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. 3 ottobre 2017

MR la Rivista

La Rivista delle Malattie Rare

editoriale

Ragione e s/ragione all'epoca di facebook *B. Bembi*

review

Varianti genetiche e diagnosi di malattia di Fabry: un approccio multidisciplinare
W. Borsini

l'opinione

Perché la malattia di Charlie Gard ha fatto il giro del mondo come se fosse una *soap opera*
G. Remuzzi

il caso clinico

La narcolessia-cataplessia
P. Proserpio, F. Teutonico, G. Plazzi, L. Nobili

Il polmone nella neurofibromatosi di tipo I: casi clinici e revisione della letteratura
A. Lombi, F. Pane, G. Paciocco

la pagina dismorfologica

Sindrome di Cornelia de Lange e fenotipi correlati: variabilità clinico-genetica
M. Mariani, A. Cereda, B. Parma, S. Tajé, C. Fossati, R. Panceri, V. Massa, C. Gervasini, P. Ajmone, S. Russo, A. Selicorni

ricerca e innovazione

Mutazioni di *splicing* e alternative terapeutiche: nuove opportunità nella malattia di Pompe
E. Buratti, A. Dardis





SANOFI, SCIENZA PER LA VITA

Trasformare l'innovazione scientifica in soluzioni che migliorano la qualità di vita delle persone. E' il nostro impegno.

Sanofi Genzyme è specializzata in malattie rare, sclerosi multipla, oncologia, immunologia.

SANOFI GENZYME

MR la Rivista
La Rivista delle Malattie Rare

sommario

editoriale

Ragione e s/ragione all'epoca di facebook *B. Bembi* pag. 5

review

Varianti genetiche e diagnosi di Malattia di Fabry: un approccio multidisciplinare *W. Borsini* pag. 6

l'opinione

Perché la malattia di Charlie Gard ha fatto il giro del mondo come se fosse una *soap opera* *G. Remuzzi* pag. 12

il caso clinico

La narcolessia-cataplessia *P. Proserpio, F. Teutonico, G. Plazzi, L. Nobili* pag. 15

Il polmone nella neurofibromatosi di tipo I: casi clinici e revisione della letteratura *A. Lombi, F. Pane, G. Paciocco* pag. 19

la pagina dismorfologica

Sindrome di Cornelia de Lange e fenotipi correlati: variabilità clinico-genetica *M. Mariani, A. Cereda, B. Parma, S. Tajé, C. Fossati, R. Panceri, V. Massa, C. Gervasini, P. Ajmone, S. Russo, A. Selicorni* pag. 25

ricerca e innovazione

Mutazioni di *splicing* e alternative terapeutiche: nuove opportunità nella malattia di Pompe *E. Buratti, A. Dardis* pag. 32

letteratura

A. Sechi pag. 36

dalle reti europee

ERKnet: La Rete Europea delle Malattie Renali Rare *A. Schieppati* pag. 39

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



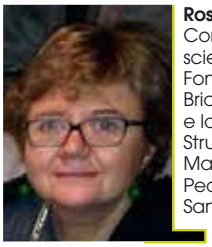
Angelo Selicorni
Direttore Unità Operativa Complessa di Pediatria, ASST-Lariana, Como



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

editoriale

Ragione e s/ragione all'epoca di facebook

Con questo numero finisce il primo anno di vita della nostra rivista. Avevamo paura di non farcela ed invece siamo qua al primo "giro di boa". Il pensiero che ci aveva guidato nel proporre quest'avventura è stato quello di allargare le conoscenze in un campo visto da molti come superspecialistico, trascurabile nel contesto dell'attività quotidiana. In modo scherzoso, ma non troppo, si diceva "proponiamo un Quark delle malattie rare", tenendo un livello divulgativo di alto contenuto scientifico. In sostanza un'attività di servizio, didattica, con l'obiettivo di allargare e far crescere la cultura nel settore.

Molti anni fa un collega importante, primario e cattedratico mi disse "Bruno, teniamoci fuori da questo bluff delle malattie rare, così quando si sgonfierà saremmo stati gli unici puri". Una frase che mi colpì, tanto che ancora la ricordo testuale, per la venatura di presunzione di essere gli unici a capire o avere la verità, gli unici "puri", e per la mancanza di dubbio e curiosità, essenziali in un campo della medicina che era ai suoi inizi.

Sono passati vent'anni da questa frase, ma le contraddizioni tra curiosità, dubbio e verità, ingredienti propri del progresso scientifico, sono sempre più diffuse .

Giuseppe Remuzzi nell'Opinione di questo numero ben descrive il contesto sociale in cui oggi naviga la comunità che opera nelle terapie di frontiera e nella complessità della nuova medicina. Gli arnesi del mestiere che abbiamo per superare i limiti di oggi non possono basarsi solo sul pragmatismo operativo, ma devono confrontarsi con la sperimentazione, il dubbio, l'etica e la sofferenza delle scelte e delle azioni conseguenti.

In contrasto con tutto questo, la tecnologia ha messo a disposizione sistemi comunicativi che veicolano più "verità" che riflessione. "Verità" il più delle volte parcellizzate o individuali, che con fastidio guardano il tempo dell'analisi e dello studio. La velocità e le scorciatoie sono le basi da cui queste "verità" nascono e quello che propugnano. Dal cortocircuito sociale che ne deriva nasce quel regresso del pensiero che i media amplificano e che diventa la vera "verità". E' il tempo di facebook e twitter, carino, se non lo capisci sei perso!

Noi no, non vogliamo frequentare questo tempo. Crediamo ancora nella funzione sociale dello studio, meno costretto del legarsi alla sedia dell'Alfieri, della ragione e dell'etica, spesso sofferte, ma certamente condivise da chi lavora nella medicina "dei limiti". Pretenderemmo che questa società, che tanto investe in termini di preparazione ed economia per i suoi figli, venga guidata da ragione e responsabilità, qualche volta magari anche "illuminate".

Bruno Bembi

review

Walter Borsini
Neurologo c/o Villa Ulivella e Glicini, Firenze e membro del Comitato Scientifico AIAF

Varianti genetiche e diagnosi di Malattia di Fabry: un approccio multidisciplinare

Dedicato a AIAF Onlus, Associazione Italiana Anderson-Fabry Onlus, che ha promosso la discussione su questi argomenti all'interno del proprio comitato scientifico. Questo testo, le cui affermazioni riflettono solo la responsabilità dell'autore, non sarebbe mai potuto uscire senza le discussioni con tanti colleghi neurologi e non, tra cui mi piace ricordare: Ilaria Romani, Alessandro Burlina, Alessandro Salviati, Erica Daina, Amelia Morrone, Daniela Concolino, Guido Conti, Sandro Feriozzi, Renzo Mignani, Rossella Parini, Maurizio Pieroni, Federico Pieruzzi, e altri ancora…

Introduzione

La Malattia di Fabry è dovuta a mutazioni nel gene dell'α-galattosidasi A (gene GLA), localizzato sul cromosoma X, che conducono alla deficienza dell'enzima lisosomiale α-galattosidasi A (AGAL-A). E' caratterizzata dal coinvolgimento di molti organi, come conseguenza dell'accumulo intracellulare diffuso del substrato dell'enzima difettoso, globotriaosilceramide (Gb3) e di altri metaboliti come il liso-Gb3 (globotriaosilsfingosina) (1).

Le anomalie del gene nei pazienti Fabry sono vere e proprie "mutazioni private" (quasi 800 diverse varianti, non tutte patogene). Un chiaro rapporto fenotipo-genotipo non è stato individuato, e spesso si notano importanti differenze anche tra maschi coetanei nel contesto della stessa famiglia.

E' condivisa da molti l'idea che le varie anomalie genetiche si associno, nei maschi, a uno dei due quadri clinici principali, il quadro classico oppure un quadro meno espressivo sul piano clinico, ad esordio più tardivo, definito late-onset o anche atipico (2). Nei soggetti con quadro classico l'attività enzimatica dell'AGAL-A è vicina allo 0, mentre nei soggetti con esordio tardivo c'è un'attività enzimatica residua.

Nei *maschi*, la forma classica della malattia insorge nell'età pediatrica. I sintomi sono spesso misconosciuti fino all'età giovanile-adulta, quando si è già instaurato il danno d'organo. Nei soggetti adulti, tra i 30 e i 40 anni, compaiono complicazioni a carico degli organi vitali, cuore, Sistema Nervoso Centrale e rene.

Nei maschi la forma di malattia atipica, o late-onset assomiglia nel suo corso a quella manifestata dalle femmine (eterozigoti).

Le *femmine* hanno di solito un'attività enzimatica intermedia (in un ampio range di variabilità) associata ad un quadro clinico anch'esso intermedio. Nelle femmine la malattia è meno aggressiva, con esordio in età più matura.

Indispensabile per il clinico, e particolarmente per il neurologo, è l'accurata conoscenza delle manifestazioni, tipiche ed atipiche, della Malattia di Fabry, riassunte in Tabella 1, al fine di effettuare una diagnosi corretta e precoce.

L'analisi dei livelli plasmatici di liso-Gb3, la cui concentrazione rispecchia il coinvolgimento sistemico, è considerata un utile marker per la diagnosi e il follow-up dei pazienti con Malattia di Fabry (3-7) con capacità di distinzione tra i pazienti con

Ai fini di una diagnosi corretta e precoce in ambito neurologico è indispensabile l'accurata conoscenza delle manifestazioni tipiche ed atipiche della Malattia di Fabry

Tab. 1 **La Malattia di Fabry nei maschi (quadri tipici ed atipici) e nelle femmine**

S	Quadro clinico	Alfagala A leucocitaria	Segni precoci caratteristici 	Complicanze d'organo tardive	Decorso, prognosi
M	Classico	assente o minima	almeno 1 sempre presente	assai frequenti e severe, con frequente interessamento renale	prevedibile
M	Atipico	residua	quasi sempre assenti	frequenti, tardive, attennuate, più spesso cardio-cerebrovascolari	poco prevedibile
F	Intermedio	variabile	almeno 1 presente nella metà dei casi	frequenti, tardive, attenuate, più spesso cardio-cerebrovascolari	poco prevedibile

Nei maschi con quadro classico l'attività enzimatica dell'AGAL-A è vicina allo 0, mentre in quelli con esordio tardivo l'attività enzimatica è residua. Le femmine hanno solitamente attività enzimatica e quadro clinico intermedi, malattia meno aggressiva ed esordio più tardivo

forme classiche ed atipiche. Questa breve rassegna delle conoscenze sul coinvolgimento del Sistema Nervoso nella Malattia di Fabry, focalizzando sulle competenze del neurologo nel contesto multidisciplinare, cerca di dare risalto ai seguenti punti:

- la diagnosi clinica è certa (mutazione causale) o incerta (variante genetica non patogena)?
- come diagnosticare le manifestazioni neurologiche della malattia?
- l'indicazione al trattamento si basa su una diagnosi tempestiva e certa?

La diagnosi clinica è certa (mutazione causale) o incerta?

Una diagnosi certa è fondata sulla evidenza clinica e laboratoristica di patogenicità della mutazione come causa della Malattia di Fabry: segni o sintomi caratteristici della malattia nel paziente, chiaro impatto della mutazione sulla sintesi dell'enzima.
E' stata recentemente pubblicata una importante raccomandazione internazionale (8), che cerca di definire i criteri per arrivare ad una diagnosi clinica certa **in persone con variante del gene GLA**. In questi soggetti, il grado di certezza della diagnosi clinica può essere così stabilito:
1. **maschi con attività dell'enzima AGAL-A assente o molto bassa (≤5% misurata nei leucociti)**: la diagnosi è **definita** se si associa ad almeno una delle seguenti tre condizioni:
   a. presenza di un segno/sintomo caratteristico (angiocheratoma, neuropatia dolorosa o cornea verticillata)
   b. un incremento del liso-Gb3 nel plasma
   c. una diagnosi definita in un membro della famiglia
2. **femmine**: la diagnosi è definita, indipendentemente dai livelli di attività dell'AGAL-A, se è presente almeno una delle suddette condizioni (a, b, o c)
3. **in tutti gli altri casi** (ad es., tutti i maschi con attività residua e le femmine che non hanno i requisiti di cui al punto 2) la diagnosi è **incerta** e va definita con la documentazione dell'interessamento d'organo specifico della Malattia di Fabry. Il gold standard in questi casi è la **biopsia** d'organo per documentare l'accumulo patologico dei glicosfingolipidi. Lavori internazionali e italiani recenti (9-12) sono in accordo con queste linee e in particolare propongono algoritmi clinico-bioptici per la documentazione di interessamento d'organo, in quei casi in cui altrimenti la diagnosi di Malattia di Fabry rimarrebbe incerta.

Come diagnosticare le manifestazioni neurologiche della malattia?

Sono due le principali manifestazioni cliniche del coinvolgimento neurologico nella Malattia di Fabry:

- la neuropatia dolorosa (neuropatia da interessamento delle piccole fibre nervose)
- le cosiddette complicanze cerebrovascolari (encefalopatia da interessamento sia del circolo che neuronale diretto).

Secondo le raccomandazioni del panel di esperti (8), **riconoscere il quadro clinico della neuropatia dolorosa può essere condizione che contribuisce alla diagnosi di certezza e anche fattore chiave per una diagnosi precoce in tutti i maschi con attività dell'enzima AGAL-A assente o molto bassa, e in tutte le femmine**. La presenza di neuropatia dolorosa non viene ritenuta utile per una diagnosi di certezza nei maschi con attività enzimatica residua (e quindi con variante del gene GAL di incerto significato).

Dal punto di vista clinico, il dolore neuropatico, espressione della neuropatia delle piccole fibre nervose, è caratteristico della malattia (anche se non specifico).

Esso è spesso misconosciuto e scambiato per un dolore di origine reumatologica o psicogena. Questo accade perché il riconoscimento del carattere neuropatico del dolore non è sempre facile per persone non esperte e può avvenire soltanto sulla base delle caratteristiche del dolore raccontate dal paziente.

Infatti nel caso delle neuropatie delle piccole fibre (e del conseguente dolore neuropatico) l'esame obiettivo è negativo e così anche l'esame elettromiografico-elettroneurografico (EMG/ENG) (13).

In tutte le neuropatie delle piccole fibre, e quindi anche nella neuropatia dolorosa della Malattia di Fabry, la biopsia cutanea per lo studio della innervazione intraepidermica è un'indagine utile per confermare la diagnosi clinica (13-14).

Le complicanze cerebrovascolari della Malattia di Fabry sono ben note e descritte (15-16), facilmente riconoscibili in contesti esperti. Non si tratta tuttavia di un unico quadro, ma di un ventaglio di quadri clinici:

- TIA/stroke recidivanti ad esordio precoce, in ambo i sessi, espressione di infarto lacunare, associati ad encefalopatia microvascolare; non necessariamente c'è correlazione con il danno renale o cardiaco
- forma aggressiva simil-demielinizzante, molto precoce e del tutto indipendente dal danno renale e cardiaco
- embolia cerebrale cardiogena
- ectasia e tortuosità dei grossi vasi del circolo del Willis.

Questi quadri clinici, seppur caratteristici, non sono specifici della Malattia di Fabry, e possono comparire per diverse altre cause. Quando compaiono in un paziente con una variante del gene GLA non implicano necessariamente una diagnosi certa di Malattia di Fabry. Si possono incontrare diverse situazioni:

1. **il paziente, maschio o femmina, con diagnosi definita di Malattia di Fabry secondo la raccomandazione (8), ha avuto uno o più minor stroke, o ha una encefalopatia microvascolare alla risonanza magnetica (RM).**

In questo caso si fa una valutazione del quadro di coinvolgimento del Sistema Nervoso Centrale in un contesto specialistico e, secondo le regole di Good Clinical Practice, si indaga sull'esistenza di altre cause della patologia cerebrale (ad es. seguendo i criteri ASCOD per lo stroke; ASCO-D=A, atherosclerosis; S, small vessel disease; C, cardiac pathology; O, other causes; D, dissection) (17).

Se non emerge alcuna altra causa evidente secondo questi accertamenti, potremo attribuire con ragionevole sicurezza (e fino a prova contraria) l'ictus o l'encefalopatia multifocale del nostro paziente alla Malattia di Fabry.

La compresenza di altre cause come l'ipertensione, una dislipemia o anche certe affezioni cardiache è importante da stabilire per una terapia personalizzata e mirata, ma ovviamente non esclude di per sé che anche la Malattia di Fabry giochi un ruolo nella vasculopatia cerebrale del singolo paziente in osservazione.

2. **il paziente, maschio o femmina, portatore di una variante del gene GLA, ma con diagnosi clinica ancora incerta (8), ha avuto uno o più minor stroke, o ha una encefalopatia microvascolare alla RM.**

In questo caso il neurologo non può validare la diagnosi di Malattia di Fabry sulla base del solo dato del coinvolgimento cerebrovascolare. Si cercherà pertanto di definire la patogenicità della mutazione attraverso il laboratorio, in collaborazione con il genetista, o si prenderanno decisioni diagnostiche (e implicitamente terapeutiche) su base individuale (Fig. 1).

L'indicazione al trattamento si basa su una diagnosi tempestiva e certa?

Una diagnosi tempestiva e certa condiziona l'indicazione alla terapia enzimatica sostitutiva (TES). Alla luce di recenti revisioni (18-21) su efficacia e limiti di tale terapia nell'influenzare il decorso della malattia, si può riassumere la relazione tra diagnosi certa e indicazione alla TES in questi termini:

1. **in soggetti maschi con diagnosi certa e quadro clinico classico,** la TES è indicata presto, anche prima della compromissione d'organo, perché la prognosi è impegnativa e l'inizio precoce del trattamento prima della compromissione d'organo potrebbe essere benefico
2. **in maschi con diagnosi certa e**

quadro clinico laboratoristico atipico e, nelle femmine, dove la prognosi è meno chiara e prevedibile, la TES è indicata su base individuale, in relazione alla evidenza documentata di danno d'organo e al decorso clinico (biopsia, algoritmi clinici per il coinvolgimento cardiaco, renale); controverso è se in questi pazienti sia indicata la TES quando l'unico segno di compromissione d'organo è costituito dalle complicanze cerebrovascolari (8)

3. **in pazienti con variante genica ma diagnosi clinica incerta** resta indicato il follow up presso un Centro multidisciplinare, ma non è indicata la TES.

Inoltre, è sempre più chiaro che alla TES si deve affiancare una presa in carico complessiva del paziente, con l'associazione di **terapie di supporto** per il trattamento del danno prodotto dalla malattia, e quindi per la cardio- e nefropatia oltre che per la malattia cerebrovascolare (trattamento dei fattori di rischio noti, tra cui sopratutto l'ipertensione, antiaggregazione e, se necessario, anticoagulazione) e per il dolore neuropatico (con preferenza per carbamazepina e pregabalin, o per gli analgesici per la componente infiammatoria associata, limitando per quanto possibile l'uso degli oppiacei).

Infine, è ormai imminente l'impiego nella pratica clinica degli **stabilizzatori dell'enzima** (endogeno e/o esogeno), cioè delle cosiddette terapie chaperoniche, da cui ci aspettiamo ulteriori progressi nel trattamento della malattia, o, se non altro, una maggiore comodità di assunzione da parte dei pazienti, visto che si tratta di terapie orali.

Nei maschi con diagnosi certa e quadro clinico classico e nelle femmine la terapia enzimatica sostitutiva è indicata in fase precoce, prima della compromissione d'organo

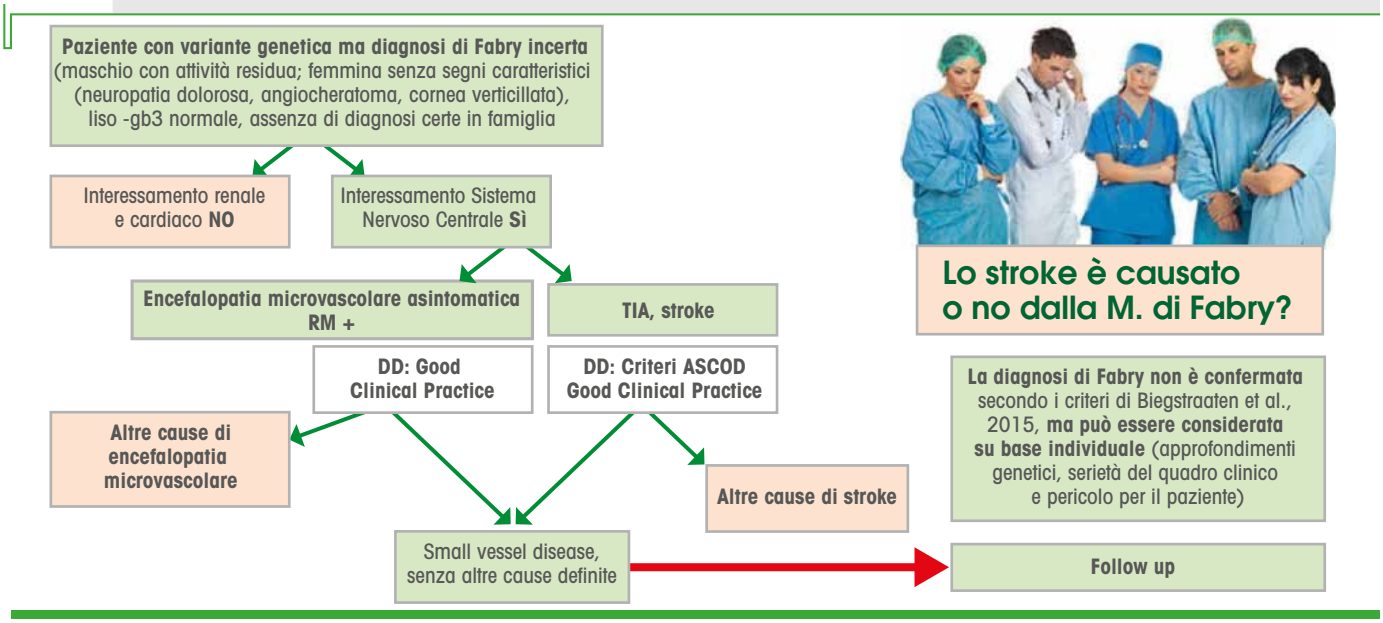
Conclusioni

Le considerazioni riportate in questo articolo riguardano alcuni aspetti della Malattia di Fabry di interesse neurologico: quadri clinici tipici e atipici di malattia, diagnosi clinica certa e incerta, manifestazioni cliniche neurologiche, terapia enzimatica sostitutiva.

La conoscenza dei quadri clinici della Malattia di Fabry nel maschio (tipici ed atipici) e nella femmina riveste un'importanza cruciale per migliorare la tempestività della diagnosi, per arrivare in maniera affidabile ad una diagnosi definita, e di conseguenza per non commettere errori o ritardi nell'indicazione della terapia.

Il neurologo può contribuire all'appropriatezza e alla tempestività della diagnosi clinica di Malattia di Fabry

Fig. 1 **Stroke in un paziente con variante genetica dell'alfagalattosidasi A ma diagnosi clinica di Malattia di Fabry incerta: flow chart diagnostica**

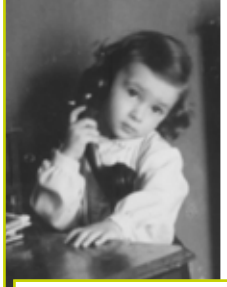


con un corretto riconoscimento della neuropatia dolorosa e delle complicazioni cerebrovascolari.
La TES ha dimostrato di avere un impatto positivo su vari aspetti del decorso naturale della Malattia di Fabry, per quanto molte variabili entrino in gioco (tra queste il ritardo marcato tra inizio dei processi patologici e inizio della TES). Diversi lavori recenti, comunque, ne descrivono alcuni limiti, nelle varie categorie di pazienti, in relazione alla comparsa di eventi clinici significativi anche in corso di trattamento.
Sono state pubblicate, infine, raccomandazioni di management clinico-terapeutico della Malattia di Fabry, redatte da panel di esperti, che evidenziano come, se è vero che ci sono pochi dati di Evidence-based Medicine di supporto, tuttavia si possa affrontare il percorso diagnostico e terapeutico in maniera critica, in un contesto multidisciplinare e verificarlo nel tempo con accurato follow up.
Un risultato migliore potrebbe essere raggiunto con diagnosi e terapie più tempestive e appropriate, ritagliate sul singolo paziente, anche tenendo conto della molteplicità di fattori influenzanti il decorso (molti non correlati direttamente alla Malattia di Fabry). Questi concetti potrebbero essere oggetto di attenzione e verifica nella pratica clinica e anche in studi di follow up terapeutico, condotti a livello nazionale, nell'ambito della Rete nazionale malattie rare.

Bibliografia

1 Desnick RJ, Ioannou YA, C.M. Eng 2001. Fabry disease: α-galactosidase A A deficiency. In: C. Scriver, A. Beaudet, W. Sly, D. Valle, (Eds), The metabolic and molecular bases of inherited disease. New York, 7th ed. McGraw-Hill. pp 3733.
2. Hollak CE, Weinreb NJ. The attenuated/late onset lysosomal storage disorders: Therapeutic goals and indications for enzyme replacement treatment in Gaucher and Fabry disease.Best Pract Res Clin Endocrinol Metab. 2015 Mar;29(2):205-18. Epub 2014 Aug 27.
3. Niemann M, Rolfs A, Störk S, et al. Gene mutations versus clinically relevant phenotypes: lyso-Gb3 defines Fabry disease. Circ Cardiovasc Genet. 2014 Feb;7(1):8-16. Epub 2014 Jan 6.
4. Nowak A, Mechtler TP, Desnick RJ, et al. Plasma LysoGb3: A usefulbiomarker for the diagnosis and treatment of Fabry disease heterozygotes. MolGenet Metab. 2016 Oct 19. pii: S1096-7192(16)30325-0. doi:10.1016/j.ymgme.2016.10.006. (Epub ahead of print) PubMed PMID: 27773586.
5. Niemann M, Rolfs A, Störk S, et al. Gene mutations versus clinically relevant phenotypes: lyso-Gb3defines Fabry disease. Circ Cardiovasc Genet. 2014 Feb;7(1):8-16. doi:10.1161/CIRCGENETICS.113.000249.
6. Auray-Blais C, Lavoie P, Boutin M, et al. Biomarkers associated with clinical manifestations in Fabry disease patients witha late-onset cardiac variant mutation. Clin Chim Acta. 2017 Jan 18;466:185-193.doi: 10.1016/j.cca.2017.01.018. (Epub ahead of print).
7. Arends M, Wanner C, Hughes D, et al. Characterization ofClassical and Nonclassical Fabry Disease: A Multicenter Study. J Am Soc Nephrol. 2016 Dec 15. pii: ASN.2016090964. (Epub ahead of print).
8. Biegstraaten M, Arngrímsson R, Barbey F, et al. Recommendations for initiation and cessation of enzyme replacement therapy in patients with Fabry disease: the European Fabry Working Group consensus document.Orphanet J Rare Dis. 2015 Mar 27; PMID: 25885911.
9. Smid BE, van der Tol L, Cecchi F, et al. Uncertain diagnosis of Fabry disease: consensus recommendation on diagnosis in adults with left ventricular hypertrophy and genetic variants of unknown significance. Int J Cardiol. 2014 Dec 15;177(2):400-8. Epub 2014 Sep 20. Review.
10. van der Tol L, Svarstad E, Ortiz A, et al. Chronic kidney disease and an uncertain diagnosis of Fabry disease: approach to a correct diagnosis. Mol Genet Metab. 2015 Feb;114(2):242-7. Epub 2014 Aug 20.
11. Mignani R, Gallieni M, Feriozzi S, et al. (The nephropathy in the Anderson-Fabry disease: new recommendations for the diagnosis, the follow-up and the therapy). G Ital Nefrol. 2015 Jul-Aug;32(4). Italian.
12. Pieruzzi F, Pieroni M, Zachara E, et al. (Heart involvement in Anderson-Fabry disease: Italian recommendations for diagnostic, follow-up and therapeutic management).G Ital Cardiol (Rome). 2015 Nov;16(11):630-8. Review. Italian.
13. Politei JM, Bouhassira D, Germain DP, et al. Pain in FabryDisease: Practical Recommendations for Diagnosis and Treatment. CNS NeurosciTher. 2016 Jul;22(7):568-76. doi: 10.1111/cns.12542.
14. Liquori, Di Stasi V, Bugiardini E, et al. Small fiber neuropathy in female patients with fabry disease. Muscle Nerve. 2010 Mar;41(3):409-12.
15. Kolodny E, Fellgiebel A, Hilz MJ, et al. Cerebrovascular Involvement in Fabry DiseaseCurrent Status of Knowledge Stroke. 2015;46:00-00.
16. Buechner S, Moretti M, Burlina AP, et al. Central nervous system involvement in Anderson-Fabry disease: a clinical and MRI retrospective study. J Neurol Neurosurg Psychiatry. 2008 Nov;79(11):1249-54.
17. Amarenco P, Bogousslavsky J, Caplan LR, et al. The ASCOD phenotyping of ischemic stroke (Updated ASCO Phenotyping). Cerebrovasc Dis.2013;36(1):1-5. doi: 10.1159/000352050.
18. Schiffmann R, Hughes DA, Linthorst GE, et al; Conference Participants. Screening, diagnosis, and management ofpatients with Fabry disease: conclusions from a "Kidney Disease: Improving GlobalOutcomes" (KDIGO) Controversies Conference. Kidney Int. 2017 Feb;91(2):284-293.doi: 10.1016/j.kint.2016.10.004.
19. Hopkin RJ, Cabrera G, Charrow J, et al. Risk factors for severe clinicalevents in male and female patients with Fabry disease treated with agalsidasebeta enzyme replacement therapy: Data from the Fabry Registry. Mol Genet Metab.2016 Sep;119(1-2):151-9. doi: 10.1016/j.ymgme.2016.06.007.
20. El Dib R, Gomaa H, Carvalho RP, et al. Enzyme replacement therapy for Anderson-Fabry disease. Cochrane Database SystRev. 2016 Jul 25;7:CD006663. doi: 10.1002/14651858.CD006663.pub4. Review.
21. Ortiz A, Abiose A, Bichet DG, et al. Time to treatment benefit for adultpatients with Fabry disease receiving agalsidase β: data from the Fabry Registry.J Med Genet. 2016 Jul;53(7):495-502. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103486.


To those who say "impossible, impractical, unrealistic," we say:
CHALLENGE ACCEPTED
We are relentless in our pursuit of new treatments. Because patients shouldn't have to wait for hope.
www.alnylam.com
© 2017 Alnylam Pharmaceuticals, Inc.
Alnylam
PHARMACEUTICALS
CHALLENGE ACCEPTED



Giuseppe Remuzzi
Direttore, Unità di Nefrologia e Dialisi, Ospedale di Bergamo; Coordinatore delle Ricerche, IRCCS-Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, Bergamo; Professore di Nefrologia, Università di Milano

Perché la malattia di Charlie Gard ha fatto il giro del mondo come se fosse una *soap opera*

I riflettori si sono spenti sulla vicenda del piccolo Charlie Gard, vissuto meno di un anno per via di una rarissima malattia mitocondriale. Casi come il suo non sono purtroppo unici - anche dove i sistemi sanitari sono più avanzati - e lo sanno bene i medici, gli infermieri, le mamme e i papà che combattono al fianco di bimbi con malattie senza ancora una cura.
Sanno che nonostante vi siano Ospedali che mettono a disposizione ogni mezzo, di gravi malattie, per fortuna molto rare, si può ancora morire. Per alcune, ed è il caso proprio delle malattie mitocondriali, sono stati raggiunti risultati incoraggianti e si intravedono possibilità di arrivare ad una terapia.
A queste speranze si sono aggrappati i genitori di Charlie: "Una cura sperimentale ci sarebbe, mai studiata davvero nell'uomo d'accordo ma nei topi sì e funziona. E allora perché non provare?"
Il perché hanno cercato di spiegarlo i medici del Great Ormond Street Hospital e tutti gli esperti che hanno esaminato attentamente il caso si sono trovati d'accordo. I genitori non hanno voluto sentire ragioni, ma come biasimarli? In molti al loro posto avrebbero reagito allo stesso modo.
Per decidere di interrompere i complessi trattamenti di supporto si è arrivati in tribunale, ma quelle che i giudici hanno scritto non sono sentenze di condanna. Bisogna leggerle per rendersi conto di tutti gli sforzi compiuti, per sentire il peso delle difficili decisioni che i medici hanno dovuto prendere e la comprensione per il dramma dei genitori.
E allora perché si è arrivati ad un "caso" internazionale?
Come si è potuto pensare che i medici di uno tra i migliori Centri al mondo abbiano deciso di far morire un bambino senza aver tentato tutte le vie possibili, anche le meno esplorate? Che si dovesse invece provare un trattamento ad ogni costo, contro ogni ragionevolezza?
Per la gente comune, i non esperti, si possono trovare certo delle attenuanti.
È difficile far capire come, indipendentemente dalla causa che le ha indotte, alcune lesioni neu-

La sentenza che invita i medici con il pianto nel cuore a sospendere i trattamenti è fatta di pagine appassionate, piene di cultura medica e giuridica, ma anche di compassione e buon senso



rologiche siano irreversibili e come vi siano strumenti accurati per definire le possibilità di ripresa. Ancora più complicato spiegare come i modelli animali siano indispensabili per capire e curare le malattie, ma una cosa è intervenire su un topo geneticamente predisposto per prevenire l'insorgenza di un danno, altro è curare un bambino che arriva in Ospedale perché la malattia si è già sviluppata in tutta la sua gravità.

Di fronte a un quadro così drammatico cosa hanno fatto i pediatri di Londra? Il possibile e l'impossibile: hanno nutrito Charlie, lo hanno idratato e fatto respirare artificialmente e si sono confrontati con i migliori nel mondo. Hanno preso in considerazione anche la "terapia nucleosidica", una cura a base di deossicitidina e deossitimidina, messa a punto da biologi della Columbia University di New York (1, 2).

Queste sostanze si somministrano per bocca e allungano la vita – dei topi - di qualche settimana. Potrebbero funzionare nell'uomo? Non abbiamo nessuna idea e nessuno, nemmeno chi ha proposto quella cura, pensava che il piccolo potesse prenderne vantaggio.

A malincuore, dopo aver valutato ogni possibilità, i medici si sono resi conto che insistere nelle terapie di supporto avrebbe solo prolungato l'agonia di Charlie. Fare il medico è rianimare, certo, ma anche saper sospendere le cure quando sono inutili, fa parte delle nostre responsabilità a tutela di chi non ha più speranza.

E il peso di queste decisioni si avverte nella sentenza del giudice dell'Alta Corte di Inghilterra e Galles che invita i medici "with the heaviest of hearts" a sospendere i trattamenti. Trenta pagine appassionate, piene di cultura medica e giuridica, ma anche di compassione e buon senso, insomma un riferimento imprescindibile per chi volesse approfondire questa materia (3).

Ma chi è intervenuto facendosi paladino degli interessi dei malati, chi segue questi pazienti e si impegna nella ricerca è chiamato a riflettere, perché non si ripetano gli stessi errori. Per settimane, alcuni media e parte dell'opinione pubblica hanno trasformato la vita di Charlie in una soap opera, e sconvolto quella di molte famiglie senza rendersi conto delle conseguenze.

Per capire si può ascoltare anche solo qualche



frase dalla voce dei medici e degli infermieri che lavorano nell'unità di terapia intensiva del Great Ormond Street Hospital. Alcuni di loro hanno ricevuto minacce di morte.

"Non volevamo perdere Charlie e non volevamo che la sua mamma e il suo papà rimanessero senza di lui, ma è nostro dovere, nostro obbligo legale

Quando il medico ritiene che prolungare le manovre rianimatorie in chi non ha più speranza vada contro l'interesse del paziente ha il dovere di dire no



e morale, saper dire basta".

"Abbiamo lavorato al meglio delle nostre possibilità, abbiamo provato tutto, abbiamo combattuto duramente per questa famiglia, e sappiamo che non si sarebbe potuto salvare in nessun posto al mondo, era evidente a tutti quelli che lo hanno trattato".

"Ad un certo punto abbiamo continuato a dargli dei farmaci e dei fluidi, abbiamo fatto tutto quello che potevamo, anche se pensavamo che dovesse essere lasciato andare nelle braccia dei suoi genitori, in pace, amato".

"Non abbiamo fatto questo per Charlie. Non lo abbiamo fatto nemmeno per la sua mamma e il suo papà" *spiegano i medici su* The Guardian *in una lettera scritta dopo che quella drammatica vicenda si era chiusa nell'unico modo possibile (4). E allora per chi l'hanno fatto? Per Donald Trump e molti - media e opinione pubblica - che improvvisamente sapevano di più sulle malattie mitocondriali dei loro tanti consulenti più esperti (e dire che i più bravi al mondo nella genetica delle malattie mitocondriali lavorano proprio in Inghilterra e a Newcastle). E ancora:* "Lo abbiamo fatto per i guerrieri della tastiera che pensavano fosse opportuno scrivere "malvagio" del personale sanitario, anche se eravamo ancora lì accanto a Charlie, curandolo per il meglio possibile, come abbiamo sempre fatto. Abbiamo continuato a farlo anche se ogni fibra del nostro essere ci diceva che era sbagliato, che avremmo dovuto smettere. Ma non abbiamo potuto. …Non è stato utile a nessuno", *concludono.*

Ecco perché ai genitori non è stato permesso di portare Charlie negli USA. E agli altri genitori che si trovano nella stessa situazione dobbiamo spiegare che con la ricerca, ogni giorno, ci si impegna per capire e curare le malattie. Un impegno lungo, gravoso che deve essere costante, ma non ci sono scorciatoie. La certezza di aver fatto per il proprio bambino tutto il possibile può essere una magra consolazione, ma a volte è l'unica che possiamo onestamente dare. Tanti dei successi recenti nella cura delle malattie rare si devono proprio agli stimoli formidabili che ci arrivano quasi ogni giorno dagli ammalati, ma dietro c'è sempre tantissimo lavoro. Ai genitori di un bambino che muore non può essere lasciato il dubbio che avrebbero potuto fare di più gridando su facebook o incatenandosi a qualche cancello. Sappiamo che non è così che si fanno progressi in medicina ed abbiamo il dovere di spiegarlo.

Bibliografia

1. Garone C, Garcia-Diaz B, Emmanuele V, et al. Deoxypyrimidine monophosphate bypass therapy for thymidine kinase 2 deficiency. EMBO Mol Med. 2014 Aug;6(8):1016-27.
2. Lopez-Gomez C, Levy RJ, Sanchez-Quintero MJ, et al. Deoxycytidine and Deoxythymidine Treatment for Thymidine Kinase 2 Deficiency. Ann Neurol. 2017 May;81(5):641-652.
3. High Court decision on the British and Irish Legal Information Institute website. http://www.bailii.org/ew/cases/EWHC/Fam/2017/972.html
4. The Guardian. It was our agonising job as Charlie Gard's care team to say: enough.Friday 4 August 2017

caso clinico

Paola Proserpio[1], Federica Teutonico[2], Giuseppe Plazzi[3], Lino Nobili[1]
[1]Centro di Medicina del Sonno, Centro di Chirurgia dell'Epilessia, Ospedale Niguarda, Milano.
[2]Servizio di Neuropsichiatria infantile, Ospedale Niguarda, Milano. [3]Dipartimento di Scienze Biomediche e Neuromotorie, Ospedale Bellaria, Bologna

La narcolessia-cataplessia

Un bambino di 9 anni viene ricoverato in Neuropsichiatra Infantile per "episodi incoercibili di sonnolenza diurna" insorti da circa un mese e condizionanti astenia, ritiro sociale ed evitamento delle attività ludiche.
Il bambino non presenta familiarità per patologie neuropsichiatriche e da circa un anno sta eseguendo approfondimenti per una sospetta pubertà precoce. Si segnala inoltre un incremento ponderale di 6 kg in un mese. Lo sviluppo psicomotorio e il rendimento scolastico appaiono nella norma. All'esame obiettivo si rilevano buone condizioni generali, con riscontro di peluria pubica e ascellare. L'esame neuropsicologico mostra un'obiettività neurologica nella norma e un quadro cognitivo adeguato per l'età; si segnala una facies ipomimica.
Il bambino viene quindi sottoposto a risonanza magnetica cerebrale ed elettroencefalogramma (nella norma), per escludere una forma di epilessia e ad una valutazione da parte del neurologo esperto in Medicina del Sonno. Ad una più approfondita anamnesi ipnologica, si evince che la sonnolenza spesso evolve in veri e propri addormentamenti improvvisi ed è presente quotidianamente, sia in situazioni monotone (guardando la TV, viaggiando in auto), sia in situazioni attive (durante le lezioni o il gioco). Tale disturbo spesso compare già la mattina al risveglio e ultimamente condiziona significativamente le performance scolastiche. Le maestre, infatti, hanno notato cali dell'attenzione o veri addormentamenti durante le lezioni. I genitori segnalano inoltre la comparsa di alterazioni del comportamento con irritabilità e deflessione del tono dell'umore. Interrogando inoltre il bimbo e i familiari, si riscontra che il paziente ha presentato recentemente brevi episodi in cui di fronte ad un'emozione positiva particolarmente intensa ha avvertito cedimenti soprattutto a carico della muscolatura del capo o del volto.

Sintomi come sonnolenza diurna quotidiana e cedimenti dopo emozioni intense supportano la diagnosi in un bambino di 9 anni

Nel sospetto di un quadro di Narcolessia con Cataplessia, il paziente è stato sottoposto ad una Polisonnografia e successivo Test delle Latenze Multiple dell'addormentamento (MSLT) che hanno permesso di confermare la diagnosi. Ulteriori conferme diagnostiche sono state l'assenza dell'ipocretina liquorale e la presenza dell'aplotipo HLA-DQB1*06:02. L'introduzione della terapia con sodio oxibato ha determinato, nel giro di 20 giorni, un significativo miglioramento della sonnolenza e una completa scomparsa degli episodi cataplettici.

Narcolessia

La narcolessia è un disturbo del sonno riconosciuto tra le malattie rare, la cui reale prevalenza, soprattutto nella popolazione pediatrica, appare scono-

Tab. 1 **Principali cause di eccessiva sonnolenza diurna**

Patologia	Caratteristiche distintive
Deprivazione cronica di sonno	La sonnolenza si riduce aumentando il tempo di sonno (week-end, vacanze)
Sindrome delle apnee ostruttive	Russamento, pause respiratorie durante il sonno, risvegli con fame d'aria, ipertrofia adenotonsillare, obesità
Narcolessia	Cataplessia, paralisi del sonno, allucinazioni, sonno frammentato
Disturbi del ritmo circadiano (es. ritardo di fase)	Paziente con sonnolenza mattutina ma completamente sveglio e attivo la sera
Ipersonnia idiopatica	Tempo totale di sonno aumentato, lunghi sonnellini durante il giorno, difficoltà a svegliarsi
Farmaci	Ipnotici, sedativi, oppiacei, ansiolitici, neurolettici, antidepressivi, antiepilettici, antistaminici, …
Depressione	Aumentato tempo a letto ma assenza di sonnolenza oggettiva (documentata con gli esami strumentali)
Altre patologie	Ipotiroidismo, Sindrome di Prader-Willi, malattie neuromuscolari (distrofia miotonica), disordini del movimento, epilessia

Dal punto di vista clinico la malattia è caratterizzata da sonnolenza severa, alterazioni del sonno, allucinazioni e cataplessia, quest'ultima contraddistinta da atonia muscolare dopo intense emozioni positive, con coscienza integra

sciuta (1). La diagnosi di tale patologia risulta infatti difficoltosa per i medici non esperti (Tab. 1).
Per tale motivo, soprattutto in passato, la diagnosi di malattia poteva avvenire anche 5-10 anni dopo l'esordio dei sintomi. L'età di insorgenza è compresa tra i 10 e i 50 anni, con una distribuzione bimodale e due picchi di incidenza intorno ai 15 e 36 anni (2).

Clinicamente, si riconosce una "tetrade sintomatologica classica", caratterizzata da sonnolenza, cataplessia, allucinazioni ipnagogiche e/o ipnopompiche e paralisi del sonno (1,3).
Solitamente la **sonnolenza** ha un esordio improvviso (anche se possono verificarsi casi con graduale ingravescenza) e risulta particolarmente severa, determinando frequentemente difficoltà a mantenere la vigilanza anche nelle attività che richiedono più attenzione.
Al contrario della sonnolenza che accompagna altri disturbi del sonno come le apnee notturne,

Fig. 1 **Registrazione di un episodio cataplettico nel laboratorio di Video-Polisonnografia**



Viene mostrato un filmato divertente, il paziente presenta una fragorosa risata immediatamente seguita da caduta a terra con completa perdita del tono muscolare.

La sonnolenza è spesso molto intensa con colpi di sonno improvvisi che occorrono anche in situazioni attive

Tab. 2 **Valutazione del paziente con eccessiva sonnolenza diurna**

Anamnesi	**Anamnesi ipnologica**
	• Tempo totale di sonno durante le 24 ore (modificazioni nel week-end/vacanze) • Modalità e tempi di addormentamento • Sintomi/segni sonno-relati (russamento, pause respiratorie, movimenti periodici degli arti inferiori, incubi, movimenti complessi in sonno, numero e durata di eventuali risvegli) • Modalità e tempi di risveglio • Sonnellino quotidiano • Caratteristiche della sonnolenza (es. frequenza, intensità, situazioni in cui si verifica) • Colpi di sonno • Sintomi diurni associati (difficoltà di concentrazione, comportamenti automatici…)
	Anamnesi patologica
	• Patologie cromosomiche (Trisomia 21, Sindrome di Prader-Willi) • Patologie neuromuscolari • Epilessia • Patologie psichiatriche (autismo, ADHD, depressione) • Altre patologie internistiche (asma, rinite allergica, reflusso gastroesofageo, diabete) • Farmaci
	Anamnesi sociale e familiare
	• Uso di droghe o alcool • Familiarità per disturbi del sonno (narcolessia, sindrome delle gambe senza riposo,..)
Esame obiettivo	**Esame obiettivo generale e neurologico, considerando in particolare i seguenti aspetti**
	• Parametri antropometrici (peso, altezza, indice di massa corporea; eventuali modificazioni repentine) • Presenza di anomalie cranio-facciali • "Facies cataplettica" (amimia, protrusioni linguali, grimaces) • Esame obiettivo delle alte vie aeree (Mallampati, ipertrofia adenotonsillare,…)
Indagini	**Esami ematochimici (sideremia, funzionalità tiroidea, tipizzazione HLA-ricerca dell'aplotipo DQB1*0602-, strumentali test tossicologici)**
	• Diario del sonno o actigrafia • Polisonnografia • Test delle latenze multiple dell'addormentamento • Dosaggio ipocretina nel liquido cefalorachidiano (opzionale)

Il trattamento comprende un approccio comportamentale e farmacologico

la sonnolenza della narcolessia si risolve solitamente con un sonnellino di breve durata, salvo poi ripresentarsi dopo 1-2 ore.
La narcolessia è, inoltre, caratterizzata da una alterata regolazione del sonno REM. Il sonno REM è quella fase del sonno che compare solitamente almeno 70-90 minuti dall'addormentamento e che si caratterizza per la presenza di sogni "strutturati", atonia muscolare e movimenti oculari rapidi. La comparsa di brevi episodi di sonno REM durante la veglia o durante le fasi di transizione con il sonno, rende ragione degli altri sintomi classici della narcolessia, il più eclatante dei quali è rappresentato dalla **cataplessia**. Essa consiste in episodi scatenati da improvvise ed intense emozioni positive (es. risata) o, meno frequentemente, negative (pianto, rabbia) e caratterizzati da un'atonia muscolare, globale o parcellare (interessante i muscoli degli arti, del volto o della fonazione; talvolta anche in maniera unilaterale), mentre la coscienza risulta integra (Fig. 1).
Solitamente tali episodi hanno una durata di po-

chi secondi ma, soprattutto nei bambini, possono verificarsi lunghi periodi di riduzione del tono muscolare, condizionanti andatura instabile e/o movimenti periorali (grimaces o protruzioni linguali), che possono essere erroneamente interpretati come disordini del movimento (4).

Le **paralisi del sonno** possono comparire all'addormentamento o al risveglio e consistono nell'incapacità di svolgere qualsiasi attività motoria volontaria, nonostante la coscienza sia preservata.

Le **allucinazioni** si distinguono in "ipnagogiche" (all'addormentamento) o "ipnopompiche" (al risveglio) e sono più frequentemente visive, spesso terrifiche o bizzarre.

Il sonno del narcolettico risulta spesso frammentato e si possono associare altri disturbi del sonno, come le apnee notturne, i movimenti periodici a carico degli arti inferiori o le parasonnie. Frequentemente in età pediatrica può essere presente un significativo incremento ponderale, soprattutto all'esordio della patologia, ed un'associazione con altre patologie endocrinologiche, come la pubertà precoce (5). Infine, spesso si documenta una deflessione del tono dell'umore o una franca depressione.

La diagnosi di narcolessia si basa innanzitutto su una approfondita raccolta clinica (6) (Tab. 2).

Per confermare la diagnosi, tuttavia, occorre eseguire una polisonnografia (per escludere altri disturbi del sonno) e il test delle latenze multiple dell'addormentamento (MSLT) (7). Tale esame serve a misurare il tempo di addormentamento, in un ambiente ad esso favorevole; consiste in 5 prove della durata di 20 minuti, eseguite ogni 2 ore.

Oltre a presentare una breve latenza di addormentamento, il paziente affetto da narcolessia solitamente si addormenta in sonno REM (SOREMP) durante alcune prove. L'esame risulta positivo se la latenza media dell'addormentamento è inferiore a 8 minuti e sono presenti almeno 2 SOREMP.

La narcolessia è causata da una perdita dei neuroni che producono orexina, un neuropeptide fondamentale nel mantenimento della veglia e nella regolazione del sonno REM (8). Il meccanismo tramite il quale avvenga la distruzione dei neuroni orexinergici non è ancora del tutto chiaro. L'associazione con particolari aplotipi di HLA (HLA-DQB1*06:02) e la comparsa di alcuni casi in stretta associazione temporale con particolari infezioni (es. Streptococco o virus H1N1) o con vaccinazioni (Pandemrix), hanno fatto ipotizzare che si tratti di un processo autoimmune (9).

Il trattamento della narcolessia comprende un approccio comportamentale e farmacologico (6,10). Una corretta igiene del sonno e brevi sonnellini programmati durante il giorno possono significativamente migliorare la sonnolenza. Attualmente esistono solo trattamenti farmacologici sintomatici. I farmaci disponibili in Italia per i pazienti maggiorenni sono modafinil (100-400 mg/die), che agisce principalmente sulla sonnolenza e sodio oxibato (4,5-9 g/notte), che presenta una dimostrata efficacia sia sulla sonnolenza che sulla cataplessia. L'utilizzo di tali farmaci in età pediatrica può avvenire solo off label.

Da pochi mesi è stato introdotto in Italia anche pitolisant, agonista inverso istaminergico, che sembra agire su entrambi tali sintomi.

Bibliografia

1. Scammell TE. Narcolepsy. N Engl J Med. 2015;373:2654-62.
2. Thorpy MJ, Krieger AC. Delayed diagnosis of narcolepsy: characterization and impact. Sleep Med 2014; 15: 502-7.
3. Sturzenegger C, Bassetti CL. The clinical spectrum of narcolepsy with cataplexy: a reappraisal. J Sleep Res 2004;13:395–406.
4. Plazzi G, Pizza F, Palaia V, et al. Complex movement disorders at disease onset in childhood narcolepsy with cataplexy. Brain 2011; 134: 3477-89.
5. Poli F, Pizza F, Mignot E, et al. High prevalence of precocious puberty and obesity in childhood narcolepsy with cataplexy. Sleep. 2013 Feb 1;36(2):175-81.
6. Nevsimalova S. The diagnosis and treatment of pediatric narcolepsy. Curr Neurol Neurosci Rep. 2014 Aug;14:469.
7. Goldbart A, Peppard P, Finn L, et al. Narcolepsy and predictors of positive MSLTs in the Wisconsin Sleep Cohort. Sleep 2014; 37: 1043-51.
8. Mignot EJ. History of narcolepsy at Stanford University. Immunol Res. 2014 May;58:315-39.
9. Mahlios J, De la Herrán-Arita AK, Mignot E. The autoimmune basis of narcolepsy. Curr Opin Neurobiol 2013; 23: 767-73.
10. Mignot EJ. A practical guide to the therapy of narcolepsy and hypersomnia syndromes. Neurotherapeutics 2012; 9: 739-52.

Andrea Lombi, Federico Pane, Giuseppe Paciocco
U.O. Clinica Pneumologica, Università degli Studi "Milano Bicocca" Ospedale "S.Gerardo" - Monza

Il polmone nella neurofibromatosi di tipo I: casi clinici e revisione della letteratura

La neurofibromatosi di tipo 1 (NF-1) (nota anche come malattia di Von Recklinghausen) è una patologia geneticamente determinata, con modalità di trasmissione mendeliana autosomica dominante a penetranza completa ed un'incidenza annua di circa 1:3500 persone nel mondo (1). La patologia è legata alla mutazione del gene NF-1, locus 17q11.2, il quale codifica per una proteina (neurofibromina) che è espressa in numerosi sistemi, apparati e tessuti, tra cui sistema nervoso centrale, cute, polmoni e reni (2). Le manifestazioni cliniche principali comprendono macchie cutanee color caffelatte, efelidi in sede ascellare ed inguinale, lesioni maculari iperpigmentate della cute, amartomi dell'iride (noduli di Lisch), tumori a carico del tessuto nervoso come gliomi del nervo ottico e neurofibromi, anomalie corporee o ossee, anomalie neurologiche con possibili deficit dell'apprendimento (3). La diagnosi è basata principalmente sulla presenza dei criteri clinici sopra descritti mentre il test genetico si rende utile qualora non sia soddisfatta la clinica.
La prognosi di questi pazienti (pz) è mediamente ridotta rispetto alla popolazione generale per la maggiore incidenza di neoplasie, soprattutto a livello del sistema nervoso centrale. L'interessamento parenchimale interstiziale diffuso (IPID) polmonare e l'ipertensione polmonare (IP) nella NF-1 sono due rare complicanze e sono entrambe, singolarmente o in combinazione, associate ad un significativo peggioramento della prognosi (4). Anche se precocemente diagnosticate ed eventualmente trattate, la risposta alle attuali terapie risulta scarsa se non nulla, mentre il trapianto polmonare è ancora un argomento oggetto di dibattito, visto l'aumentato rischio di sviluppare neoplasie (4).
Nonostante la rarità, verranno descritti 3 casi clinici di NF-1 con interessamento polmonare arrivati alla nostra attenzione e verrà presentata una revisione della letteratura scientifica attualmente presente sul tema.

Caso clinico 1

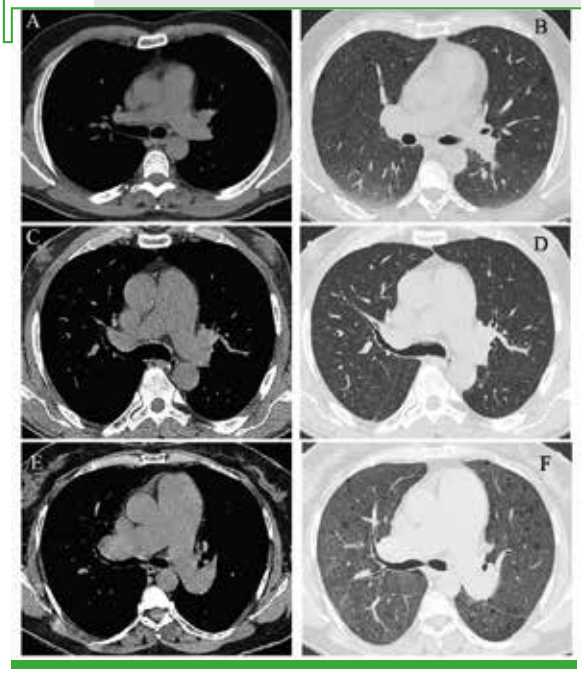
Pz di 49 anni, fumatore attivo (circa 20 pacchi/anno (p/y)), non esposizioni a sostanze pneumotossiche, affetto da NF-1 con diagnosi clinica e psoriasi. Da circa 1 anno lamentava comparsa di dispnea per sforzi moderati (WHO II) e tosse stizzosa, per cui effettuava accertamenti radiologici mirati. Alla TC ad alta risoluzione del torace (HRCT) si evidenziava un quadro di IPID caratterizzato da un diffuso aumento di densità del parenchima tipo "vetro smeriglio" diffuso, associato ad enfisema

La NF-1 è multisistemica, con comparsa età-correlata di vari segni e sintomi; per la variabilità intra e interfamiliare e per l'evolutività negli anni presenta molte complicanze, anche molto severe ed invalidanti

centrolobulare e parasettale e piccole cisti lungo le diramazioni arteriose e venose polmonari. Non dilatazione del tronco dell'arteria polmonare (Fig. 1 A-B).
Per la sintomatologia dispnoica effettuava una valutazione funzionale respiratoria: FVC 132%, FEV1 135%, IT 78, TLC 120%, DLco 71%, test del cammino percorsi 480 metri con SaO2 iniziale 98% e desaturazione fino a 93% durante il test.
Eseguiva poi una fibrobroncoscopia con un lavaggio bronchiolo-alveolare (BAL). All'esame citologico su BAL erano presenti macrofagi alveolari 91% (di cui 20% con pigmento emosiderinico), neutrofili 8%, linfociti 1%, eosinofili assenti. Veniva eseguito esame ecocardiografico colordoppler transtoracico (ECO-TT): camere cardiache destre nella norma, diametro telediastolico del ventricolo dx (DTDVDx) 38 mm, TAPSE 22 mm, FE ventricolo sn. 55%, lieve insufficienza tricuspidalica con pressione sistolica in arteria polmonare (PAPs) di 38mmHg, vena cava non dilatata e comprimibile.
Considerati i dati al momento presenti, si concludeva per IPID in corso di NF-1 con aspetti fumo-correlati (enfisema centrolobulare e parasettale), senza significativo coinvolgimento del circolo vascolare polmonare.
Si effettuava "counseling" antifumo, con parziale riduzione del numero di sigarette quotidiane. In considerazione del quadro funzionale e cardiaco, non si introduceva nessuna terapia immunosoppressiva per l'IPID. Il pz è in attuale follow-up clinico, funzionale e radiologico.

Interessamento parenchimale interstiziale diffuso e ipertensione polmonare si possono presentare isolati o più di rado associati nello stesso paziente

Fig. 1 **Tagli HRCT con finestra mediastinica (a sn) e finestra parenchimale (a dx) dei 3 casi descritti**



Caso clinico 2

Pz di 75 anni, non fumatore, ex-cuoco, affetto da NF-1 con diagnosi clinica. Dall'età di 68 anni riferiva comparsa di dispnea da sforzo (WHO III-IV) e contestualmente, segni obiettivi di scompenso cardiaco destro (edemi declivi, ascite). Il pz effettuava i seguenti accertamenti: esami di funzionalità respiratoria (volumi polmonari nella norma, DLco severamente ridotta (35%)), test del cammino (metri percorsi 250 con SaO2 iniziale 96% --> finale 84%), ECO-TT (segni diretti ed indiretti di IP, con PAPs di 100 mmHg, DTDVDx 50 mm, TAPSE 17 mm), scintigrafia polmonare ventilo/perfusoria (a bassa probabilità di embolia polmonare), HRTC (non segni di IPID, dilatazione dell'arteria polmonare con rapporto arteria polmonare/aorta >1) (Fig. 1 C-D), pattern reumatologico/autoimmunitario negativo, non epatopatia cronica. Eseguiva cateterismo cardiaco destro (CCDx) con riscontro di pressione media in arteria polmonare (PAPm) 65 mmHg, pressione arteriolare di incuneamento polmonare (PAWP) 10 mmHg, gittata cardiaca (CO) 4.2 L/min, indice cardiaco (CI) 2.45 l/min/m^2, resistenze vascolari polmonari (PVR) 13 Wood Units (WU)). In relazione dell'età e prima di iniziare trattamenti specifici per l'Ipertensione Arteriosa Polmonare (IAP), si effettuava una coronarografia con posizionamento di PTCA e stent per riscontro di stenosi critica di CD e Cx. Dopo circa 1 mese dal posizionamento degli stent ed in assenza di segni di cardiopatia ischemica residua si iniziava terapia con ambrisentan 10 mg/die.
Dopo 6 mesi di terapia con ambrisentan, il pz ri-

Ad oggi senza terapia, le interstiziopatie sono più frequenti nei maschi con dispnea ingravescente, tosse con riduzione della DLCo e rilievo di alterazioni a vetro smerigliato e honeycombing all'HRCT

maneva in classe funzionale WHO III ed eseguiva CCDx con riscontro di PAPm 55 mmHg, PAWP 9 mmHg, CO 4.5 L/min, CI 2.55 l/min/m^2, PVR 10 WU. Per lo scarso miglioramento emodinamico si associava terapia con sildenafil 20 mg x 3/die.
Dopo 1 anno di duplice terapia orale, il pz era in classe funzionale WHO II-III ed il CCDx mostrava un moderato miglioramento del quadro emodinamico: PAPm 50 mmHg, PAWP 11 mmHg, CO 5.45 L/min, CI 3.13 L/min/m^2, PVR 7.5 WU. Pertanto, si manteneva inalterata la terapia specifica per IAP.
Dopo 2 anni di ambrisentan e sildenafil, il pz mostrava un nuovo peggioramento clinico, bio-umorale ed ecocardiografico. Veniva ripetuto il CCDx che mostrava un netto peggioramento del quadro emodinamico (PAPm 73 mmHg, PAWP 9 mmHg, CO 4.7 L/min, CI 2.65 L/min/m^2, PVR 14 WU), senza evidenza di nuovi elementi aggravanti (TC torace con mezzo di contrasto negativa per embolia polmonare e/o per IPID, prove di funzionalità respiratoria invariate rispetto a quelle di 2 anni prima).
In considerazione del quadro emodinamico, veniva massimalizzata la terapia specifica con introduzione del prostanoide inalatorio (rifiutate dal pz via sottocutanea e via endovenosa) con 8 somministrazioni giornaliere di iloprost per via aerosolica. Nonostante la triplice terapia, il pz mostrava un progressivo peggioramento del quadro clinico, fino all'exitus, avvenuto dopo 1.5 anni dall'inizio del prostanoide per via inalatoria e dopo 4 anni dalla diagnosi di IAP.

Caso clinico 3

Pz di 55 anni, ex-fumatrice (20 p/y – stop da più di 10 anni), ex-operaia in tessitura, nota per NF-1 con diagnosi genetica, pregressa asportazione di glioma oculare e GIST intestinale (20 anni prima).
Da circa 3 anni la pz riferiva dispnea ingravescente (WHO III). Gli accertamenti effettuati mostravano la presenza di IPID (pattern NSIP con "vetro smeriglio" diffuso alla HRCT) e segni di IP (dilatazione dell'arteria polmonare con rapporto arteria polmonare/aorta >1) (Fig. 1 E-F), condizionanti una severa insufficienza respiratoria parziale (pO2 45 mmHg, pCO2 33 mmHg, pH 7.46). Funzionalmente, era presente un deficit ventilatorio restrittivo moderato-severo (FVC 58%, TLC 60%, IT 83, DLco 30%). La pz veniva trattata con O2 terapia a lungo termine ed empiricamente con steroide sistemico a basso dosaggio.
Dopo 3 anni di stabilità clinico-funzionale, la pz mostrava all'ECO-TT valori pressori del circolo polmonare progressivamente ingravescenti (PAPs 60 mmHg). Per tale motivo veniva effettuato un ricovero con esecuzione di scintigrafia polmonare ventilo/perfusoria (a bassa probabilità di embolia polmonare) e CCDx, che mostrava la presenza di PAPm 42 mmHg, PAWP 6 mmHg, CO 5.2 L/min, CI 3.1 L/min/m^2, PVR 7 WU.
In relazione della giovane età della pz e della possibile correlazione tra NF-1 ed IAP, seppur presente un IPID tipo NSIP, condizionante una grave insufficienza respiratoria, veniva iniziato trattamento specifico con duplice terapia orale, secondo schema "up-front" con ambrisentan e tadalafil e veniva riferita presso un centro trapianti di polmone.
La pz veniva esclusa dalla lista trapianti per riscontro coronarografico di malattia coronaropatica significativa trivasale. Dopo l'inizio della terapia specifica, si osservava comunque una stabilità emodinamica a fronte di un progressivo peggioramento del quadro respiratorio interstiziale, condizionante un ancora più severo quadro di insufficienza respiratoria cronica (necessità di alti flussi di O2 >10 L/min) che portava ad exitus dopo soli 1.5 anni di terapia specifica per IAP.

Discussione

La NF-1 è una patologia geneticamente determinata che colpisce il polmone sotto forma di IPID e/o di IP. Queste complicanze possono presentarsi in forma isolata oppure, con frequenza quasi aneddotica, associate nello stesso pz.

Nei pazienti con NF-1 l'ipertensione polmonare secondaria alla vasculopatia del circolo arterioso polmonare come nelle forme idiopatiche di IP, va sempre considerata

Interessamento parenchimale interstiziale diffuso polmonare

Il riscontro di IPID in pz affetti da NF-1 non è infrequente. La prevalenza di questa complicanza è stimata tra il 10% e il 20% dei pz (5). Questa complicanza è più frequente nel sesso maschile, con un rapporto maschi/femmine di 2:1, l'età media per la diagnosi di IPID è di circa 50 anni, con notevole variabilità all'interno delle casistiche considerate (5). I sintomi più comuni comprendono la dispnea ingravescente e la tosse, raramente dolore toracico (spesso secondario alla presenza di pneumotorace). In alcuni casi, l'interessamento polmonare può decorrere inizialmente in maniera asintomatica dal punto di vista clinico.

Da quando è comunemente usata la HRTC, sono stati descritti diversi aspetti radiologici di IPID nei pz con NF-1, riassunti principalmente nel lavoro di *Zamora et al.* ed in alcune revisioni successive (5). I più comuni sono rappresentati da cisti di piccole dimensioni, a pareti sottili o bolle con prevalenza per i lobi superiori, alterazioni reticolari con prevalenza ai lobi inferiori ed opacità a "vetro smerigliato" omogeneamente diffuse. Più raramente e tardivamente, si può osservare la presenza di franco "honeycombing", difficilmente distinguibile dal punto di vista radiologico rispetto ai casi di fibrosi polmonare idiopatica.

Dal punto di vista funzionale, possono essere presenti un deficit disventilatorio ostruttivo, restrittivo o misto, quasi sempre associati ad una severa riduzione della DLco (5). In tutti i casi descritti si è riscontrata una riduzione della DLco, dato da correlare sia con l'IPID sia con l'interessamento vascolare, mentre solo in un caso, per verosimile diagnosi tardiva dell'interessamento polmonare, è stato osservato un deficit restrittivo moderato.

Nel corso degli anni si è molto dibattuto se queste forme siano rilievi incidentali, in parte espressione di danno da fumo (considerata anche la maggior incidenza di fumatori in questa categoria di pazienti) oppure si tratti di forme a sé stanti associate alla NF-1. Attualmente, non è ancora possibile trarre un conclusione definitiva, anche se alcuni Autori suggeriscono una possibile connessione dal punto di vista biologico tra la funzione di alcune proteine codificate dal gene NF-1 ed il danno parenchimale polmonare. *Patchefsky et al.* ritengono che lo sviluppo di alterazioni fibrotiche a livello polmonare sia associato ad un'aumentata deposizione di collagene, così come accade in altri tessuti più frequentemente interessati dalla malattia (6). *Fabricant et al.* hanno osservato una maggiore attività dei miofibroblasti a livello polmonare secondaria all'aumento dei livelli del fattore di crescita nervoso, giungendo ad analoghe conclusioni (7). Per quanto riguarda gli effetti nocivi del fumo di sigaretta nei pz con NF-1, il danno potrebbe essere potenziato dalla ridotta attività della proteina RAS, secondaria alla mutazione del gene NF-1 (8).

Al momento, non esiste un trattamento specifico per i casi di interstiziopatia in pz affetti da NF-1. La cessazione assoluta dall'abitudine tabagica rimane uno degli elementi più importanti della terapia, soprattutto per prevenire la progressione di malattia, eventualmente associata alla terapia steroidea, fino ad arrivare al trapianto polmonare nelle forme più severe e rapidamente evolutive (5).

Ipertensione polmonare

L'IP in corso di NF-1 era ritenuta in passato secondaria esclusivamente al coinvolgimento IPID. Tuttavia, dopo aver evidenziato lo sviluppo di IP anche in pz affetti da NF-1 che non avevano manifestato un evidente coinvolgimento polmonare, si è cominciato a parlare di IAP anche in corso di NF-1, in tal caso secondaria ad un processo di vasculopatia primitiva del circolo arterioso polmonare molto simile a quello riscontrato in pz affetti da IAP idiopatica (9,10). Non è esclusa, d'altronde, anche la sovrapposizione di entrambe le forme di IP.

Ad oggi, l'IP in corso di NF-1 si colloca nel gruppo 5 della più recente classificazione delle Linee Guida Internazionali, ovvero il gruppo in cui sono presenti

Due i tipi di danno polmonare nella NF-1: uno, più grave, con danno parenchimale interstiziale diffuso, condizionante lo sviluppo di ipertensione polmonare secondaria assimilabile al gruppo 3 WHO, l'altro, a miglior prognosi, con vasculopatia e ipertensione arteriosa polmonare simil-idiopatica

le patologie sistemiche condizionanti IP ad eziologia sconosciuta o multifattoriale. Complicanze vascolari in corso di NF-1 sono previste teoricamente per qualunque distretto vascolare del corpo, in particolare a carico dell'aorta toracica o addominale, delle arterie retiniche, vertebrali, lombari, mesenteriche, renali, intra- ed extracraniche.
Il processo vasculopatico caratteristico della patologia predispone alla formazione di lesioni stenosanti o aneurismatiche con elevato rischio di rottura (11). *Lie et al.* hanno descritto tre tipi base di lesioni vascolari in corso di NF-1: proliferazione endoteliale e delle cellule muscolari lisce nelle arterie di grosso calibro; proliferazione intimale con associati fenomeni fibrotici e neoangiogenetici in arterie elastiche o muscolari di medio calibro; proliferazione intimale e lesioni plessiformi in arteriole e vasi di calibro ancor più piccolo (12).
Il primo caso di IAP fu descritta da *Samuels et al.* circa 20 anni fa (9). Un uomo di 51 anni con NF-1, principalmente cutanea, sviluppò una grave forma di IP con evidenze radiologiche, scintigrafiche ed angiografiche del tutto sovrapponibili ad una forma di Ipertensione Polmonare Cronica Tromboembolica (IPCTE) ma che si dimostrò in realtà secondaria al coinvolgimento diretto del circolo arterioso polmonare. Gli esami bioptici della parete arteriosa evidenziavano un esteso processo di fibrosi intimale e la presenza di lesioni plessiformi senza evidenza di tromboembolismo, confutando l'eziologia embolica dell'IP (9).
Montani et al. nel 2011 identificarono 8 nuovi casi di IP ad insorgenza tardiva in corso di NF-1 (8). Allo studio genetico, nessuno dei pz riportava mutazioni a carico del BMPR-2 e tutti presentavano uno stato di eterozigosi per la mutazione del gene NF-1. Al CCDx si riscontrava un significativo coinvolgimento emodinamico, con IP pre-capillare, riduzione severa del CI e rialzo severo delle PVR.
Non tutti i pz presentavano un IPID di fondo. L'impatto prognostico delle terapie specifiche per IAP risulterebbe scarso, forse perché la diagnosi è risultata tardiva, a dimostrazione che la precocità della stessa è fondamentale affinchè venga impostata un'adeguata terapia specifica (8).
Nel 2016 *Giannakoulas et al.* hanno riportato il caso di un paziente affetto da NF-1 ed IAP severa, senza IPID; il pz è stato trattato con settostomia atriale, seguita da terapia sottocutanea con treprostinil. A due anni di follow-up si è registrato un miglioramento del pz dal punto di vista della classe funzionale, della distanza percorsa al test del cammino, del proBNP ed dell'emodinamica. La favorevole risposta di questo pz al trattamento impostato suggerisce la presenza di un processo vasculopatico primitivo a carico del circolo polmonare che sottende lo sviluppo di IAP in tali pz (13).
L'IAP va sempre presa in considerazione come ipotesi diagnostica in corso di NF-1, in particolare nelle pz di sesso femminile, mentre l'età di insorgenza sembra più tardiva, probabilmente perché il processo vasculopatico plessiforme a carico del circolo arterioso polmonare è un fenomeno tardivo nella storia naturale della patologia (8).
Il contributo dei fattori genetici (mutazione del gene NF-1), associato eventualmente alla presenza di IPID o ad altri fattori ancora non identificati, rimane poco chiaro. Infatti, solo una minoranza dei pz affetti da NF-1 sviluppa l'IAP. La forma ereditaria ha anch'essa un substrato genetico, di tipo autosomico dominante con penetranza attorno al 20%, associato a mutazioni di geni che codificano per elementi della famiglia associata al complesso TGF-alfa – BMPR-2.
Tali mutazioni non si ritrovano invece nei pz affetti da NF-1 che sviluppano IAP: in essi sono presenti esclusivamente mutazioni sempre a carico del gene NF-1 (8).
Ben studiato, seppur ci sia ancora molto da comprendere, è il meccanismo patogenetico secondo il quale il deficit della neurofibromina, proteina che svolge un ruolo inibitorio all'interno di un "pa-

thway" di controllo della crescita e proliferazione cellulare che ha come substrato anche il protoncogene RAS, esita in un processo di incontrollata crescita e proliferazione cellulare fibroblastica e vascolare endoteliale (14-15).
Negli ultimi anni, alcuni inibitori delle tirosin-chinasi, in particolare imatinib, sono stati studiati come possibili terapie promettenti nell'ambito della IAP. Uno di questi è sorafenib, inibitore delle tirosin-chinasi, compreso il prodotto proteico del protoncogene RAS, quindi, potenziale inibitore del pathway controllato da tale oncogene e della cascata delle MAP-chinasi.
Tali vie di segnalazione molecolare sono strettamente correlate all'eccessiva attività di crescita e proliferazione cellulare, processi che in questi pz si associano sia all'aumentato rischio di sviluppare neoplasie (benigne e maligne) sia alla proliferazione endoteliale e muscolare liscia, probabilmente alla base della vasculopatia tipica della NF-1 (16). Tali molecole potrebbero quindi avere un ruolo decisivo in senso anti-proliferativo ed onco-soppressore proprio nella NF-1, che comporta in questi pz un aumentato rischio di sviluppare neoplasie e, in percentuale minore, di IAP.

Interessamento combinato ed approccio all'ipertensione polmonare

Lo sviluppo di entrambe le complicanze (IPID e IP severa) nello stesso pz affetto da NF-1 è un evenienza estremamente rara e dalle conseguenze molto gravi. Considerando l'evoluzione clinica dei pz descritti, è ipotizzabile la presenza di due tipologie di danno polmonare in corso di NF-1. Una parte di pz sviluppano primariamente un danno di tipo parenchimale che nel tempo può evolvere fino ad un compromissione respiratoria severa ed allo sviluppo di IP secondaria assimilabile alle forme del gruppo 3 della classificazione WHO. In questa categoria, la risposta alla terapia specifica per IP è assai limitata e la prognosi è infausta. Altri pz sviluppano, invece, una vasculopatia che condiziona una forma di IAP non troppo distante dalle forme idiopatiche. La terapia specifica in questi casi meriterebbe di essere tentata, perché è maggiore la probabilità di risposta, sebbene non siano ancora disponibili studi su ampie popolazioni in tal senso. La prognosi in questa categoria potrebbe essere leggermente migliore. Il trapianto polmonare rimane un'opzione da considerare, anche precocemente se possibile, prima che il quadro clinico diventi troppo compromesso.

Bibliografia

1. Evans DG, Howard E, Giblin C, et al. Birth incidence and prevalence of tumor-prone syndromes: estimates from a UK family genetic register service. Am J Med Genet A 2010; 152A:327.
2. Ledbetter DH, Rich DC, O'Connell P, et al. Precise localization of NF1 to 17q11.2 by balanced translocation. Am J Hum Genet 1989; 44:20.
3. DeBella K, Szudek J, Friedman JM. Use of the national institutes of health criteria for diagnosis of neurofibromatosis 1 in children. Pediatrics 2000; 105:608.
4. Porterfield JK, Pyeritz RE, Traill TA. Pulmonary hypertension and interstitial fibrosis in von Recklinghausen neurofibromatosis. Am J Med Genet 1986; 25: 531–535.
5. Zamora AC, Collard HR, Wolters PJ, et al. Neurofibromatosis-associated lung disease: a case series and literature review. Eur Respir J. 2007 Jan;29(1):210-214. Review.
6. Patchefsky AS, Atkinson WG, Hoch WS, et al. Interstitial pulmonary fibrosis and von Recklinghausen's disease. An ultrastructural and immuno-fluorescent study. Chest 1973; 64: 459–464.
7. Fabricant RN, Todaro GJ. Increased serum levels of nerve growth factor in von Recklinghausen's disease. Arch Neurol 1981; 38: 401–405.
8. Montani D, Coulet F, Girerd B, et al. Pulmonary hypertension in patients with neurofibromatosis type I. Medicine (Baltimore). 2011 May;90(3):201-211. doi: 10.1097/MD.0b013e31821be2b7.
9. Samuels N, Berkman N, Milgalter E, et al. Pulmonary hypertension secondary to neurofibromatosis: intimal fibrosis versus thromboembolism. Thorax. 1999;54:858-859.
10. Stewart DR, Cogan JD, Kramer MR, et al. Is pulmonary arterial hypertension in neurofibromatosis type 1 secondary to a plexogenic arteriopathy? Chest. 2007;132:798-808.
11. Oderich GS, Sullivan TM, Bower TC, et al. Vascular abnormalities in patients with neurofibromatosis syndrome type I: clinical spectrum, management, and results. J Vasc Surg. 2007;46:475-484.
12. Lie J. Vasculopathies of neurofibromatosis type I (Von Recklinghausen disease). Cardiovasc Pathol. 1998;7:97-108.
13. Giannakoulas G. et al. BMC Pulmonary Medicine (2016) 16:175 DOI 10.1186/s12890-016-0337-7.
14. Banerjee S, Byrd JN, Gianino SM, et al. The neurofibromatosis type 1 tumor suppressor controls cell growth by regulating signal transducer and activator of transcription-3 activity in vitro and in vivo. Cancer Res. 2010;70:1356-1366.
15. Xu J, Ismat FA, Wang T, Yang J, Epstein JA. NF1 regulates a Ras-dependent vascular smooth muscle proliferative injury response. Circulation. 2007;116:2148-2156.
16. Tamura Y, Ono T, Sano M, et al. Favorable effect of sorafenib in a patient with neurofibromatosis-associated pulmonary hypertension. Am J Respir Crit Care Med. 2012 Aug 1;186 (3):291-2.

Milena Mariani[1], Anna Cereda[2], Barbara Parma[3], Silvia Tajè[3], Chiara Fossati[4], Roberto Panceri[4], Valentina Massa[5], Cristina Gervasini[5], Paola Ajmone[6], Silvia Russo[7], Angelo Selicorni[3]

[1]Università degli Studi di Milano, Scuola di Specializzazione in Genetica Medica. [2]Unità Operativa di Pediatria ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo. [3]Unità Operativa Complessa di Pediatria ASST Lariana Como. [4]Clinica Pediatrica, Fondazione MBBM, Monza. [5]Università degli Studi di Milano, Dipartimento di Scienze della Salute. [6]Unità Operativa di Neuropsichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza (UONPIA) Fondazione IRCCS Cà Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano. [7]Laboratorio di Citogenetica e Genetica Molecolare - IRCCS Istituto Auxologico Italiano - Milano

Sindrome di Cornelia de Lange e fenotipi correlati: variabilità clinico-genetica

Il paziente 1 ha 23 anni, e attualmente vive in una struttura protetta. La diagnosi clinica è stata posta alla nascita per la presenza dei dismorfismi tipici, basso peso, esadattilia post-assiale mano sinistra ed oligodattilia (2 dita) mano destra, criptorchidismo bilaterale e micropene. L'accrescimento staturo-ponderale è stato inizialmente scarso; successivamente pur in un quadro di franca bassa statura, ha mostrato a tratti la presenza di franca obesità. Ritardo mentale medio grave. Assenza di comunicazione verbale con utilizzo proficuo di comunicazione aumentativa ed alternativa (CAA). Comportamenti autolesivi ed eteroaggressivi. Ipersonnia soprattutto pomeridiana. E' affetto da reflusso gastro-esofageo per cui ha eseguito intervento chirurgico (fundoplicatio sec. Nissen) ed assume tutt'ora terapia con inibitore di pompa. Presenta clinicamente una lieve asimmetria degli arti inferiori. Cifosi dorsale ed atteggiamento scoliotico destro-convesso. Assume terapia antiepilettica per crisi comiziali. All'età di 7 anni ha subito intervento di splenectomia d'urgenza per comparsa di enorme cisti splenica di 10 x 12 cm di ndd.

Il paziente 1 ha una mutazione troncante Trp2107X del gene NIPBL.

Fig. 1 **Paziente 1**



Il paziente, di 23 anni, con un ritardo cognitivo medio-grave e reflusso gastroesofageo, non comunica verbalmente e presenta comportamenti auto-eteroaggressivi

La paziente 2 ha 13 anni. La diagnosi clinica è stata posta all'età di 2 anni. Frequenta la III media con buon profitto, conosce molto bene 3 lingue, pratica teatro ed equitazione.

Tratti somatici come da patologia di base. Accrescimento staturo-ponderale regolare, peso 30,050 kg (circa 95° percentile curve CdLS), altezza 137 cm

(circa 75° percentile curve CdLS), CC 49 cm (circa 90° percentile curve CdLS). Assenza di malformazioni maggiori. Mani piccole con 5° dito corto e impianto prossimale del pollice. Articolazione del gomito slargata bilateralmente con impossibilità alla completa estensione e prono supinazione. Asimmetria di lunghezza degli arti inferiori per sin>dx di circa 1 cm, non asimmetria di volume. Non limitazioni né dolore alla mobilizzazione attiva e passiva delle anche. Non rigidità del tendine d'Achille, valgismo calcaneale e alluce valgo bilaterale. Alimentazione varia, alvo e diuresi regolari. Non riferiti disturbi del sonno. Nei primi anni di vita erano state eseguite pHmetria, risultata patologica, ed EGDS che aveva documentato esofagite di I grado e lieve ernia iatale. All'ultimo controllo endoscopico eseguito in assenza di sintomatologia clinica e in assenza di trattamento farmacologico, non erano stati rilevati segni macroscopici di esofagite. Attualmente non vengono segnalati sintomi riconducibili alla presenza di reflusso gastro-esofageo. E' seguita dal punto di vista oculistico per miopia e astigmatismo per cui porta lenti correttive; in passato eseguito intervento correttivo per strabismo. In corso trattamento ortodontico. Ha eseguito valutazione ortopedica per alluce valgo per cui non sono state poste indicazioni attuali ad alcun tipo di trattamento.

La paziente 2 ha una mutazione missenso c.4422G>T (p.Arg1474Ser) del gene NIPBL.

Clinica

La sindrome di Cornelia de Lange (CdLS) è una patologia plurimalformativa descritta per la prima volta nel 1933 da una pediatra olandese, la dottoressa Cornelia de Lange, che diede il nome alla condizione. Non è nota l'esatta incidenza in quanto è possibile che molti dei casi con fenotipo più lieve siano misdiagnosticati; lavori più recenti riportano una frequenza da 1:20.000 a 1:40.000.

La diagnosi di sindrome di Cornelia De Lange nella sua manifestazione classica è solitamente posta nei primi giorni/settimane di vita per la presenza di caratteristiche peculiari del volto associate o meno ad anomalie a carico degli arti e ritardo di crescita. I dismorfismi del volto sono sicuramente l'aspetto più specifico di questi pazienti: impianto basso anteriore e posteriore dei capelli, spesso associato a peluria frontale, sopracciglia arcuate, quasi disegnate, che si uniscono a livello della linea mediana (sinofria), ciglia lunghe e folte, naso piccolo, con punta triangolare e narici anteverse, filtro lungo e appiattito, labbra sottili, con commissure rivolte verso il basso e mento piccolo. L'irsutismo diffuso o localizzato a livello della regione dorso-lombare e degli avambracci è una caratteristica frequente e spesso si associa alla presenza di areole mammarie piccole e cute marmorata. In alcuni pazienti queste caratteristiche possono farsi via via più evidenti con l'età, in altri i tratti dismorfici possono non essere così francamente evidenti. Le mani ed i piedi sono generalmente piccoli con impianto prossimale del 1° dito e clinodattilia del 5°, in circa un terzo dei pazienti sono presenti difetti malformativi, che coinvolgono quasi sempre gli arti superiori e variano dall'assenza di una o più dita (solitamente a carico dei raggi di derivazione ulnare) ad assenza

La paziente, di 13 anni, non presenta malformazioni maggiori, ha uno sviluppo cognitivo borderline e pratica teatro ed equitazione

Fig. 2 **Paziente 2**



completa della mano e di parte delle braccia. Talvolta può essere presente un impedimento funzionale ai movimenti di flesso-estensione del gomito e prono-supinazione dell'avambraccio per ipoplasia del capitello radiale.
Il ritardo di crescita è spesso riconoscibile anche in epoca prenatale e riguarda tutti i parametri auxologici ma in particolare il peso, che è significativamente ridotto rispetto a quello della popolazione generale fino all'adolescenza quando il 15% dei soggetti arriva ad avere valori di peso addirittura nel range del sovrappeso o della franca obesità. Per il monitoraggio della crescita sono disponibili curve specifiche (www.corneliadelange.org).
Il ritardo di sviluppo psicomotorio e la successiva disabilità intellettiva delle persone con CdLS è di entità variabile; la maggioranza dei pazienti è affetto da ritardo di grado medio/medio-grave ma il 20-30% dei pazienti mostra una espressione lieve (fenotipo mild) con prognosi decisamente più favorevole. L'area più significativamente compromessa è quella del linguaggio verbale; è ben noto che la capacità di comprensione dei soggetti affetti sia di gran lunga superiore alla capacità espressiva. Spesso la difficoltà di esprimersi può essere causa di disturbi comportamentali come manifestazione di frustrazione.
Le malformazioni maggiori possono interessare qualsiasi distretto corporeo. Nello specifico si osservano:

- cardiopatie congenite (25-30%): difetti interventricolari, interatriali e stenosi della valvola polmonare; difficilmente richiedono una correzione chirurgica
- malformazioni renali e delle vie urinarie (12-40%): reflusso vescico-ureterale o problemi strutturali come reni ipoplasici, cisti renali o dilatazione pelvica
- anomalie genitali (33%): criptorchidismo e ipogonadismo (73% dei pazienti di sesso maschile), ipospadia. Nelle femmine ipoplasia delle grandi labbra o malformazioni uterine
- malformazioni gastrointestinali: malrotazione intestinale
- malformazioni Sistema Nervoso Centrale: discretamente frequenti sebbene non vi sia una tipologia specifica di malformazione osservabile (ipoplasia del cervelletto, allargamento della cisterna basale, ipoplasia del tronco encefalico, assottigliamento della sostanza bianca).
- malformazioni oculari: descritte occasionalmente senza dati definiti in termini di frequenza.
- palatoschisi: 10% dei pazienti.

Tra i sintomi più frequenti, reflusso gastroesofageo, ipoacusia trasmissiva, miopia grave e disturbi del sonno

La diagnosi clinica viene posta in base a criteri specifici (*Kline et, al 2007*). E' peraltro in corso a livello internazionale un processo di definizione di nuove linee guida per la diagnosi ed il follow-up.

Problemi medici

La complicanza medica più frequente nelle persone affette da CdLS è costituita dal reflusso gastroesofageo che interessa una percentuale variabile dal 70 al 90% di pazienti, spesso fin dai primi mesi di vita. I sintomi di presentazione sono frequentemente atipici: disfagia, rifiuto del cibo, agitazione notturna, infezioni delle alte e delle basse vie respiratorie, broncospasmo ricorrente, iperattività, autoaggressività sono alcuni tra i sintomi che dovrebbero far sospettare la presenza di un quadro di reflusso.
Il trattamento si avvale dell'utilizzo di inibitori di pompa protonica, ma non raramente è necessario ricorrere ad un intervento di plastica anti-reflusso. I pazienti con CdLS hanno inoltre un rischio aumentato di sviluppare metaplasia esofagea (Esofago di Barrett), in età precoce rispetto alla popolazione generale, per cui è raccomandato un adeguato monitoraggio endoscopico.
Il 20% dei pazienti è affetto da ipoacusia neurosensoriale; più frequente è la presenza di ipoacusia trasmissiva associata ad otite media effusiva, che condiziona negativamente lo sviluppo dell'area del linguaggio. Inoltre nelle persone affette da CdLS i condotti uditivi sono spesso stretti. I bambini con la CdLS hanno spesso infezioni dei seni paranasali e otiti medie acute ricorrenti.
In una recente indagine su una quarantina di soggetti affetti è stato inoltre dimostrato un deficit immunologico consistente in una significativa diminuzione del numero di cellule T con conseguenti infezioni ricorrenti per lo più a carico delle vie re-

spiratorie. Tale dato non è stato successivamente replicato. Inoltre, viene segnalata una significativa prevalenza di problematiche del sonno caratterizzate da frequenti risvegli notturni, spesso secondari a RGE misconosciuto, scarsa necessità di sonno (fino a 2-4 ore per notte) e notevole capacità di resistenza a lunghi periodi senza dormire.

Due recenti studi discutono la possibilità che i bambini con CdLS abbiano un rischio lievemente aumentato di sviluppare porpora trombocitopenica idiopatica.

Sono frequenti i deficit rifrattivi (miopia grave) e blefariti croniche.

L'epilessia è una problematica presente nel 20% dei pazienti con CdLS. Non è descritto un pattern EEG peculiare. Le crisi risultano generalmente ben controllate dalla terapia medica. Oltre al quadro malformativo degli arti superiori già descritto, dal punto di vista ortopedico si possono riscontrare nel corso degli anni disturbi funzionali a carico della colonna (cifo-scoliosi) e a carico dell'articolazione coxo-femorale (necrosi avascolare della testa femorale). Quest'ultima sede deve essere tenuta presente come possibile origine dei quadri di dolore misconosciuto.

Come in tutti i soggetti con disabilità intellettiva sono inoltre da tenere presente i problemi di scarsa igiene orale e i fenomeni di malocclusione dentale. La tabella 1 elenca le indicazioni per il follow-up dei pazienti affetti

Tab. 1 **Follow-up pazienti affetti da CdLS**

Valutazione specialistica/ esame strumentale	Cadenza
Valutazione pediatrica	Alla diagnosi, trimestrale nei primi 2 anni, semestrale dai 2 ai 4 anni, poi annuale
Valutazione NPI	Alla diagnosi, poi annuale
Valutazione cardiologica con ecocardiogramma e ECG	Alla diagnosi, poi secondo indicazione clinica
Rx digerente	Alla diagnosi
EGDS	Secondo indicazione clinica, annuale o biennale nei pazienti adolescenti/adulti
Esami ematochimici, urinari e di funzionalità renale	Alla diagnosi, poi annuali
Esami ematochimici nutrizionali	Annuali
Valutazione oculistica	Alla diagnosi, poi annuale o secondo indicazione clinica
Valutazione audiometrica	Alla diagnosi, poi secondo indicazione clinica
Valutazione odontoiatrica	Annuale
Valutazione nefrologica	Secondo indicazione clinica
Rx colonna vertebrale	Secondo indicazione clinica
Valutazione ortopedica/fisiatrica	Alla diagnosi, poi secondo indicazione clinica
Valutazione gastroenterologica	Annuale
Valutazione dietologica	Secondo indicazione clinica

Nella CdLS la gravità del ritardo di sviluppo è variabile, l'area più colpita è quella del linguaggio verbale; le malformazioni maggiori possono colpire ogni organo

Prognosi

Superati i primi due anni di vita, in cui le cause prevalenti di mortalità sono riferite alla presenza di gravi malformazioni congenite cardiache o diaframmatiche, le situazioni cliniche responsabili della maggior parte dei decessi sono le polmoniti *ab ingestis* e le complicanze gastrointestinali come il volvolo e l'occlusione intestinale spesso favorite da una condizione di malrotazione intestinale.

Più raramente sono in gioco sepsi e, molto occasionalmente, patologie neoplastiche.

A differenza di ciò che è stato ipotizzato per anni la sopravvivenza dei pazienti con CdLS non è per definizione ridotta in modo significativo. Sono infatti ben noti pazienti che hanno raggiunto l'età giovane adulta. Il miglioramento della qualità dei percorsi assistenziali è sicuramente alla base di questo fenomeno.

Genetica

La conferma molecolare della diagnosi clinica è

E' descritta una significativa prevalenza di mosaicismo somatico, con presenza di mutazioni patogenetiche nei geni malattia (spt NIPBL) in tessuti diversi dal sangue periferico (che risulta normale)

possibile nel 75-80% dei pazienti.
I geni coinvolti codificano per proteine appartenenti al complesso delle coesine: il gene più frequentemente mutato è il gene NIPBL, seguito in ordine di frequenza dal gene SMC1A. Negli ultimi anni sono state descritte mutazioni a carico di altri 3 geni appartenenti al complesso delle coesine, SMC3, HDAC8, RAD21. Le mutazioni dei geni NIPBL, SMC3, RAD21 (localizzati rispettivamente sui cromosomi 5, 3 ed 8) hanno trasmissione autosomica dominante: sebbene i geni SMC1A e HDAC8 siano localizzati sul cromosoma X mutazioni in emizigosi/eterozigosi sono state descritte come causa di patologia sia nel sesso maschile che in quello femminile.
E' stata inoltre recentemente osservata la possibilità che pazienti con fenotipo de Lange convincente ma negatività dei test genetici eseguiti su sangue periferico, mostrasse la presenza di una mutazione patogenetica di uno dei geni malattia (spt NIPBL) se il test genetico veniva replicato su altro tessuto biologico (fibroblasti cutanei, brushing mucosa buccale). Questo fenomeno definito "mosaicismo somatico" ha una incidenza ancora indefinita. Non sembra peraltro che i pazienti con mosaicismo somatico mostrino un fenotipo più lieve rispetto ad altri pazienti con mutazione a livello costituzionale, come può avvenire invece per altre condizioni.
Esiste, infine, la possibilità che in pazienti con fenotipo de Lange possano essere osservati riarrangiamenti coinvolgenti le regioni cromosomiche in cui i diversi geni malattia sono localizzati. Il dibattito sulle potenziali correlazioni genotipo-fenotipo è ampio ed articolato (*Mannini et al. 2013*).
In termini molto generali viene abbastanza riconosciuto che le mutazioni troncanti del gene NIPBL (paziente 1) siano associate ad un fenotipo più severo e classico mentre mutazioni missenso dello stesso gene (paziente 2) o mutazioni di altri geni (ad es. SMC1A) sembrano associate a fenotipi meno gravi.

Overlapping phenotypes

Negli ultimi anni sempre più evidenze suggeriscono la presenza di fenotipi "overlappanti" con la Sindrome di Cornelia de Lange, in particolare nell'ambito di quelle condizioni che prendono il nome di cromatinopatie o trascrittomopatie. Ognuna di queste patologie include infatti il ritardo di crescita, la disabilità intellettiva, il ritardo di sviluppo e dimorfismi del volto spesso abbastanza sovrapponibili a quelle descritte nel fenotipo de Lange.
Nel 2014 un gruppo statunitense pubblica un paziente con fenotipo CdLS, in cui l'exome sequen-cing rivela una mutazione mai descritta prima nel gene EP300, le cui mutazioni sono note correlare con la Sindrome di Rubinstein-Taybi. L'anno successivo vengono descritti alcuni pazienti con diagnosi clinica di CdLS, analisi molecolare negativa per i geni malattia della condizione, e mutazioni a carico del gene ANKRD11, le cui mutazioni sono responsabili della Sindrome KBG.
Nel 2015 *Izumi et al.* descrivono tre pazienti con fenotipo CdLS-like e mutazione del gene AFF4.
In un recente articolo *Parenti et al.* riportano alcuni pazienti con caratteristiche riferibili a CdLS ma mutazione in geni regolatori della cromatina, in passato correlati ad altri disordini del neurosviluppo come la Sindrome di Coffin-Siris e la Sindrome di Wiedemann-Steinert. In uno di questi pazienti è stata riscontrata una delezione del gene SETD5 considerato causativo del fenotipo associato alla sindrome da microdelezione 3p25.
La tabella 2 riassume le caratteristiche cliniche/

Le mutazioni troncanti del gene NIPBL si associano ad un fenotipo più severo, le mutazioni missenso dello stesso gene a fenotipi meno gravi

Tab. 2 **Diagnosi differenziale delle cromatino/trascrittomopatie**

Sindrome	Geni causativi	Funzione della proteina	Caratteristiche cliniche
Cornelia de Lange	NIPBL, SMC1A, HDAC8, SMC3,RAD21	Coesine e fattori regolatori	Dismorfismi del volto, ritardo di sviluppo, ritardo di crescita, irsutismo, mani/piedi piccoli e/o difetti in riduzione degli arti superiori
Rubinstein-Taybi	CREBBP, EP300	Enzimi modificatori degli istoni	Dismorfismi del volto, pollici e alluci grandi, bassa statura e ritardo di sviluppo
Wiedemann-Steinert	KMT2A	Enzimi modificatori degli istoni	Dismorfismi del volto, ipertricosi cubitale, ritardo di sviluppo
Kabuki	KMT2D, KDM6A	Enzimi modificatori degli istoni	Dismorfismi del volto, anomalie scheletriche, prominenza fetal pads, ritardo di sviluppo, deficit di crescita
Young-Simpson	KAT6B	Enzimi modificatori degli istoni	Dismorfismi del volto, blefarofimosi, ritardo di sviluppo, ipotonia, rigidità articolare, ipoplasia/agenesia patellare, ipotiroidismo, criptorchidismo
KBG	ANKRD11	Regola acetilazione istoni	Dismorfismi del volto, incisivi centrali grandi, bassa statura, anomalie scheletriche, ritardo di sviluppo
Coffin-Siris	ARID1A, ARID1B, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1	Rimodellamento cromatina	Dismorfismi del volto, ipoplasia/aplasia della falange distale o dell'unghia in particolare del V dito, irsutismo, ipotonia, ritardo di sviluppo
Nicolaides-Baraitzer	SMARCA2	Rimodellamento cromatina	Dismorfismi del volto/facies grossolana, microcefalia, articolazioni interfalangee slargate, ipotonia, epilessia, ritardo di sviluppo
CHARGE	CHD7	Rimodellamento cromatina	Dismorfismi del volto (asimmetria, orecchie a coppa), coloboma, cardiopatia, atresia coanale, ritardo di crescita e di sviluppo, anomalie genitali, ipoacusia
FG	MED12	Mediatrice della trascrizione	Dismorfismi del volto, macrocefalia, anomalie del corpo calloso, pollici e alluci larghi, ipotonia, ritardo di sviluppo
CHOPS	AFF4	Fattore trascrizionale di allungamento	Dismorfismi del volto, ritardo di sviluppo, cardiopatia, obesità, anomalie polmonari, bassa statura, anomalie scheletriche

Nell'ambito delle cromatinopatie o trascrittomopatie esiste un potenziale overlapping clinico o molecolare con la CdLS

genetiche di un vasto numero di condizioni caratterizzate da potenziale overlapping clinico o molecolare oggi raggruppate nell'ampio ed eterogeneo gruppo delle "cromatinopatie" o "trascrittomopatie". Questi dati permettono, quindi, di sottolineare che a fronte di un fenotipo classico, correlato a mutazione dei geni malattia più noti (NIPBL) che pure può mostrare una enorme variabilità di espressione clinica e prognostica (vedi pazienti descritti), esiste una "nuvola" di fenotipi e di geni che mostrano importanti sovrapposizioni con il quadro più classico, la cui definizione clinica e molecolare è spesso abbastanza complessa.

Ringraziamenti

Si ringrazia l'Associazione di Volontariato Sindrome di Cornelia de Lange per il costante supporto e la preziosa collaborazione all'attività di follow-up e ricerca in merito alla condizione da sempre offerta. Si ringrazia la Fondazione Mariani, Milano per il supporto all'attività clinico genetica della UOC di pediatria ASST Lariana.

Bibliografia

- Deardorff MA et al. Mutations in cohesin complex members SMC3 and SMC1A cause a mild vari-ant of cornelia de Lange syndrome with predominant mental retardation. Am J Hum Genet 2007;80:485-94.
- Deardorff MA et al. RAD21 mutations cause a human cohesinopathy. Am J Hum Genet 2012;90:1014-27.
- Deardorff MA et al. HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetyla-tion cycle. Nature 2012;489:313-7.
- Izumi K et al. Germline gain-of-function mutations in AFF4 cause a developmental syndrome func-tionally linking the super elongation complex and cohesin. Nat Genet. 2015 Apr;47(4):338-44.
- Jackson L et al. de Lange syndrome: a clinical review of 310 individuals. Am J Med Genet 1993;47:940-6.
- Kline AD et al. Cornelia de Lange syndrome: clinical review, diagnostic and scoring systems, and anticipatory guidance. Am J Med Genet 2007;143A:1287-96.
- Kline AD et al. Developmental data on individuals with the Brachmann-de Lange syndrome. Am J Med Genet 1993;47:1053-8.
- Krantz ID et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of Drosophila melanogaster Nipped-B. Nat Genet 2004;36:631-5.
- Lambert MP et al. The incidence of thrombocytopenia in children with Cornelia de Lange syndrome. Am J Med Genet 2011;155A:33-7.
- Luzzani S et al. Gastroesophageal reflux and Cornelia de Lange syndrome: typical and atypical symptoms. Am J Med Genet 2003;119A:283-7.
- Macchini F et al. Barrett's esophagus and Cornelia de Lange Syndrome. Acta Paediatr 2010;99:1407-10.
- Mannini L et al Mutation spectrum and genotype-phenotype correlation in Cornelia de Lange syndrome. Hum Mutat. 2013 Dec;34(12):1589-96.
- Musio A et al. X-linked Cornelia de Lange syndrome owing to SMC1L1 mutations. Nat Genet 2006;38:528-30.
- Parenti I et al. Broadening of cohesinopathies: exome sequencing identifies mutations in ANKRD11 in two patients with Cornelia de Lange-overlapping phenotype. Clin Genet. 2016 Jan;89(1):74-81.
- Parenti I et al. Mutations in chromatin regulators functionally link Cornelia de Lange syndrome and clinically overlapping phenotypes. Hum Genet. 2017 Mar;136(3):307-320.
- Schrier SA et al. Causes of death and autopsy findings in a large study cohort of individuals with Cornelia de Lange syndrome and review of the literature. Am J Med Genet 201;155A:3007-24.
- Selicorni A et al. Analysis of congenital heart defects in 87 consecutive patients with Brachmannde Lange syndrome. Am J Med Genet 2009;149A:1268-72.
- Selicorni A et al. Anomalies of the kidney and urinary tract are common in de Lange syndrome. Am J Med Genet 2005;132:395-7.
- Woods SA et al. Exome sequencing identifies a novel EP300 frame shift mutation in a patient with features that overlap Cornelia de Lange syndrome. Am J Med Genet. 2014.

Emanuele Buratti[1] **e Andrea Dardis**[2]
[1] ICGEB, Gruppo Patologia Molecolare, Trieste
[2]Ospedale Universitario di Udine, Laboratorio Malattie Rare, Udine

Mutazioni di *splicing* e alternative terapeutiche: nuove opportunità per la malattia di Pompe

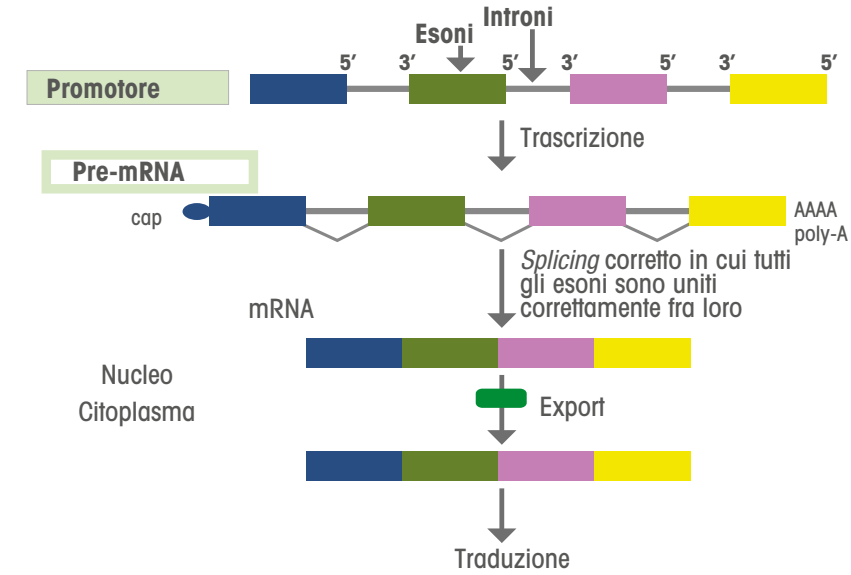
Introduzione

Per sopravvivere, ognuna delle nostre cellule utilizza l'informazione contenuta nel nostro DNA. Dal punto di vista molecolare gran parte di questa informazione viene trasportata da una molecola particolare, l'RNA messaggero (mRNA). Questa molecola è in grado di passare dal nucleo al citoplasma ed è quindi utilizzata dai ribosomi per produrre le proteine che compongono le nostre cellule. Negli eucarioti superiori, le molecole di mRNA vengono prodotte mediante la trascrizione del gene di interesse sotto forma di un precursore, il pre-mRNA. Una volta prodotta, ogni molecola di pre-mRNA deve essere correttamente processata dalla cellula in maniera da ottenere un mRNA maturo adatto ad essere utilizzato dal ribosoma. In particolare, uno dei processi più importanti dal punto di vista della conversione di pre-mRNA ad mRNA è il cosiddetto processo di *splicing*.

Lo *splicing* del pre-mRNA è un meccanismo finemente regolato attraverso il quale si ha la rimozione delle sequenze non-codificanti (introni) e l'unione delle sequenze codificanti per le proteine (esoni). Questo processo di taglia-e-cuci fornirà, quindi, la corretta cornice di lettura alla molecola (Fig. 1). Questo processo avviene nel nucleo grazie all'intervento di un

Il processo di *splicing*, uno dei più importanti per la conversione del pre-mRNA a mRNA, consente la rimozione degli introni e l'unione degli esoni e, quindi, fornisce la corretta cornice di lettura alla molecola

Fig. 1 **Processamento dell'informazione dal DNA alla proteina**



Durante il processamento corretto del pre-mRNA tutti gli esoni sono correttamente uniti fra di loro per formare una molecola di mRNA matura

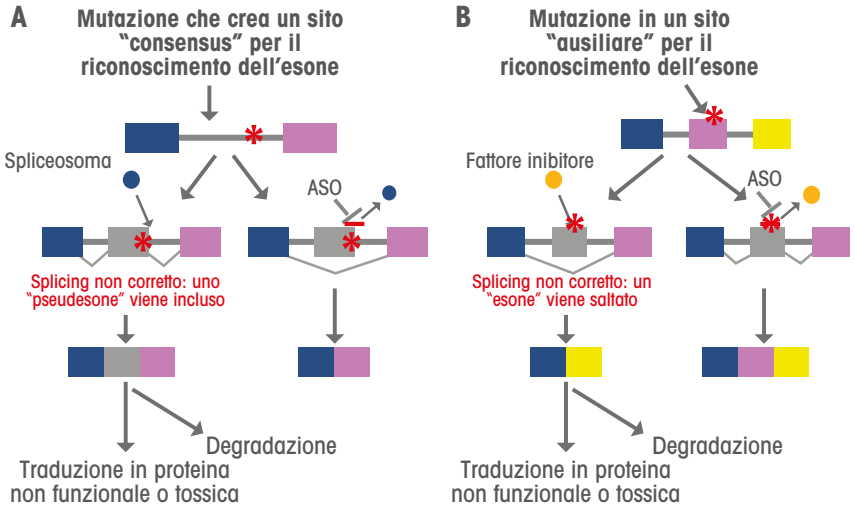
complesso multi-proteico chiamato "spliceosoma". L'accuratezza dello *splicing* è garantita dalla presenza di elementi che agiscono in cis e da fattori che agiscono in *trans*.

Moltissimi studi sull'argomento hanno permesso di accertare che il riconoscimento corretto degli esoni-introni richiede la presenza di alcune sequenze conservate, i siti di *splicing* 5' e 3', localizzati nelle regioni di confine tra esoni ed introni (Fig. 1), il sito di ramificazione (BPS), il tratto polipirimidinico (PPT). L'identificazione degli esoni ed il loro corretto processamento durante lo *splicing* richiede inoltre la presenza di sequenze "addizionali" localizzate sia a livello intronico che esonico: *exonic* o *intronic splicing enhancers* (ESE o ISE) e *exonic* o *intronic splicing silencers* (ESS o ISS).

Queste sequenze addizionali svolgono un ruolo cruciale nell'aiutare il lavoro dello *spliceosoma* a riconoscere correttamente chi è un esone e chi un introne.

Una delle cause più frequenti di molte malattie umane è l'occorrenza di mutazioni a carico di queste sequenze (Fig. 2B). La presenza di queste mutazioni causa il mancato riconoscimento di queste sequenze da parte dello *spliceosoma* o la creazione di siti di *splicing* anomalo e, quindi, un errato processamento della molecola di pre-mRNA (Fig. 2).

Fig. 2 **Errato processamento del pre-mRNA**



(A) processamento alterato in cui la mutazione crea un sito di splicing anomalo che porta all'inclusione di una porzione intronica all'interno del mRNA maturo. In presenza dell'ASO di sequenza complementare alla regione mutata viene bloccato il legame dei componenti dello spliceosoma e, quindi, la sua mancata inclusione.

(B) processamento alterato in cui non tutti gli esoni sono riconosciuti correttamente a seguito della presenza di una mutazione che ha inibito il riconoscimento di un esone da parte dello spliceosoma. In presenza di ASO di sequenza complementare al sito di riconoscimento di un fattore inibitore delle splicing viene bloccato il legame di questo fattore favorendo l'inclusione dell'esone.

Alternative terapeutiche

Diverse strategie sono state sviluppate con l'obbiettivo di ripristinare lo *splicing* dei trascritti mutati (1). Tra loro, il metodo più studiato è rappresentato dall'utilizzo di oligonucleotidi antisenso (ASO) e prevede l'uso di piccole sequenze nucleotidiche (20-30 nt) che agiscono mediante il loro legame a sequenze complementari presenti nel RNA bersaglio.

Gli oligonucleotidi antisenso sono piccole sequenze nucleotidiche disegnate per bloccare il legame di fattori di *splicing* al pre-mRNA in modo di restaurare lo *splicing* corretto

Gli ASO vengono disegnati con l'obbiettivo di bloccare il legame di fattori di *splicing* al pre-RNA in modo da restaurare il profilo di *splicing* corretto. Mediante questa strategia è possibile inibire sequenze mutate che portano alla creazione di siti di *splicing* anomalo e, quindi, portano all'inclusione di porzioni di introni (pseudoesoni) all'interno del mRNA o bloccare il riconoscimento di fattori enhancer o inibitori ESS o ISS (Fig. 2).

I risultati ottenuti utilizzando questo tipo di approccio sia in modelli cellulari che animali hanno fornito le basi per l'utilizzo di questa metodica in umani. Al momento, diversi trial clinici sono tuttora in corso ed i progressi terapeutici più importanti sono stati ottenuti nell'ambito delle malattie neuromuscolari. Ad esempio, gli ASO eteplirsen, disegnato per promuovere lo skipping dell'esone 51 della distrofina e nusinersen, disegnato per favorire l'inclusione dell'esone 7 della SSM2 sono stati recentemente approvati dall'FDA per il trattamento di pazienti affetti da Distrofia Muscolare di Duchenne (DMD) (2) e Atrofia Muscolare Spinale (SMA) (3), rispettivamente.

Nonostante questi risultati siano molto incoraggianti, è indispensabile sviluppare sistemi di trasferimento del farmaco all'interno delle cellule più efficienti e specifici.

Errori nel processo di mRNA *splicing* del gene GAA

La malattia di Pompe è una malattia ereditaria autosomica recessiva caratterizzata dall'accumulo lisosomiale di glicogeno, principalmente a livello del tessuto muscolare scheletrico e cardiaco, causato dal deficit dell'enzima responsabile della sua degradazione, la alfa-glucosidasi acida (GAA). L'incidenza di questa patologia è stimata in 1 su 14.000/250.000 neonati, e dal punto di vista clinico, viene suddivisa in forma ad esordio infantile (IO) e forma ad esordio tardivo (LO).

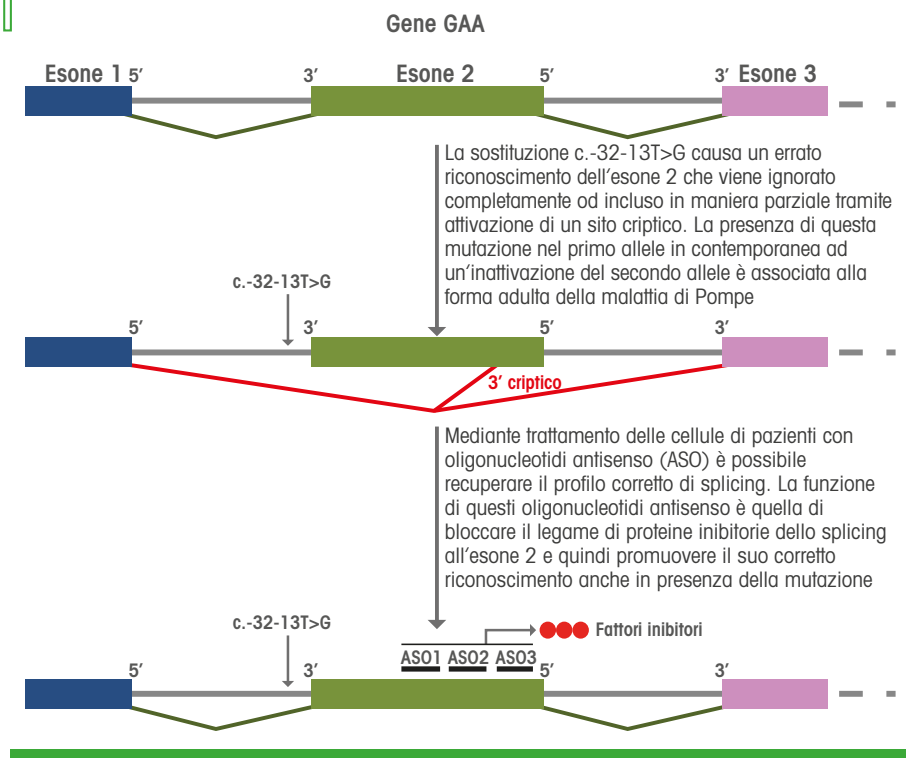
Ad oggi sono stati descritti piu di 500 mutazioni del gene GAA in pazienti affetti da questa patologia. In genere, queste mutazioni sono ristrette ad un numero molto limitato di individui, con pochissime eccezioni.

Una di queste eccezioni è rappresentata dalla mutazione c.-32-13T>G presente nell'introne 1 del gene GAA umano. Questa mutazione è l'alterazione più frequente nei pazienti caucasici affetti dalla forma ad esordio tardivo della malattia di Pompe ed interessa circa il 40-70% degli alleli. Quindi, circa il 90 % dei pazienti affetti da questo fenotipo clinico presentano la mutazione c.-32-13T>G in almeno un allele.

E' stato descritto in un lavoro del nostro laboratorio (4) che questa mutazione altera il legame del fattore di *splicing* U2AF65 al tratto polipirimidinico del 3' ss dell'esone 2, portando alla sua esclusione parziale o totale dall'mRNA (Fig. 2).

La rottura della corretta cornice di lettura dell'mRNA, dovuta allo *skipping* dell'esone 2, determina una produzione insufficiente dell'enzima alfa-glucosidasi acida *wild-type* con conseguente accumulo di glicogeno nei lisosomi.

Fig. 3 **Schema del profilo di *splicing* dell'esone 2 del gene GAA in presenza ed assenza della mutazione c.-32-13T>G e del suo recupero in seguito al trattamento con oligonucleotidi antisenso capaci di bloccare il legame di fattori inibitori dello *splicing***



Gli ASO si sono rivelati una strategia di successo per il recupero del corretto profilo di *splicing* in cellule di pazienti affetti da malattia di Pompe con mutazione c.-32-13T>G

Recupero della corretta inclusione dell'esone 2 in presenza della mutazione c.-32-13T>G mediante l'utilizzo di oligonucleotidi antisenso (ASO)

Con l'obiettivo di esplorare se l'utilizzo di ASO possa rappresentare una strategia possibile per il recupero del profilo di *splicing* corretto nei pazienti che presentano la mutazione c.-32-13T>G, abbiamo prima identificato all'interno dell'esone 2 delle sequenze inibitorie della sua inclusione all'interno del mRNA maturo (5). Una volta identificate, sono stati disegnati 3 ASO (AS1-3) complementari a queste sequenze con l'obiettivo di bloccare il riconoscimento di questa zona da parte dei fattori inibitori che si legano ad essa (Fig. 3). Il successo di questa strategia è stato evidenziato dal fatto che il trattamento di mioblasti di paziente con questi ASO ha portato ad una riduzione significativa dell'accumulo di glicogeno in queste cellule (5).

Ulteriori sperimentazioni indirizzate ad ottenere sistemi di trasferimento degli ASO efficienti e sicuri sono in corso per poter applicare questo approccio in una direzione compatibile con la clinica.

Bibliografia

1. Wood M, Yin H, McClorey G Modulating the expression of disease genes with RNA-based therapy. PLoS Genet. 2007; 3(6):e109. Review.
2. Syed, YY. Eteplirsen: First global approval. Drugs, 2016; 76; 1699–1704.
3. Finkel RS, Chiriboga CA, Vajsar J, et al. Treatment of infantile-onset spinal muscular atrophy with nusinersen: A phase 2, open-label, dose-escalation study. Lancet, 2016; 388, 3017–3026.
4. Dardis A, Zanin I, Zampieri S, et al. Functional characterization of the common c.-32-13T>G mutation of GAA gene: identification of potential therapeutic agents. Nucleic Acids Res, 2014; 42(2): 1291-1302.
5. Goina E, Peruzzo P, Bembi B, et al. Glycogen Reduction in Myotubes of Late-Onset Pompe Disease Patients Using Antisense Technology. Mol Ther. 2017; 25 (9):2117-2120 doi:10.1016/j.ymthe.2017.05.019.

letteratura

Annalisa Sechi
Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, AOU Santa Maria della Misericordia, Udine

Favourable effect of early versus late start of enzyme replacement therapy on plasma globotriaosylsphingosine levels in men with classical Fabry disease

Arends M, Wijburg FA, Wanner C, Vaz FM, van Kuilenburg ABP, Hughes DA, Biegstraaten M, Mehta A, Hollak CEM, Langeveld M. Mol Genet Metab. 2017 Jun;121(2):157-161

La malattia di Fabry nella sua forma classica colpisce gli individui di sesso maschile con attività enzimatica residua dell'alfagalattosidasi nulla o molto ridotta. Clinicamente i pazienti presentano una sintomatologia multisistemica progressiva che comprende cornea verticillata, angiocheratomi, dolore neuropatico, nefropatia e vasculopatia. La globotrialosilsfingosina (lysoGb3) è un marker di malattia che risulta molto elevato nelle forme classiche non trattate. Gli autori hanno ipotizzato che i livelli di lysoGb3 in corso di terapia enzimatica sostitutiva potessero avere un andamento diverso a seconda della tempistica di inizio della terapia (precoce o tardiva).
Nello studio sono stati inclusi 85 pazienti con Fabry classico, suddivisi in 2 gruppi: 21 che avevano iniziato la terapia prima dei 25 anni di età e 64 che avevano iniziato la terapia successivamente.
Risultati: in entrambi i gruppi c'è stato un calo della lysoGb3 dopo l'inizio della terapia enzimatica, con una riduzione dopo il primo anno di terapia significativamente maggiore nei pazienti del gruppo in trattamento precoce rispetto al gruppo messo in terapia tardivamente. Il primo gruppo inoltre presentava una minor produzione di anticorpi inattivanti nei confronti del farmaco.
Questo studio dimostra che i pazienti che iniziano il trattamento in età più giovane hanno una migliore risposta dal punto di vista biochimico.

Commento

L'argomento "quando iniziare la terapia enzimatica sostitutiva (TES) nelle malattie lisosomiali" è molto dibattuto. Numerosi studi su diverse patologie, in particolare sulla malattia di Pompe e la malattia di Fabry, dimostrano che se si inizia il trattamento quando il paziente presenta un danno d'organo importante, la malattia va comunque inesorabilmente avanti portando il paziente ad una disabilità grave o alla morte. Tutti gli esperti concordano pertanto sul fatto che la terapia andrebbe iniziata il più presto possibile, l'interpretazione però del "presto" è variabile. Cosa fare nei pazienti che hanno la malattia diagnosticata su base genetica ma non presentano ancora sintomi? Da un lato è probabile che la terapia sia più efficace se iniziata in fase pre-sintomatica ed esistono studi fatti su piccoli gruppi che indicano che i pazienti trattati precocemente mantengono un livello di malattia clinica assente o lieve anche a distanza di numerosi anni. Dall'altro mancano studi su popolazioni numerose che abbiano un gruppo di controllo non trattato per avere conclusioni solide in merito. Tenuto conto che le terapie enzimatiche sostitutive sono altamente costose e comportano per il paziente un'iniezione endovenosa ogni 15 giorni, con possibile impatto sulla qualità di vita, non si può ignorare il rischio di trattare persone asintomatiche senza avere evidenze solide che questo possa migliorare la loro vita futura.
La consensus dell'European Fabry Working Group del 2015 raccomanda di iniziare la terapia in presenza di segni iniziali di malattia cardiaca, renale o cerebrale. È curioso notare che gli autori dello studio sopra riportato, che dimostra dal punto di vista biochimico che la terapia è tanto più efficace quanto più si inizia in età precoce, appartengano al gruppo che ha sottoscritto la consensus; che stiano cambiando idea?

Retrospective study of long-term outcomes of enzyme replacement therapy in Fabry disease. Analysis of prognostic factors

Arends M, Biegstraaten M, Hughes DA, Mehta A, Elliott PM, Oder D, Watkinson OT, Vaz FM, van Kuilenburg ABP, Wanner C, Hollak CEM. PLoS One. 2017 Aug 1;12(8):e0182379

La risposta alla terapia enzimatica sostitutiva (TES) nella malattia di Fabry è variabile da un paziente all'altro. Lo scopo di questo studio è stato quello di valutare l'influenza delle caratteristiche di malattia, delle comorbilità, degli altri fattori di rischio cardiovascolari e delle terapie concomitanti, sugli effetti della TES nel Fabry. A tal scopo sono stati valutati retrospettivamente i dati di un registro internazionale, includente 293 pazienti provenienti da 3 paesi europei (Olanda, UK, Germania), in TES da almeno 9 mesi, con un follow up medio di 7 anni.

Sono risultati fattori prognostici negativi indipendenti la presenza al baseline di eGFR < 60 ml/min e proteinuria, in misura minore la fibrosi cardiaca, l'ipertensione e l'aumento dei trigliceridi. All'interno del gruppo studiato il 34.8% dei pazienti ha avuto un evento clinico maggiore (renale, cardiaco o cerebrale) nonostante la terapia. Il rischio di sviluppare una complicanza clinica raddoppiava ogni 10 anni di età. I pazienti che avevano già avuto un evento cerebrale maggiore in passato avevano un rischio triplicato di averne un altro. Nei pazienti con ipertrofia cardiaca la TES riduceva la massa cardiaca durante il primo anno e la manteneva stabile successivamente, con effetto tanto maggiore quanto maggiore era l'ipertrofia al baseline, la malattia però aveva una rapida progressione in presenza di fibrosi miocardica. Il 46% dei pazienti che non avevano fibrosi al baseline l'hanno sviluppata negli anni successivi.

Gli autori concludono che l'effetto della TES è limitato nei pazienti che hanno funzionalità renale ridotta, proteinuria o fibrosi cardiaca.

Commento

La terapia enzimatica sostitutiva nei pazienti Fabry già sintomatici presenta diversi limiti. Questo studio individua oltre all'età, al sesso maschile e al fenotipo classico, gli altri fattori di rischio di una rapida progressione di malattia di Fabry nonostante la TES. In particolare la funzionalità renale al baseline sembra essere il più importante fattore predittivo dell'outcome generale. La malattia renale già instaurata, anche se moderata, sembra pertanto rappresentare un importante fattore di resistenza alla terapia. Al contrario l'ipertrofia cardiaca risponde bene alla TES, se non si è ancora sviluppata una fibrosi.

Come detto sopra, l'ideale sarebbe iniziare la terapia in epoca precoce, ma cosa si può fare per quei pazienti in cui la diagnosi arriva tardivamente? Sicuramente oltre alla TES vanno trattate al meglio le comorbilità. Questo studio evidenzia come l'ipertensione e la dislipidemia siano 2 fattori che si associano ad un outcome peggiore e non vanno pertanto sottovalutati. Studi precedenti hanno dimostrato che il trattamento con ACE inibitori o sartanici in combinazione con la TES può migliorare l'outcome renale (Warnock DG et al. et al 2015). Mancano ancora invece studi sull'utilità degli antiaggreganti in prevenzione primaria nei pazienti Fabry.

A systematic review on screening for Fabry disease: prevalence of individuals with genetic variants of unknown significance

van der Tol L, Smid BE, Poorthuis BJ, Biegstraaten M, Deprez RH, Linthorst GE, Hollak CE. J Med Genet. 2014 Jan;51(1):1-9

Gli studi di screening sul Fabry individuano un alto numero di soggetti con varianti genetiche di significato sconosciuto (VGSS) nel gene GLA. Questi individui potrebbero presentare clinicamente una forma classica di malattia, avere una forma non-classica o non avere per niente la malattia. Lo scopo di questo studio è stato quello di definire la prevalenza dei casi di VGSS e dei casi di malattia classica all'interno dei pazienti individuati con gli screening pubblicati in letteratura.

Sono stati analizzati 51 studi di screening, 45 fatti su popolazioni a rischio (nefropatici o vasculopatici) e 6 su neonati. La prevalenza di VGSS nel primo tipo di studi era dello 0.62%, con una forma classica di malattia dello 0.12%, la prevalenza di VGSS negli screening neonatali era pari allo 0.04%.

Gli autori propongono un algoritmo per valutare i pazienti con VGSS individuati negli screening su popolazioni a rischio, che include in primis un'attenta valutazione clinica e la storia familiare. Se il paziente non presenta segni caratteristici di malattia classica (angiocheratomi, cornea verticillata, acroparestesie) e non ha una storia familiare positiva si parla di "diagnosi incerta di Fabry" che andrebbe verificata tramite analisi enzimatica (per i maschi), dosaggio della lysoGb3, valutazione degli organi malati possibilmente tramite biopsia e microscopia elettronica per dimostrare l'accumulo di Gb3.

Commento

Dopo l'avvento della terapia enzimatica sostitutiva gli studi di screening sulla malattia di Fabry sono aumentati in maniera esponenziale. Questi studi rivelerebbero una prevalenza di malattia molto superiore rispetto a quella precedentemente calcolata, passando da 1:40000 a 1:1250; non si tratterebbe per cui neanche più di una malattia rara. Valutando con attenzione i dati di questi studi emerge però come tanti individui che risultano positivi allo screening siano portatori di VGSS. Distinguere i veri pazienti da coloro che sono semplicemente portatori di varianti genetiche benigne è fondamentale per vari motivi. Avere una diagnosi certa comporta una corretta consulenza genetica (ricordiamo che dietro un paziente Fabry c'è sempre una famiglia Fabry) e l'impostazione di cure e controlli adeguati. Occorre evitare che si etichettino come malate popolazioni sane (nel caso degli screening neonatali) o che ci si fermi erroneamente alla diagnosi di Fabry quando il motivo di malattia è un'altro (negli studi fatti su popolazioni a rischio).

Questa rewiew molto interessante dimostra come su 28165 persone screenate per Fabry, 174 risultavano positive, ma di queste solo 33 avevano la forma classica di malattia, mentre gli altri presentavano una VGSS. Questo significa che per ogni paziente certo individuato ci sono 5 individui che richiedono ulteriore inquadramento prima della diagnosi di malattia. L'algoritmo proposto per individuare i veri pazienti appare ragionevole, ma tiene conto solo dei casi emersi dagli screening su popolazioni a rischio. Cosa si può fare per quei casi individuati tramite screening neonatale che portano una VGSS? Al momento questi bambini rischiano di crescere come "sorvegliati speciali", con il bagaglio d'ansia che questo comporta per la famiglia, con la reale possibilità che si tratti di non-pazienti. Un'ampia riflessione collegiale andrebbe fatta sulle politiche di screening per tutelare la popolazione da una medicina predittiva basata sulla genetica, che presenta ancora tanti punti di incertezza.

Arrigo Schieppati
Responsabile dell'Unità Semplice Dipartimentale di Malattie Rare, ASST Papa Giovanni XXIII, Bergamo

ERKnet: la Rete Europea delle Malattie Renali Rare

ERKnet è il nome attribuito alla Rete Europea delle Malattie Renali Rare, che si è venuta costituendo nel corso del 2016 per rispondere al bando della Comunità Europea che lanciava finalmente la creazione delle Reti Europee di Riferimento (ERN).
Come è noto, il processo di costituzione delle ERN è stato complesso e laborioso, ma ha portato alla fine al riconoscimento di 24 network tematici, che includono praticamente tutte le aree della medicina.
Le diverse malattie renali hanno quasi tutte una prevalenza che consente di farle rientrare nella definizione di malattia rara della Comunità Europea, e dunque in un certo modo per i nefrologi non è stato difficile trovarsi d'accordo nella costituzione di una ERN dedicata a queste malattie. Un numero sempre maggiore di nefropatie viene riconosciuto avere una causa genetica, e questo fa sì che nel processo di costituzione della ERN siano state coinvolte diverse professionalità: clinici, patologi, genetisti. Nel complesso poi la nascita della rete ha visto la partecipazione quasi equivalente di centri di nefrologia pediatrica e dell'adulto.
La creazione della ERKnet ha anche tratto vantaggio dalle esperienze di collaborazione che i nefrologi europei hanno messo in campo negli anni, un esempio per tutti EuRenOmics, un consorzio di 17 istituzioni accademiche europee, di 9 piccole/medie imprese e di un partner accademico USA, dedicato allo sviluppo di progetti di ricerca su un gruppo di malattie renali rare.

Tra gli obiettivi, sviluppare percorsi diagnostico-terapeutici, mantenere registri, sviluppare nuovi strumenti di analisi virtuale

Sebbene EuRenOmics sia un progetto essenzialmente orientato alla ricerca, ciò non di meno – insieme ad altri preesistenti progetti/iniziative europee, come ad esempio il Working Group Inherited Kidney Disorders dell'EDTA-ERA (European Dialysis Transplantation Association – European Renal Association) – ha costituito una preziosa piattaforma da cui partire per costituire la ERN, che ha invece finalità prevalentemente assistenziali.
Il coordinamento di ERKnet è stato assunto dal professor Franz Schaefer, direttore della Divisione di Nefrologia Pediatrica dell'Ospedale di Heidelberg.
Hanno aderito alla rete 38 centri ospedalieri in 12 paesi europei. Sono coinvolti 28 centri di pediatria e 22 di nefrologia dell'adulto. In complesso a questi centri afferiscono un numero di pazienti stimato intorno a 43 mila persone.
Alcuni paesi sono presenti con più centri. Appartengono alla rete 6 centri in Germania, 5 in Francia e Gran Bretagna (*NdR: il destino dei centri britannici dopo la Brexit, che è stata decisa dopo l'adesione al bando della CE, in questa come in altre ERN è ancora tutto da definire*), 3 in Olanda, 2 in Belgio e infine 1 in Spagna, Svezia, Finlandia, Polonia e Cekia.
Sorprendente è stata il contributo italiano alla na-

scita di questo network: il nostro Paese è rappresentato da 11 centri (Padova, Bergamo, Milano, Torino, Genova, Firenze, Siena, Roma-Gemelli, Roma-Bambino Gesù, Napoli-Seconda Università, Napoli-Santobono), di cui 6 sono centri pediatrici e 5 dell'adulto. Si può notare che la distribuzione dei centri italiani permette una adeguata accessibilità nelle diverse aree del paese, pur con una maggiore concentrazione di centri al Nord. ERKnet, che ha tenuto ad Heidelberg il 23 e 24 Maggio 2017 il suo "kickoff meeting", si è data una struttura molto precisa ed articolata. Al vertice della struttura si sono costituiti un Network Advisory Board, una Segreteria del Coordinamento, e un Executive Board. Il cuore del network è costituito da 10 Working Groups (WG), che sono dedicati ciascuno ad un gruppo di malattie renali. La tabella 1 descrive le aree tematiche in cui sono suddivisi i Working Group e il numero di centri partecipanti in ognuno di essi. Questi WG – a cui partecipano gli specialisti di ogni centro che ha interesse e competenza alla diagnosi e terapia di un dato gruppo di malattie – avranno il compito di realizzare gli obiettivi del network che sono:

1. l'adozione e lo sviluppo di linee guida e di percorsi diagnostico terapeutici
2. lo sviluppo e il mantenimento di registri di pazienti, quali strumenti per monitorare le performance e gli outcome del network
3. la proposta di corsi ECM, Webinar e altri mezzi di eLearning
4. lo sviluppo di strumenti per realizzare una attività di consultazione virtuale, che consenta di mettere a disposizione di tutti i pazienti nefropatici le conoscenze e le competenze degli specialisti del network
5. la proposta di progetti di ricerca clinica sia tra i centri partecipanti al Network che con altri soggetti.

Alla creazione dei 10 WG tematici, si affiancano 7 Task Force, che hanno un taglio trasversale rispetto ad essi, incentrati su un gruppo specifico di malattie renali.

Le Task Force forniranno ai WG gli strumenti, per implementare i loro obiettivi in merito a diagnostica molecolare, patologia renale e imaging, registri di patologia, educazione e training, ricerca, linee guida, e agli aspetti molto delicati della transizione tra età pediatrica ed età adulta. In tutte le strutture del Network sono poi presenti rappresentanti dei pazienti. L'intero progetto delle ERN è nato infatti con il contributo sostanziale delle Associazioni dei pazienti che dunque saranno coinvolte in tutte le fasi dello sviluppo di ERKnet. Infine data la natura delle malattie renali rare, le cui basi fisiopatologiche dipendono in prevalenza da alterazioni genetiche o da malattie immunologiche, è prevedibile che ERKnet stabilirà contatti e scambi con altre ERN, come ad esempio RITA (malattie autoimmuni), VASCern (malattie vascolari multisistemiche), MetabERN (malattie metaboliche ereditarie), TRANSCHILD (il network dedicato ai trapianti d'organo nel bambino). Un grande e interessante lavoro attende dunque i membri di ERKnet, con prospettive di sviluppo ora forse solo immaginate.

C'è quindi molto entusiasmo nell'iniziare per questa impresa, anche se nessuno nasconde una altrettanto importante preoccupazione. Il progetto è al momento sostanzialmente privo di un finanziamento se non per il coordinamento dell'ERN, ma non per le attività. La sostenibilità di tutta l'impresa è quindi una bella sfida per tutti.

Tab. 1 **Working Group: aree tematiche e centri**

Manifestazioni neurologiche	Centri di riferimento
• Glomerulopatie ereditarie	29
• Glomerulopatie immunologiche	27
• Displasie renali autosomiche dominanti	25
• Microangiopatie trombotiche	24
• CAKUT* e ciliopatie	21
• Insufficienza renale cronica del bambino	20
• Trapianto renale nel bambino	19
• Nefropatie metaboliche	18
• Tubulopatie	17
• Uropatie ostruttive	17

* CAKUT: Congenital Abnormalities of Kidney and Urinary Tract

Coinvolti clinici, patologi e genetisti in una rete dalla struttura molto articolata



Ricordiamo con stima e affetto la Dottoressa Silvana Penco che ad aprile 2017 ci ha lasciato. Laureatasi in Scienze Biologiche nel 1989 presso l'Università di Genova, ha conseguito nel 1994 il Dottorato di Ricerca in "Biologia umana: basi cellulari e basi molecolari" e nel 1998 il Diploma di Specializzazione in Genetica Medica. E' stata vincitrice di diverse borse di studio e ha effettuato inoltre alcune esperienze di ricerca scientifica all'estero, presso l'Institut de Chimie Biologique della Facoltà di Medicina di Strasburgo e presso il Department of Human Genetics, Roche Molecular System di Alameda, in California.

Inizia la sua attività di genetista nel 2000 presso il Servizio di Genetica Medica dell'Ospedale Niguarda Ca' Granda di Milano, di cui diventa responsabile nel 2012. Qui ha coordinato l'attività di genetica medica molecolare e di consulenza genetica e ha introdotto un servizio di neurogenetica che prevede un approccio multidisciplinare, in collaborazione con neurologi, neuroradiologi, neurochirurghi e psicologi. Sempre nel 2012 diventa referente per la genetica delle malattie rare del gruppo Malattie Rare dell'ospedale, coordinato dalla dott.ssa E. De Juli. Ha contribuito alla stesura di vari Percorsi Diagostico-Terapeutici Assistenziali (PDTA) per la sclerosi laterale amiotrofica, le malformazioni cavernose cerebrali, l'albinismo e nel campo delle dislipidemie.

Costante e intenso è stato il suo impegno nelle attività di docenza e tutoraggio per stage/tirocini sia nell'ambito di Corsi di Laurea di I e II livello, che presso Scuole di Specializzazione.

Grazie al suo profondo interesse nei confronti della ricerca e alle collaborazioni scientifiche nazionali ed internazionali intraprese nel corso della sua carriera, è stata autrice/co-autrice di oltre 100 pubblicazioni apparse su interviste internazionali di prestigio, rappresentando quindi una figura importante ed innovativa nel panorama della ricerca genetica italiana.

La ricordiamo per la sua estrema disponibilità, comprensione e il suo contagioso entusiasmo mostrato nei confronti dei pazienti e dei suoi collaboratori, tali da renderla un insostituibile punto di riferimento professionale.



ANNO I - N. 3 OTTOBRE 2017
QUADRIMESTRALE DI ATTUALITA' IN MEDICINA

ISBN: 9788899343361

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.



Malattie rare.
Perchè per noi ogni paziente è unico.

Grazie ad una ricerca scientifica all'avanguardia, **Amicus Therapeutics** rappresenta oggi una realtà importante nel panorama delle società operanti nel settore delle biotecnologie.

Amicus Therapeutics sviluppa infatti terapie innovative per il trattamento delle malattie rare.

L'attenzione che poniamo quotidianamente ai nostri pazienti si riflette nell'impegno profuso nell'individuare trattamenti mirati e nella volontà, da parte dell'azienda, di collaborare fattivamente con le associazioni pazienti e con i caregivers per assicurare il massimo sostegno possibile nell'affrontare la malattia.

AMC/NP/002/MAG17

Amicus Therapeutics®

www.amicusrx.it

IL VALORE DELLA RICERCA, L'ATTENZIONE PER I PAZIENTI.

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