaridosi. Il risultato dell'esame confermò il sospetto, mostrando un valore di N-acetil-glucosaminidasi di 2.1 nmol/\ mg/h (controllo di riferimento: 94.3 nmoli/mg/h). La successiva analisi molecolare mostrò la presenza della mutazione del gene NAGLU, causativa di S. di Sanfilippo tipo B responsabile della MPSIIIB, confermando così la diagnosi enzimatica.

Le MPS e la MPS III o Sindrome di Sanfilippo

Delle 7 mucopolisaccaridosi (MPS), la MPS III o S. di Sanfilippo è la più comune (1) ed è composta da 4 differenti sottotipi: tipo A, tipo B, tipo C, tipo D, tutti ereditati in maniera autosomica recessiva. Nell'insieme l'incidenza riportata varia fra 0.28 e 4.1 per 100.000 nati vivi, con i tipi A e B più comuni rispetto ai tipi C e D (2). La MPS III B o S. di Sanfilippo III B è dovu-

I disturbi cognitivi e dell'attenzione inducono ad ipotizzare un disordine dello spettro autistico

Sintesi clinica della MPS III

Dismorfismi facciali	Possono essere meno evidenti rispetto alle altre MPS, specie inizialmente. Dolicocefalia, sopracciglia prominenti, irsutismo, capelli molto grossolani e spessi. **Questo era il reperto più eclatante della nostra bambina**. L'assenza di lineamenti grossolani non esclude la malattia (2).
Epatosplenomegalia	Non è la regola. L'epatomegalia è presente nel 50% dei pazienti; più rara la splenomegalia.
Ricorrenti infezioni respiratorie	Infezioni respiratorie ricorrenti ed otiti sono comuni nella MPS III
Manifestazioni ortopediche	Compaiono più tardi rispetto alle altre MPS (displasia delle anche, iperlordosi lombare, scoliosi/cifosi, sindrome del tunnel carpale)

Diagnostica di laboratorio

Dosaggio dei GAGs urinari	Un incremento dell'escrezione è diagnostico di per sé, ma nel 50% dei pazienti con MPS III il dosaggio può risultare sovrapponibile ai controlli normali.
Determinazione dell'attività enzimatica Tipo A: heparan N-sulfatase (SGSH) Tipo B: a-N-acetylglucosaminidase (NAGLU), Tipo C: acetyl CoA a-glucosaminide acetyltransferase (HGSNAT) Tipo D: N-acetylglucosamine-6-sulfatase (GNS)	E' essenziale per la conferma diagnostica e la determinazione del sottotipo di MPS III. L'attività può essere misurata sui leucociti, fibroblasti, villi coriali ed amniociti (diagnosi prenatale). Il test può essere eseguito anche su sangue essiccato su cartoncini (6), metodica che facilita programmi di screening neonatale.
Analisi molecolare	E' il test diagnostico di conferma, utile anche per la diagnosi prenatale in famiglie con casi indice.

Cenni di terapia

Trapianto con cellule staminali emopoietiche (HSCT)	Non è efficace
Terapia enzimatica sostitutiva intratecale sulfamidase	Efficace nel modello animale Nell'uomo sono attualmente attivi trial clinici di fase I/II
Genisteina (isoflavonoide della soya capace di ridurre la trascrizione del gene coinvolto nella sintesi dell'Eparansolfato)	A dosi crescenti sino a 15 mg/Kg/die ha mostrato qualche effetto positivo sui parametri di laboratorio, ma una scarsa efficacia su score cognitivi e comportamentali. Rimane da determinare se un ulteriore aumento del dosaggio potrebbe essere efficace dal punto di vista clinico (7)
Terapia di riduzione del substrato con: **a. Miglustat** **b. siRNAs silencing dei geni EXTL2 e EXTL3**	 Non efficace In vitro capaci di ridurre la sintesi di GAGs

ta alla deficienza dell'enzima N-acetil-glucosaminidasi, che provoca un accumulo tissutale di epa-ran-solfato, un mucopolisaccaride (GAG-glucosio amino glicano) escreto per via renale e riscontrabile in maniera aumentata nelle urine. Il fenotipo severo (forma classica) è caratterizzata da un normale sviluppo nei primi 2 anni di vita, seguito dal rallentamento dello sviluppo cognitivo e/o del linguaggio con blocco verso l'età di 3-4 anni, e progressivo declino cognitivo. In questa MPS le alterazioni somatiche, tipiche delle altre MPS, sono relativamente lievi. I bambini con MPS III sono spesso erroneamente diagnosticati come ritardo idiopatico dello sviluppo e/o del linguaggio, deficit dell'attenzione (sindrome ADHD) e /o disordine dello spettro autistico (3). La morte avviene generalmente nella seconda-terza decade di vita, prevalentemente per complicanze cardiopolmonari (storia naturale).

Recentemente, è stata riconosciuta una variabilità fenotipica molto ampia, con alcuni pazienti affetti da una forma attenuata, sia dal punto di vista intellettivo che motorio, con lunga sopravvivenza (segnalati alcuni casi, che hanno raggiunto i 70 anni, che presentavano solo demenza o disturbi del comportamento) (4,5). Il ritardo diagnostico nella popolazione MPS III è molto comune (dipendendo dal fenotipo, in letteratura variabile tra 1 anno e mezzo e 9 anni). Nel nostro caso, il ritardo diagnostico dalla comparsa dei sintomi (3 anni) è stato di 9 anni.

La biopsia cutanea sui fibroblasti, in presenza di GAGs urinari normali, conferma la diagnosi di MPS3

Conclusioni

Ad oggi, la storia clinica di questa bambina è stata quella del progressivo instaurarsi di un ritardo motorio e cognitivo con lenta e lieve modificazione dei tratti somatici, tale da non accendere un "allarme" immediato nei genitori e nei medici. La gradualità delle modificazioni fisiognomiche ed il predominare dei disturbi cognitivi e della sfera dell'attenzione/iperattività (ADHD), hanno per lungo tempo indotto i medici che l'hanno visitata ad ipotizzare un disordine dello spettro autistico. In una situazione di questo tipo il test dei GAGs urinari deve venir considerato (8).

Bibliografia

1. Meikle PJ, Hopwood JJ, Clague AE et al. Prevalence of lysosomal storage disorders JAMA 1999; 281:249-54
2. Valstar MJ, Ruijter GJ, van Diggelen OP et al. Sanfilippo syndrome: a mini review J. Inherit. Metab. Dis. 2008; 31:240-52
3. Neufeld EF, Muenzer J. The mucopolysaccharidoses. In: Scriver CR, ed. The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York:McGraw-Hill, 2001
4. Valstar MJ, Bruggenwirth HT, Olmer R et al. Mucopolysaccharidosis type III B may predominantly present with an attenuated clinical phenotype J. Inherit. Metab. Dis. 2010; 33:759-67
5. Moog U, van Mierlo I, von Schrojenstein Lantman-de Valk HM et al. Is Sanfilippo type B in your mind when you see adults with mental retardation and behavioral problems? Am. J. Med. Genet C Semin. Med Genet. 2007; 145C:293-301
6. Fuller M, Tucker JN, Lang DL et al. Screening patients referred to a metabolic clinic for lysosomal storage disorders. J. Med. Genet. 2011; 48: 422-5
7. De Ruijter J, Valstar MJ, NarajczyK M et al. Genistein in Sanfilippo disease: a randomized controlled cross over trial Ann. Neurol. 2012; 71:110-20
8. Wijburg FA, Wegrzyn G, Burton BK et al. Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attentiodeficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder. Acta Paediatrica 2013; 102: 462-70

Paraskevas Iatropoulos, Erica Daina
IRCCS - Istituto di Ricerche Farmacologiche "Mario Negri", Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Ranica (Bergamo)

La Bioinformatica applicata allo studio delle malattie rare

In discipline quali la fisica delle particelle, l'astronomia, la matematica, i ricercatori hanno da tempo appreso come gestire enormi patrimoni di dati. In ambito medico l'importanza di questo tipo di competenze è stata riconosciuta solo recentemente e le nuove professionalità faticano a trovare adeguata collocazione nel mondo della sanità. Eppure il settore biomedico sempre più si trova a confronto con i cosiddetti big data, raccolte di informazioni tanto estese da richiedere tecnologie e metodi analitici specifici per la loro decodificazione, che potrebbero avere ricadute essenziali in termini di assistenza ai malati.

Data explosion

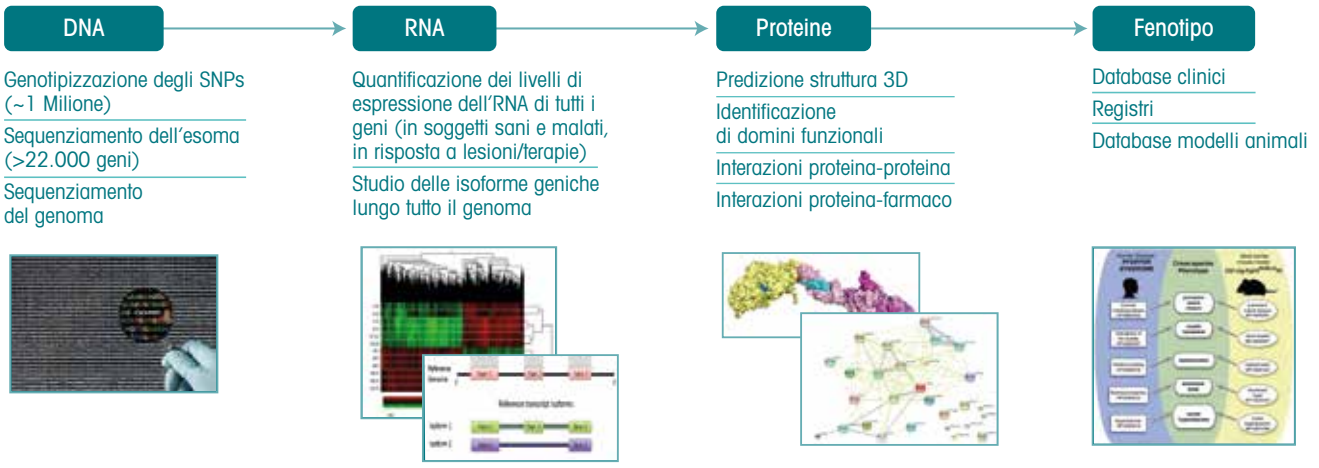
L'Istituto Europeo di Bioinformatica (European Bioinformatics Institute - EBI - Hinxton, UK), uno dei maggiori repository del mondo, custodiva nel 2012 venti petabyte (1 petabyte corrisponde a 10^{15} byte) di dati riguardo a geni, proteine e piccole molecole. Per gestirli i bioinformatici hanno dovuto confrontarsi con i ricercatori del CERN, il laboratorio europeo di fisica delle particelle che si trova in Svizzera, e dell'Agenzia Spaziale Europea (ESA) a Parigi e creare una sorta di comunità trasversale.
Se i centri dedicati alla fisica delle particelle piuttosto che le agenzie spaziali sono comunque veramente pochi, la crescente disponibilità di sequenziatori automatici di nuova generazione sta trasformando anche piccoli laboratori di biologia in potenziali generatori di big data. La facilità con cui è possibile "leggere" i genomi ha portato ad una crescita esponenziale delle informazioni a disposizione. L'interpretazione di questi dati è tuttavia complessa, deve poter contare su infrastrutture e competenze informatiche raramente a disposizione del singolo centro, e può avere un impatto costruttivo sulla pratica clinica solo se mediato dal confronto tra diversi specialisti (1, 2).

Dalla biologia al computer

La bioinformatica applica metodi matematici, statistici e computazionali all'analisi di dati biologici. I principali oggetti di studio sono il DNA e l'RNA, ma con il diffondersi di tecniche sempre più economiche ed efficaci per studiare le proteine, anche queste ultime sono diventate uno degli argomenti privilegiati.
L'enorme contributo che la bioinformatica può dare alla medicina non consiste solo nello sviluppo di strumenti per conservare, analizzare e gestire le informazioni. A partire dalle sequenze di proteine si possono per esempio costruire modelli tridimensionali e studiare le interazioni tra proteine diverse, molecole e recettori, inibitori o attivatori di processi biologici. In *Figura 1* sono riportate le principali applicazioni della bioinformatica in campo medico.
È importante peraltro sottolineare come la disciplina renda anche possibile integrare in maniera automatica su larga scala i diversi livelli di informazione (genomica, trascrittomica, proteomica, database clinici, letteratura scientifica, dati ambientali, ecc) e come tale integrazione,

Oltre ad analisi, conservazione e gestione delle informazioni la bioinformatica permette di integrare su larga scala i diversi livelli di informazione, con un contributo all'approfondimento patogenetico

Fig. 1 **Applicazioni della Bioinformatica**



Il sequenziamento del genoma permette non solo possibilità concrete di diagnosi ma anche di approfondire il ruolo di un gene e di individuare una terapia mirata

basata su algoritmi e metodi statistici innovativi, possa apportare un contributo rilevante alla comprensione della patogenesi delle malattie.

Il focus sulle malattie rare

In questa appassionante fase di evoluzione delle conoscenze il focus si è spostato in particolare sulle malattie rare, condizioni tradizionalmente meno studiate e per la maggior parte delle quali mancano terapie specifiche. Perché proprio le malattie rare?

La disponibilità della sequenza completa del genoma umano e l'aumentata conoscenza della variabilità genetica hanno consentito una rapida evoluzione nei metodi di genotipizzazione. Grazie a tali metodi è possibile testare contemporaneamente centinaia di migliaia di varianti geniche (oltre un milione di variazioni di singoli nucleotidi, dall'inglese Single Nucleotide Polymorphisms, SNPs) in migliaia di individui a costi accessibili. A partire dal 2006 questi progressi hanno reso possibile l'attuazione dei cosiddetti studi di associazione su tutto il genoma: Genome-Wide Association Study, GWAs. L'ipotesi alla base di uno studio di associazione è che la presenza di polimorfismi genetici sia correlata all'aumento o alla diminuzione del rischio di sviluppare patologie complesse: esistono varianti con ruolo di predisposizione alle malattie e varianti con un ruolo protettivo. Uno dei principali studi di associazione è stato pubblicato su *Nature* nel febbraio del 2007 per la ricerca delle varianti di suscettibilità al diabete di tipo II (3). In seguito sono state condotte numerose ricerche in patologie complesse (ad esempio artrite reumatoide, ipertensione, patologie coronariche, psoriasi).

Sebbene i GWAs abbiano determinato un notevole progresso nella conoscenza del rischio genetico per diverse patologie comuni, i risultati in termini di possibilità terapeutiche sono stati relativamente frustranti (4).

Ora che i costi del sequenziamento si sono notevolmente ridotti, sequenziare un intero genoma può dare ai ricercatori la possibilità di individuare una mutazione genetica responsabile di malattia analizzando un numero limitato di individui. Le malattie rare conseguenti a difetti di singoli geni offrono modelli straordinari in questo senso. Sequenziando l'intero genoma di un paziente e di alcuni membri della sua famiglia si aprono non solo concrete possibilità di diagnosi, ma anche di maggiore comprensione del ruolo di un determinato gene e di individuazione di una terapia mirata.

E da queste conoscenze ottenute studiando una malattia rara di origine genetica si ritiene di poterne ricavare altre utili alla comprensione di malattie più complesse, dove i fattori genetici agiscono insieme ad altre concause. Una decina di anni fa si riteneva di poter comprendere

Tab. 1 **Analisi del numero di varianti identificate grazie a sequenziamento dell'esoma** *(Whole Exome Sequencing analyses)*

Numero di geni nei quali almeno un paziente presenta varianti...	1 paziente	2 pazienti	3 pazienti	4 pazienti	Qualsiasi combinazione di 3 pazienti su 4
Non-sinonime (NS), nei siti di splicing (SS) o inserzioni/ delezioni codificanti (ID)	4510	3284	2765	2479	3768
NS/SS/ID non presenti in DB pubblici	513	128	71	53	119
NS/SS/ID non presenti in 8 individui di controllo	799	168	53	21	160
NS/SS/ID non presenti né nei DB pubblici né nei controlli	360	38	8	1 (MYH3)	22
...e predette come dannose per la funzione della proteina	160	10	2	1 (MYH3)	3

Modificato da Ng, SB et al Nature 2009

Grazie alla analisi bioinformatica è possibile ridurre progressivamente il numero delle mutazioni candidate, selezionando quelle potenzialmente dannose ed eliminando via via quelle non causali

le malattie comuni attraverso studi di associazione.
Ora sempre più il focus dei ricercatori si sta spostando sulle circa 3000 malattie ereditarie causate da difetti in singoli geni non ancora identificati (5).

Esempio di uno studio genetico

Nello studio condotto da Sarah B. Ng (6), a partire dal sequenziamento dell'esoma di un piccolo numero di pazienti affetti da sindrome di Freeman–Sheldon, si realizza la possibilità di identificare direttamente il gene causale.
L'applicazione a questa rara forma di artrogriposi è solo un esempio, una sorta di proof-of-concept, di una metodica che può essere estesa a molte malattie monogeniche rare.
Il sequenziamento massivo dell'esoma, cioè delle regioni del DNA che rappresentano l'1-2% del genoma umano e contengono l'informazione per la composizione delle proteine, evidenzia in ogni individuo la presenza di un gran numero di mutazioni apparentemente private.
Grazie alla analisi bioinformatica è possibile ridurre progressivamente il numero delle mutazioni candidate, selezionando quelle potenzialmente dannose ed eliminando via via quelle non causali. Nella *Tabella 1* i singoli passaggi sono sintetizzati con l'indicazione di tutti i "filtri" applicati per giungere alla identificazione del gene MYH3, uno degli oltre 2000 in cui sono presenti varianti in tutti e 4 i pazienti studiati, ma l'unico ad avere un ruolo causale.

Può la bioinformatica aiutarci a comprendere la fisiopatologia?

La classificazione delle malattie costituisce uno strumento necessario a dare ordine alle osservazioni cliniche, a permettere l'attività diagnostica e ad impostare razionalmente le terapie. Nonostante la loro indubbia utilità, le classificazioni tradizionali si limitano per lo più a raggruppare le malattie in classi di maggiore o minore estensione senza giungere alla comprensione dei processi biologici alterati. Recentemente sono state introdotte tecniche di analisi dei dati che esplorano la possibilità di suddividere i pazienti in gruppi relativamente omogenei, caratterizzati da specifici meccanismi fisiopatologici.
In generale, ogni volta che abbiamo bisogno di classificare un'ingente mole di informazioni, l'analisi dei gruppi, meglio conosciuta come cluster analysis, rappresenta un metodo esplorativo per verificare ad esempio se, all'interno di una popolazione, esistono gruppi di soggetti omogenei, aventi cioè caratteristiche simili tra loro. Applicata alla medicina, questo tipo di analisi permette di suddividere i pazienti affetti da una medesima patologia in clusters di soggetti simili tra loro e differenti – eterogenei – rispetto a quelli raccolti negli altri clusters.
La maggior parte degli studi pubbli-

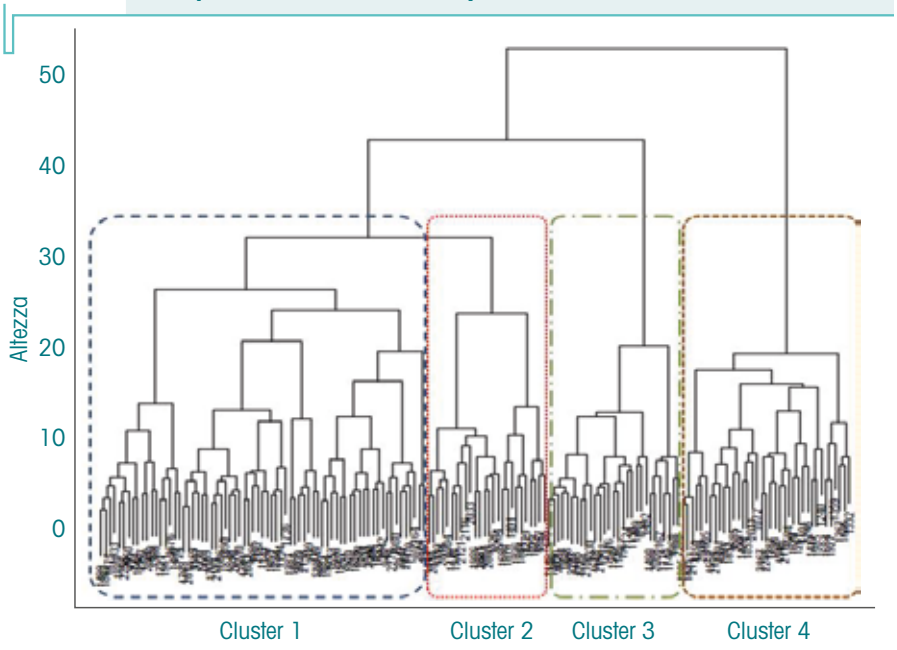
La cluster analysis suddivide i pazienti affetti dalla stessa patologia in sottopopolazioni omogenee

cati applica la cosiddetta unsupervised cluster analysis (classificazione non supervisionata) quale strumento obiettivo, data-driven, per individuare gruppi a partire dai dati disponibili (clinici, biochimici, genetici, strumentali) evitando ogni assunzione o influenza da parte dello sperimentatore (*Fig. 2*).

Questo approccio è stato utilizzato con successo per mettere in evidenza sottogruppi di pazienti in malattie comuni quali l'asma, il Parkinson e le pneumopatie croniche ostruttive (7-9). Nel lavoro di Eng (10), la tecnica viene applicata ad una coorte di pazienti affetti da juvenile idiopathic arthritis (JIA), malattia rara con significativa variabilità clinica.

L'analisi dei dati clinici e biologici disponibili al momento della diagnosi per 259 pazienti - 157 del gruppo in studio e 102 per la fase di validazione indipendente - consente di disegnare una nuova classificazione della malattia e di identificare sottopopolazioni omogenee con una efficienza significativamente maggiore rispetto alla classificazione tradizionale (International League of Associations for Rheumatology subtypes). Lo studio identifica 5 cluster che differiscono tra loro in termini di caratteristiche cliniche, risposta ai trattamenti e prognosi, fornendo un esempio di raggruppamento che, partendo da una analisi bioinformatica "automatizzata" dei dati, riesce a costruire una classificazione eziopatogenetica.

Fig. 2 **Esempio di diagramma ottenuto mediante *unsupervised cluster analysis***



Conclusioni

Il progresso delle tecniche di bioinformatica applicabili allo studio delle malattie rare e le aumentate potenzialità di queste metodiche non devono far dimenticare i limiti propri di ciascun utilizzo. Se prendiamo come esempio le diverse tecniche di se-

Tab. 2 **Vantaggi e insidie dei diversi metodi di sequenziamento**

	Sequenziamento Sanger	Sequenziamento pannelli di geni	Sequenziamento dell'esoma	Sequenziamento del genoma
N° geni	1	~5-200	~22.000	~22.000 (+regioni regolatorie)
Costo (€)	300	200	600	1.200
N° varianti	~5	~600	~100.000	~3.000.000
Difficoltà nella interpretazione dei dati	-/+	+	++	+++
Sensibilità	99,9%	98-99%	~90%	~90%

quenziamento genico, è evidente come anche le analisi più sofisticate e ben condotte lascino aperte aree di incertezza e il clinico debba essere consapevole della dinamicità del settore e del fatto che le difficoltà di interpretazione crescano con il crescere dei dati a disposizione (*Tab. 2*).
In questo, forse più che in altri settori della medicina, il medico non può fare da solo, ma è indispensabile che collabori attivamente perché l'avanzare delle conoscenze possa tradursi in un miglioramento delle cure offerte ai malati. Allo stesso modo chi si occupa di organizzazione in campo sanitario deve prendere coscienza del fatto che l'analisi bioinformatica, sempre più insostituibile, richieda nuovi metodi, nuove professionalità ed accresciute risorse. L'investimento ha tutte le caratteristiche per essere vantaggioso e per rappresentare, ancora una volta, un esempio di come i pazienti con malattie rare possano offrire un contributo fondamentale al progresso della medicina.

Bibliografia

1. Help! The data are coming. Nature. 1999;399(6736):505.
2. Marx V. Biology: The big challenges of big data. Nature. 2013;498(7453):255-60.
3. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. Nature. 2007;445(7130):881-5.
4. Gahl WA, Mulvihill JJ, Toro C, et al. The NIH Undiagnosed Diseases Program and Network: Applications to modern medicine. Mol Genet Metab. 2016;117(4):393-400.
5. Check Hayden E. Genomics shifts focus to rare diseases. Nature. 2009;461(7263):458.
6. Ng SB, Turner EH, Robertson PD, et al. Targeted capture and massively parallel sequencing of 12 human exomes. Nature. 2009;461(7261):272-6.
7. Lotvall J, Akdis CA, Bacharier LB, et al. Asthma endotypes: a new approach to classification of disease entities within the asthma syndrome. J Allergy Clin Immunol. 2011;127: 355-360.
8. van Rooden SM, Heiser WJ, Kok JN, et al. The identification of Parkinson's disease subtypes using cluster analysis: a systematic review. Mov Disord. 2010;25: 969-978.
9. Burgel PR, Paillasseur JL, Caillaud D, et al. Clinical COPD phenotypes: a novel approach using principal component and cluster analyses. Eur Respir J. 2010;36: 531-539.
10. Eng SWM, Duong TT, Rosenberg AM, et al. The Biologic Basis of Clinical Heterogeneity in Juvenile Idiopathic Arthritis. Arthritis & Rheumatology. 2014;66(12):3463-3475.

A new autoinflammatory and autoimmune syndrome associated with NLRP1 mutations: NAIAD (NLRP1-associated autoinflammation with arthritis and dyskeratosis)

Grandemange S. et al. Ann Rheum Dis 2016 Published Online First on December 13

Riassunto

Le malattie autoinfiammatorie ereditarie sono un gruppo di patologie in continua espansione grazie alla crescente diffusione del sequenziamento del DNA di nuova generazione (NGS), che ha sensibilmente accelerato l'individuazione delle basi genetiche di condizioni infiammatorie finora indefinite. In questo studio gli autori hanno identificato, attraverso un approccio basato sulla combinazione di analisi di linkage ed exome sequencing, una nuova malattia autoinfiammatoria mendeliana causata da mutazioni missenso di NLRP1, una proteina coinvolta nella modulazione della cascata infiammatoria in risposta a segnali di pericolo endogeni o esogeni. Questa sindrome, caratterizzata da febbre ricorrente, persistente aumento degli indici di flogosi, artrite e discheratosi (da cui l'acronimo NAIAD), si associa a un significativo incremento della concentrazione di IL-18 circolante, riflettendo un'abnorme attivazione della caspasi-1 indotta dalle mutazioni di NLRP1. Coesistono inoltre alterazioni più propriamente autoimmuni, suggerendo il probabile ruolo di NLRP1 al confine tra immunità innata e immunità adattativa.

Commento

Gli inflammasomi sono complessi molecolari che svolgono un ruolo chiave nell'immunità innata, agendo come sensori che riconoscono diverse specie patogene e inducono la secrezione di importanti mediatori infiammatori, in particolare IL-1β e IL-18. Gli inflammasomi meglio caratterizzati dal punto di vista strutturale e funzionale sono formati rispettivamente dalle proteine NLRP3 e NLRC4, appartenenti alla famiglia dei NOD-like receptors (NLR). Mutazioni di NLRP3 e NLRC4 inducono un'attivazione costitutiva della risposta infiammatoria e causano malattie ereditarie a trasmissione autosomica dominante caratterizzate da febbre ricorrente e infiammazione sistemica. Queste patologie sono oggi definite, nell'ambito delle malattie autoinfiammatorie, con il termine inflammasomopatie. Le criopirinopatie o CAPS, associate a mutazioni di NLRP3, ne sono il prototipo.

Come NLRP3 e NLRC4, la proteina NLRP1 attiva la formazione di un inflammasoma, il cui funzionamento è tuttavia ancora poco definito. Il riscontro di un'elevata concentrazione di caspasi-1 e IL-18 nei pazienti con NAIAD supporta l'ipotesi gain-of-function anche per le mutazioni di NLRP1, collocando pertanto la sindrome descritta in questo studio nel capitolo delle inflammasomopatie.

D'altra parte è stata riportata in precedenza una mutazione di NLRP1 che determina un quadro di iperplasia corneale intraepiteliale isolata, con discheratosi e paracheratosi, a trasmissione dominante, senza segni di flogosi sistemica. Lo studio della variabile espressività fenotipica delle mutazioni di NLRP1 potrà sicuramente contribuire a comprendere meglio il ruolo biologico di questa proteina e del suo inflammasoma, aprendo la strada all'identificazione di nuovi target terapeutici per questo gruppo di patologie. *Laura Obici*

Plant-based oral delivery of β-glucocerebrosidase as an enzyme replacement therapy for Gaucher's disease

Shaaltiel Y et al. Plant Biotechnology Journal 2015;13: 1033-1040

Riassunto

La malattia di Gaucher (GD), patologia da accumulo lisosomiale causata dalla mutazione del gene che codifica la glucocerebrosidasi (GCD), è trattata con terapia sostitutiva con enzima GD ricombinante, somministrato iv ogni 2 settimane.

Lo studio descrive il potenziale impiego di cellule vegetali (carote) come veicolo per la somministrazione orale di GCD umano ricombinante (prGCD) in modo da superare i limiti della somministrazione iv (scomodità, dolore, infezioni locali e sistemiche) che possono determinare scarsa compliance del paziente.

I risultati in vitro dimostrano che le cellule vegetali proteggono la proteina ricombinante dai succhi gastrici, migliorando l'assorbimento del farmaco. Studi su modelli animali hanno mostrato che prGDC attivo è stato rintracciato nel tratto digestivo e nel sangue ed è in grado di raggiungere gli organi bersaglio della GD: fegato e milza. I risultati dimostrano la fattibilità della somministrazione orale mediante proteine incapsulate in cellule vegetali. In particolare, le cellule di carota contenenti prGCD umano ricombinante possono rappresentare una modalità di somministrazione alternativa nella malattia di Gaucher.

Commento

E' un lavoro innovativo che si inserisce nel filone della ricerca tesa a sperimentare i bioreattori vegetali come fonte di produzione di proteine ricombinanti umane per uso terapeutico. L'obiettivo dichiarato è quello di sviluppare una tecnologia che permetta una produzione sicura, ad alta intensità e costo contenuto di farmaci oggi estremamente costosi. Gli autori hanno utilizzato le cellule di carota per produrre una forma terapeuticamente attiva di betaglucosidasi ricombinante umana (Taliglucerase alfa) da testare, somministrata per via orale, nella cura della malattia di Gaucher. L'attività dell'enzima, ricostituito dopo liofilizzazione, è stata testata dapprima in vitro, su un modello artificiale di stomaco ed intestino, e successivamente sull'animale (ratto e maiale).

I risultati, comparati anche con la normale somministrazione per via endovenosa, hanno dato risultati molto interessanti. Testato su un modello artificiale di stomaco ed intestino, l'enzima, incapsulato nelle cellule di carota, si è dimostrato in grado di resistere al filtro dei succhi gastrici ed intestinali e di venire assorbito nel monostrato di cellule di mucosa intestinale.

Quando somministrato agli animali, l'enzima ha mostrato l'assorbimento a livello intestinale e la progressiva comparsa a livello plasmatico e nel fegato e nella milza, due delle principali sedi di accumulo della malattia. Il picco di concentrazione plasmatica si è dimostrato circa 10 volte inferiore a quello ottenuto con la somminisrazione endovenosa, ma il suo raggiungimento è avvenuto dopo 6-8 ore (rispettivamente nel ratto e nel maiale), con una persistenza in circolo prolungata, fino a 24 ore dopo la sommistrazione. I dati, seppur preliminari, fanno intravvedere come una somministrazione cronica, quotidiana, di questa forma enzimatica possa rappresentare un realistico approccio terapeutico in un prossimo futuro.

Bruno Bembi

Bruno Bembi
Direttore Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, AOU Santa Maria della Misericordia, Udine

Novità in tema di screening neonatale delle malattie metaboliche

Dallo scorso mese di settembre è formalmente in vigore su tutto il territorio nazionale lo screening neonatale obbligatorio per 48 malattie genetiche. Il testo della legge approvata è apparso sulla Gazzetta Ufficiale n.203 del 31-8-2016: "Disposizioni in materia di accertamenti diagnostici neonatali obbligatori per la prevenzione e la cura delle malattie metaboliche ereditarie". Il percorso per la sua approvazione è stato lungo ed ha coinvolto nell'elaborazione le associazioni dei pazienti ed i professionisti italiani esperti del settore.

Cosa prevede questa legge?

In primis, la garanzia che a tutte le famiglie dei nati nel nostro paese venga offerto un test unico, eseguito su una goccia di sangue raccolta su cartoncino (analisi con spettrometria di massa), che permetta di escludere o identificare precocemente una patologia potenzialmente fatale o severamente invalidante. Si tratta delle patologie riportate nelle *Tabelle 1-3*, per le quali esiste una possibilità terapeutica (farmacologica e/o dietetica) efficace per modificarne la storia naturale. Per garantire questo percorso, le regioni dovranno attrezzarsi "in proprio", dove già operano dei centri di screening neonatale o accordandosi con i centri delle regioni limitrofe.

Tab. 1 **Patologie inserite nello screening neonatale allargato (I)**

Aminoacidopatie (AA)	
Fenilchetonuria	PKU
Iperfenilalaninemia benigna	H-PHE
Deficit biosintesi cofattore tetraidrobiopterina	deficit BIOPT (BS)
Deficit rigenerazione cofattore tetraidrobiopterina	deficit BIOPT (REG)
Malattia delle urine allo sciroppo d'acero	MSUD
Argininemia	ARG
Citrullinemia tipo I	CIT I
Citrullinemia tipo II	CIT II
Acidemia Argininosuccinica	ASA
Omocistinuria	HOMO (deficit CBS)
Tirosinemia tipo I	TYR I
Tirosinemia tipo II	TYR II
Tirosinemia tipo III	TYR III
Ipermetioninemia	MET
Deficit di metilene tetraidrofolato reduttasi	deficit MHTFR

Obbligatorio in Italia lo screening neonatale per 48 malattie genetiche; primo passo verso la realizzazione dei programmi di screening

Restano però indeterminati tempi e modalità operative

E' solo un primo passo, ma essenziale, perché permette di passare alla fase attuativa dell'enunciato. A questo scopo è prevista la realizzazione di un "Centro di Coordinamento sugli Screening Neonatali", presso l'Istituto Superiore di Sanità, di cui faranno parte il Direttore Generale dell'ISS, con il ruolo di coordinatore, una serie di esperti del settore, i rappresentanti delle associazioni maggiormente rappresentative del settore ed alcuni componenti di area politico-amministrativa (Ministro della Salute e Conferenza Stato-Regioni).

I compiti affidati al Centro sono quelli di monitorare e promuovere l'uniformità operativa in tutto il Paese, individuando degli standard condivisi per la realizzazione del programma di screening. Un altro compito importante riguarda l'identificazione dei bacini d'utenza, compito rilevante in una realtà che oggi vede operanti nelle 20 regioni italiane più di 30 centri, in alcuni casi con bacino di riferimento inferiore a 20.000 nascite/anno.

Infine, un tema complesso sarà quello informativo-culturale, indirizzato ai sistemi di cura regionali con lo scopo di garantire il corretto approccio clinico-terapeutico ai neonati che risultino positivi al test.

E' senz'altro una legge ambiziosa e positiva, che lascia però un'indeterminatezza su tempi e modalità operative. Ora "la palla" passa ai nuovi organismi preposti all'attuazione, alle autorità regionali, ma in particolare ai professionisti e, perché no, alla sorveglianza delle associazioni.

In quanto a noi, seguiremo il tema nei prossimi numeri, ospitando gli interventi ed i pareri dei diversi attori coinvolti in questo percorso.

Tab. 2 Patologie inserite nello screening neonatale allargato (II)

Acidurie Organiche (OA)	
Acidemia glutarica tipo I	GA I
Acidemia Isovalerica	IVA
Aciduria 3-Idrossi 3-metil glutarica	HMG
Deficit di Beta-chetotiolasi	deficit BKT
Acidemia Metilmalonica	MMA - Cbl A
Acidemia Metilmalonica	MMA - Cbl B
Acidemia Metilmalonica	MMA - Cbl C
Acidemia Metilmalonica	MMA - MUT
Acidemia Metilmalonica	MMA - CblD
Acidemia Propionica	PA
Deficit di Carnitina palmitoil-transferasi II	deficit CPT II
Deficit Multiplo delle carbossilasi	deficit MCD
Deficit di 3-Metil crotonil-CoA carbossilasi	deficit 3MCC
Deficit di 2-Metil butirril-CoA deidrogenasi	deficit 2MBG
Aciduria 3-Metil glutaconica (tipo 1, 2, 3, 4 e 5)	3MGA
Deficit di Isobutirril-CoA deidrogenasi	deficit IBG
Aciduria Malonica	MAL
Aciduria 2-Metil 3-idrossi butirrico	2M3HBA
Encefalopatia Etilmalonica	EE
Deficit di ornitina transcarbamilasi	deficit OTC

Tab. 3 Patologie inserite nello screening neonatale allargato (III)

Difetti della β-ossidazione degli Acidi Grassi (FAO)	
Deficit di acil CoA deidrogenasi a catena media	deficit MCAD
Deficit di trasporto della carnitina	deficit CUD
Deficit di idrossiacil CoA deidrogenasi a catena lunga	deficit LCHAD
Deficit di proteina trifunzionale	deficit TFP
Deficit di acil CoA deidrogenasi a catena molto lunga	deficit VLCAD
Deficit di Carnitina palmitoil-transferasi II	deficit CPT II
Deficit di Carnitina palmitoil-transferasi (L)	deficit CPT Ia
Acidemia glutarica tipo II	GA II
Deficit di acil CoA deidrogenasi a catena corta	deficit SCAD
Deficit Carnitina/acil-carnitina translocasi	deficit CACT
Deficit di Dienoil reduttasi	deficit DE-RED
Deficit di 3-OH acil-CoA deidrogenasi a catena media/corta	deficit M/SCHAI

Luca Sangiorgi
Responsabile Genetica Medica e Malattie Rare Ortopediche, Dipartimento patologie ortopediche-traumatologiche specialistiche, Istituto Europeo Rizzoli - Bologna

Coordinamento della rete europea (ERN) sulle malattie rare dell'osso

La direttiva 2011/24/UE (concernente l'applicazione dei diritti dei pazienti per l'assistenza sanitaria transfrontaliera) impone alla Commissione Europea di sostenere gli Stati membri nello sviluppo delle reti di Riferimento Europee (ERN). In passato, la cooperazione tra i diversi Stati Membri è stata principalmente basata su accordi bilaterali o progetti comuni in settori specifici.
Con questa delibera, l'Unione Europea ha fatto un passo ulteriore verso una condivisione più efficiente e coordinata delle risorse e delle competenze, supportando e finanziando la creazione di Reti Europee di Riferimento (ERN) con lo scopo fondamentale di migliorare l'accessibilità da parte dei pazienti ai centri i cura e ricerca ultra specializzati. Questo processo, ratificato il 16/12/2016 con la comunicazione ufficiale da parte di DG Santè dei 23 ERNs (*Tab. 1*) approvati dal Board degli Stati Membri (che vede riuniti i rappresentanti dei 27 paesi che aderiscono alla EU) ha avuto inizio nel 2014 con la prima conferenza degli ERN.
Nella *Figura 1* è ricapitolata la storia dell'European Reference Network sui Rare Bone Diseases (BOND) che vede la partecipazione di oltre 38 centri in 10 paesi dell'Unione Europea. BOND riunisce tutte le malattie rare, essenzialmente congenite, croniche e di origine genetica, che colpiscono cartilagine, ossa e dentina. Questo considerevole gruppo di malattie presenta una variabilità significativa nella presentazione clinica e i dati atti a definire chiaramente le loro basi fisiopatologiche sono limitati.

Un così vasto campo di patologie può comunque essere suddiviso in due principali categorie tematiche; le displasie scheletriche e le malattie metaboliche dell'osso. Queste, a loro volta, possono essere suddivise in diversi gruppi sub-tematici. La nosologia e la classificazione di genetica displasia scheletrica delinea, nel 2015, più di 430 diverse malattie rare (*Bonafe L et al. Am J Med Genet A, 2015*) e sono stimate più di cinquanta specifiche malattie metaboliche dell'osso. Alcuni disturbi, come l'osteogenesi imperfetta (OI) o malattia di Morquio possono essere considerate un ponte tra queste due categorie di disturbi. Non di meno, i principi di diagnosi, gestione e follow-up sono abbastanza sovrapponibili, dando una maggiore coerenza e consistenza per la categorizzazione.
In analogia a molti altri ERN, si è assistito ad un processo di "fusione" di gruppi/centri di ricerca specializzati in "tipologie" di patologie (diplasie scheletriche e malattie rare a base metabolica dell'osso) e questo può essere già considerato un ottimo risultato nel senso che network che avevano una limitata interazione hanno deciso di costruire assieme le basi di un approccio comune ai pazienti affetti da patologie rare dell'osso.
L'impossibilità di prendere in considerazione tutte queste malattie ha portato a scegliere 11 principali gruppi tematici, e, tra questi gruppi, per sottolineare 3 principali malattie che avranno la priorità e fungeranno modello per i primi 2 anni di attività del nostro network: acondroplasia,

Tab. 1 **Reti europee di riferimento (ERN)**

BOND	**ERN on Rare Bone Disorders**
CRANIO	**ERN on Rare craniofacial anomalies & ENT disorders**
Endo-ERN	**ERN on Rare Endocrine Conditions**
EpiCARE	**ERN on Rare and Complex Epilepsies**
ERKNet	**European Rare Kidney Diseases Reference Network**
ERN-RND	**ERN on Rare Neurological Diseases**
ERNICA	**ERN on Rare inherited and congenital anomalies**
ERN-LUNG	**ERN on Rare Respiratory Diseases**
ERN-Skin	**ERN on Rare and Undiagnosed Skin Disorders**
EURACAN	**ERN on Rare Adult Cancers** (solid tumors)
EuroBloodNet	**ERN on Rare Hematological Diseases**
EURO-NMD	**ERN for Rare Neuromuscular Diseases**
ERN-EYE	**ERN on Rare Eye Diseases**
ERN GENTURIS	**ERN on GENetic TUmour RIsk Syndromes**
GUARD-HEART	**Gateway to Uncommon And Rare Diseases of the HEART**
ITHACA	**ERN on Rare Congenital Malformations and Rare Intellectual Disability**
MetabERN	**ERN for Rare Hereditary Metabolic Disorders**
PaedCan-ERN	**ERN for Paediatric Cancer** (haemato-oncology)
RARE-LIVER	**ERN on Rare Hepatological Diseases**
ReCONNET	**Rare Connective Tissue and Musculoskeletal Diseases Network**
RITA	**Rare Immunodeficiency, Autoinflammatory and Autoimmune Diseases Network**
TRANSCHILD	**ERN on Transplantation in Children** (incl. HSCT, heart, kidney, liver, intestinal, lung and multiorgan)
VASCern	**ERN on Rare Multisystemic Vascular Diseases**

osteogenesi imperfetta e X-linked ipofosfatemia.
Il razionale di scelta di queste malattie si basa su:

- frequenza della malattia,
- gravità di alcune manifestazioni cliniche, che richiede un miglioramento urgente nella diagnosi precoce e della gestione,
- difficoltà e complessità della diagnosi, che richiedono una diffusione di competenze diagnostiche e strumenti aggiornati,
- difficoltà e complessità nel trattamento e gestione, per assicurare una migliore diffusione del trattamento sintomatico o tecniche chirurgiche,
- presenza di nuovi farmaci provenienti dalla ricerca di base mediante la ricerca traslazionale o collaborazioni biofarmaceutiche di ricerca e sviluppo.

BOND realizzerà un sistema integrato per la presa in carico dei pazienti vicino alla residenza e la loro partecipazione alle decisioni

La scelta di focalizzarsi, per il periodo iniziale di attività, su queste patologie non preclude una visione più ampia e volta, progressivamente, ad aprire il campo ad altre malattie delle ossa "dimenticate" o di rarissima occorrenza. BOND si è prefisso un programma ambizioso, orientato a stabilire percorsi diagnostico/terapeutici specifici al fine di realizzare un sistema integrato europeo che sappia compensare gli squilibri tuttora presenti e che favorisca la presa in carico del paziente secondo i protocolli più aggiornati nella sede più prossima alla propria residenza.
In sintesi, ci si predispone a fare "viaggiare" le informazioni e le competenze e limitare il trasferimento dei pazienti solo a quei casi in cui possano beneficiare di una terapia altamente specializzata disponibile esclusivamente in uno dei centri partecipanti al network. L'ambizione principale di BOND è quella d'attuare misure che facilitino la cura centrata sul paziente tramite un'approccio multidisciplinare, olistico, continuo nel tempo, sostenendo i pazienti nella piena realizzazione dei loro diritti umani fondamentali. In particolare, BOND mira a garantire che alle persone (sia quelle affette che coloro che accompagnano i pazienti nel percorso terapeutico) siano offerti gli stessi standard di assistenza e di sostegno. Riunendo i professionisti europei altamente specializzati nel campo delle malattie rare dell'osso (MRO) (sia per quanto concerne la cura multidisciplinare che la ricerca scientifica) si mira a:

- aumentare la conoscenza sulle MRO,
- migliorare la qualità dell'assistenza sanitaria e la sicurezza del paziente,

- favorire l'accesso alle competenze mediche ultra specializzate e alle informazioni accessibili al di fuori i confini nazionali.

BOND aspira a sostenere i pazienti con malattie rare dell'osso (e le loro famiglie) per aumentare la loro capacità di intraprendere un ruolo partecipativo:

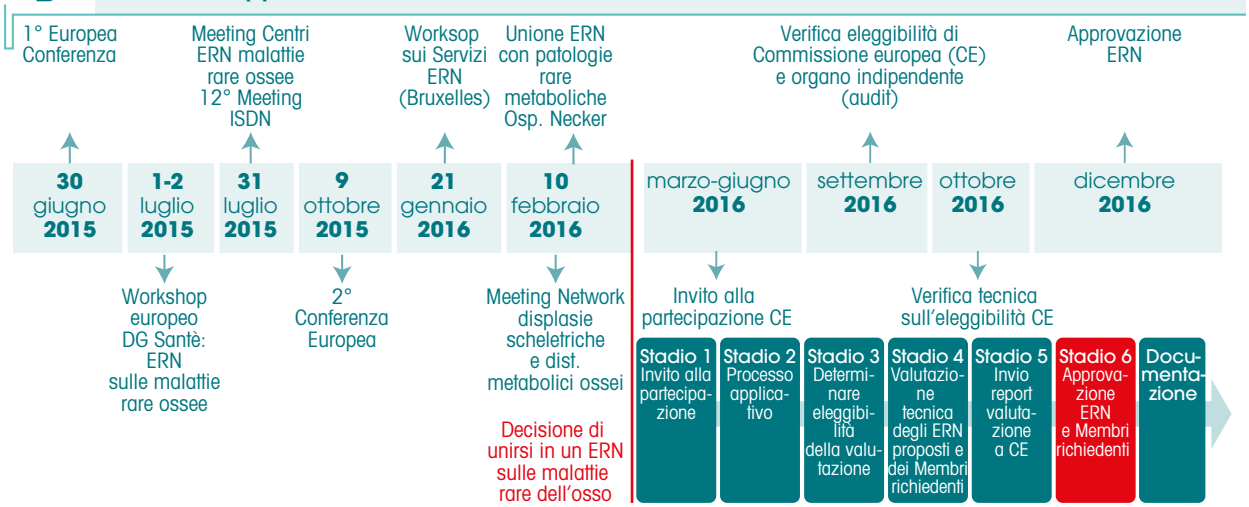
- nella fornitura di assistenza,
- nel stabilire le priorità,
- nel partecipare alle decisioni che riguardano il loro piano di assistenza e il loro progetto di vita, in accordo con le raccomandazioni EUCERD (2013).

BOND mira a valutare accessibilità e adeguatezza dei servizi sanitari e sociali per i pazienti e le loro famiglie. Allo stesso tempo, la Rete si propone di valutare l'assistenza sanitaria, l'efficacia sociale, il rapporto costo-efficacia delle azioni attuate, misurando il loro impatto sulla qualità della vita delle persone che vivono con RD. Per garantire che lo sviluppo delle attività sia incentrato sul paziente, è prevista la valutazione di misure di esito e di esperienza del paziente; tali analisi verranno adottate come risultati specifici rispetto ai quali valutare le prestazioni BOND nel migliorare l'assistenza sanitaria. BOND si prefigge un rapido scambio d'informazioni, competenze e buone pratiche per ridurre i tempi di diagnosi e il trattamento. Gli operatori sanitari di BOND condivideranno i dati clinici e la caratterizzazione fenotipica dei pazienti attraverso lo sviluppo di strumenti per creare registri di sorveglianza epidemiologica, permettendo una migliore comprensione degli interventi e delle comorbidità a livello individuale, e consentendo la raffinatezza e la standardizzazione di algoritmi diagnostici, linee guida di gestione e risultati. BOND permetterà lo sviluppo delle competenze degli operatori sanitari coinvolti attraverso piattaforme eHealth e la telemedicina e sono previsti specifici corsi di formazione; per quanto attiene alle attività di divulgazione, lavorerà con a stretto contatto con i rappresentanti delle Associazioni dei Pazienti (EPAGs).

BOND si prefigge di svolgere un ruolo centrale nello sviluppare in tutta Europa le sperimentazioni cliniche di farmaci orfani, con il fine di tradurre la ricerca più avanzata in concreti benefici per il paziente (in particolare tramite lo sviluppo di nuovi approcci più mirati). A tal fine prevediamo l'interazione con esperti delle autorità di regolamentazione per definire adeguati esiti dei clinical trial centrati sul paziente. BOND porterà un rapido scambio d'informazioni, competenze e pratica per ridurre i tempi di diagnosi e il trattamento. Ci aspettiamo, riducendo i tempi e diminuendo il numero di test inadeguati, diagnosi più accurate che possano dare accesso più precocemente alle terapie (mediche laddove disponibili o chirurgiche) entro i 2-3 anni.

BOND avrà un ruolo centrale per sviluppare in Europa le sperimentazioni cliniche di farmaci orfani

Fig. 1 **BOND- le tappe**



Marco Trivelli[1], **Giuseppe Genduso**[2]
[1]Direttore Generale, [2]Direttore Sanitario, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Il management delle malattie rare all'interno dell'ospedale

La cura delle malattie rare costituisce un paradigma della gestione delle cure di qualsiasi realtà sanitaria, *in primis* perché estremizza lo scopo ultimo di tutti i sistemi di cura: dare risposte alla sofferenza della singola persona. La malattia rara catalizza le azioni, le risorse e le intelligenze di sistema a questa finalità, anche quando queste azioni sono indirizzate alla pluralità delle persone, nel contesto organizzativo generale del sistema sanitario. E' per questo che il nostro paese e le nostre comunità territoriali creano luoghi, non solo ospedalieri, di cura e di assistenza.
La sfida è notevole, perché la risposta che richiede la malattia rara è spesso netta, non solo nell'intervento terapeutico (ove disponibile), ma in particolare nel management complessivo della malattia, quando la carenza di risposte si amplifica rapidamente e mette a nudo le criticità del sistema.
L'esiguità del numero dei pazienti per ogni singola malattia, la gravità o l'effetto invalidante della stessa rende indispensabile coltivare competenze professionali precise: dobbiamo coltivare il sapere medico e assistenziale, altamente specialistico, perché altrimenti non c'è speranza di cura.
Anche se coltivare il sapere in certi contesti e in certi momenti, sembra impossibile o improduttivo, questo tema deve diventare un orientamento che organizzazioni e singoli professionisti, per curiosità, passione o dovere, devono far proprio e ad esso dedicare lo spazio necessario. Una realtà che non regge su questo punto, nel tempo retrocede ed impoverisce l'intero sistema sanitario.

Lo sviluppo di un sistema informativo integrato favorisce un sistema sanitario mirato alla prevenzione e alla gestione delle malattie rare anche in emergenza

Un secondo aspetto fondante qualsiasi intervento nel settore delle malattie rare è che ogni intervento terapeutico o assistenziale non è atto solitario.
Non è solo una relazione personale tra medico e paziente, ma è l'intreccio di una batteria di conoscenze e risorse professionali, tecnologiche, diagnostiche, organizzative, senza le quali anche il più esperto e dedicato dei medici è impossibilitato ad esercitare il suo mestiere e la sua perizia.
Nella cura delle malattie rare è naturale parlare di "rete", concetto che non intende solo una concatenazione di percorsi organizzativi, ma l'insieme delle competenze individuali e collettive nei diversi ambiti.
In questo contesto, l'Impegno del management ospedaliero è quello di creare le condizioni organizzative e di predisporre gli strumenti che permettano a più luoghi di cura e a più professionisti di lavorare insieme.
La *mission* è in sostanza favorire un sistema sanitario che sappia sviluppare prevenzione e affrontare le malattie rare anche nell'emergenza.
A questo scopo lo sviluppo di un sistema informativo integrato rappresenta un elemento chiave.

Se quanto già praticato nell'ambito della rete delle malattie rare venisse assorbito in modo esteso nel sistema sanitario generale, registreremmo un progresso immediato e la soluzione di molti problemi, anche di programmazione e sostenibilità economica. Ne troveremmo probabilmente dei nuovi, certo, ma più avanzati.

Sul terreno delle malattie rare infine si incontrano due attori importanti: le famiglie e le Associazioni dei Pazienti.

La semplice osservazione di quanto avvenuto all'Ospedale Niguarda, ha messo in luce l'essenzialità di queste due componenti nel gioco di modifica della qualità e capillarità delle cure offerte, portando alla nascita di nuove forme di cura, più complete e più efficaci.

Il contributo delle Associazioni è stato indispensabile per aiutare a colmare quei gap informativi esistenti tra i professionisti sanitari e i caregiver per:

- mobilitare risorse umane in modo imparagonabile rispetto a qualsiasi deliberazione programmatica di un gestore;
- mettere a fuoco le reali necessità dei pazienti che, raccolte con intelligenza, hanno aiutato a predisporre cure e soluzioni più efficaci, dirette e appropriate.

SI sono in sostanza venute a configurare formule e modalità operative apparentemente inconsuete ma che nel tempo si sono sviluppate sino a diventare standard, come nel caso dell'Unità Spinale, affiancata dal centro "Spazio Vita".

Il management delle malattie rare, in ambito ospedaliero, deve quindi avere come obiettivo l'adozione e la valorizzazione di un processo di integrazione organizzativo-gestionale che non può prescindere dalla conoscenza specialistica come primo dovere, dal lavoro di rete in secondo luogo e dall'empowerment del paziente e della famiglia; la rarità non può essere la ragione per non riuscire a raggiungere il traguardo.

Il centro "Spazio Vita"

Il centro "Spazio Vita" è nato dalla collaborazione delle Associazioni AUS Niguarda Onlus e ASBIN Associazione per la Spina Bifida e l'Idrocefalo Niguarda.

L'obiettivo è quello di sviluppare ed incrementare servizi qualificati e fornire risposte ai bisogni assistenziali dei pazienti con disabilità e delle loro famiglie. L'esperienza ha realizzato un'offerta integrata di servizi di supporto e di accompagnamento nel percorso di transizione dall'ospedale al rientro a casa.

Il Centro, aperto a tutto il Territorio, offre inoltre spazi per molteplici attività e si rivolge, oltre che ai pazienti dell'Unità Spinale dell'Ospedale Niguarda, anche ai bambini e ai ragazzi affetti da malattia rara, come la Spina bifida (m. di Arnold Chiari), e ai loro familiari che nel centro possono usufruire di attività di supporto psicosociale, formative e per il tempo libero difficilmente reperibili sul Territorio. Un esempio sono i laboratori di espressività artistica, di musica, di Pet Therapy, di informatica, di informazione sull'avviamento allo sport, di orticoltura e giardinaggio, di attività ludiche e di accompagnamento allo studio per i ragazzi, di conferenze e proiezioni cinematografiche (grazie alla partnership con Medicinema Italia). Le conoscenze mediche si evolvono e le modalità di cura si evolvono, guardando sempre più non solo alla malattia ma alla persona ed al suo contesto familiare e sociale.

Informazioni

www.ospedaleniguarda.it

Segreteria Spazio Vita Niguarda

Tel: 02 6611.4333

info@spaziovitaniguarda.it

www.spaziovitaniguarda.it

Segreteria AUS Niguarda

Tel: 02 6472.490

segreteria@ausniguarda.it

www.ausniguarda

effetti

MALATTIE RARE

IL NOSTRO IMPEGNO PER COLO**RARE**
IL FUTURO DI OGNI PAZIENTE



Da sempre abbiamo a cuore il futuro dei nostri pazienti.

Il nostro impegno nelle malattie rare ha reso possibile lo sviluppo di soluzioni terapeutiche in diverse aree quali l'endocrinologia, l'ematologia e la neurologia.

La nostra missione è quella di continuare a ricercare soluzioni innovative per il trattamento di altre patologie rare e contribuire a migliorare la vita dei pazienti e delle loro famiglie.

Pfizer

www.pfizer.it