ISSN: 2612-2588

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 IV - n. 1 febbraio 2020

MR la Rivista

La Rivista Italiana delle Malattie Rare



review

Pazienti "Undiagnosed" in Italia: una ricognizione dei progetti in corso

Bassa statura e sindromi rare

l'opinione

Le malattie rare senza diagnosi: iniziative e prospettive

il caso clinico

L'alfa-Mannosidosi: diagnosi, terapia e follow up

Pemfigoide delle membrane mucose

pagina dismorfologica

Una condizione ultra rara da scoprire: la sindrome di Kleefstra

il farmaco

L'accesso ai farmaci per MR: l'esperienza di Regione Lombardia

RARE DISEASE DAY®



MALATTIE RARE

IL NOSTRO IMPEGNO PER COLORARE 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 innovative 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 della loro famiglia.

www.pfizer.it



sommario

editoriale

Storie di nicchia ed equità nelle malattie rare *B. Bembi* 5

review

Pazienti "Undiagnosed" in Italia: una ricognizione dei progetti in corso *A. Selicorni, M. Mariani* 7

Bassa statura e sindromi rare *G. Scarano, M. Falco, F. Scarano, P. Fontana, F. Lonardo* 12

l'opinione

Le malattie rare senza diagnosi: iniziative e prospettive *G. Andria* 19

il caso clinico

L'alfa-Mannosidosi: diagnosi, terapia e follow up *I. Bruno* 24

Pemfigoide delle membrane mucose *E. Rubini, P.G. Arduino, F. Machetta, E. Sarnicola, K. Giancaspero, E. Foddai, G. Caputo, S. Baldovino* 27

pagina dismorfologica

Una condizione ultra rara da scoprire: la sindrome di Kleefstra *C. Armano, P. Cianci, A. Selicorni* 30

il farmaco

L'accesso ai farmaci per MR: l'esperienza di Regione Lombardia *M. Medaglia* 34

letteratura

Malattie rare non diagnosticate *R. Parini, E. Daina* 37

la voce delle associazioni

EURORDIS Rare Diseases Europe: la voce dei malati rari e dei loro familiari in Europa *S. Bellagambi* 41

direttore scientifico

Bruno Bembi
Medico Pediatra e Genetista, Trieste

comitato di redazione

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

Daniela Damiani Professore Associato di Ematologia, Dipartimento di Scienze Mediche Sperimentali e Cliniche, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata di Udine

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

Andrea Elena Dardis Responsabile Laboratorio, Centro di Coordinamento Regionale per le Malattie Rare, Azienda Sanitaria Universitaria Integrata di Udine

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

Massimo Medaglia Direttore S.C. Farmacia, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

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

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

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

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

collaboratori

Generoso Andria, Napoli; **Maurizio Averna**, Palermo; **Simone Baldovino**, Torino; **Tommaso Beccari**, Perugia; **Andrea Bordugo**, Verona; **Marco Confalonieri**, Trieste; **Carlo Dionisi Vici**, Roma; **Vincenzo Leuzzi**, Roma; **Tiziana Mongini**, Torino; **Giancarlo Parenti**, Napoli; **Luca Sangiorgi**, Bologna; **Gioacchino Scarano**, Benevento; **Maurizio Scarpa**, Udine; **Antonio Toscano**, Messina; **Giuseppe Zampino**, Roma

norme per gli autori

I contributi spontanei (titolo e scaletta contenutistica) dovranno essere inviati esclusivamente via e-mail, alla Segreteria di Redazione di MR (arianna.nespolon@medpointsrl.it). Il Comitato di Redazione si riserva di valutarne la pubblicazione sulla testata, dandone pronto riscontro all'Autore.

per richiedere MR

Volete richiedere la Rivista Italiana delle Malattie Rare? Collegandovi alla sezione dedicata del sito **http://www.malattierare.eu/pages/richiediRivista** potrete accedere al modulo da compilare per ricevere gratuitamente la rivista al vostro indirizzo.

MR la Rivista
La Rivista Italiana delle Malattie Rare



Storie di nicchia ed equità nelle malattie rare



Bruno Bembi
Medico Pediatra
e Genetista, Trieste

Iniziamo il 4° anno di attività tosti ed indomiti come sempre, come deve essere chi si avventura nella ricerca di una nuova vita. Alla fine è proprio questo il tema del nostro percorso: scoprire strade percorribili per favorire nuove vite.

Il 2019, anno per molti aspetti difficile, ha aperto una finestra in questa direzione: la terapia genica nella SMA. E' infatti il 24 maggio quando Ned Sharpless, portavoce della Food and Drug Admnistration, annuncia l'approvazione della messa in commercio di un farmaco dal nome raramente difficile: onasemnogene abeparvovec-xioi. E' un nome da "guerre stellari", è il nome di un farmaco "cambia vita", perché fa sperare in una svolta epocale per le aspettative di vita di bambini fino ad oggi privi di speranza. Un farmaco che molti anni dopo il successo isolato nella SCID mostra l'efficace praticabilità della terapia genica. Purtroppo però c'è sempre un "ma", anche questa volta etico-economico: come mantenere il welfare sanitario e la sostenibilità dei costi. Sarà un nostro leitmotiv nel 2020.

Iniziamo in questo numero, analizzando da una parte il tema delle malattie rare undiagnosed e dei programmi di ricerca correlati e dall'altra quello dell'organizzazione dell'accesso ai trattamenti nelle reti regionali delle malattie rare. Il primo tema ci viene proposto da due voci note alla comunità dei "rari" d'Italia, Angelo Selicorni e Generoso Andria, il secondo porta in contributo una new-entry, il dr. Massimo Medaglia, cui diamo un caldo benvenuto e affidiamo il compito di sviluppare una nuova pagina della Rivista, quella del "farmaco".

In questa apertura d'anno accogliamo, e speriamo di venire a nostra volta accolti, la voce di Eurordis che attraverso Simona Bellagambi ci porta nel mondo delle iniziative europee della rete dei pazienti. A questo proposito, non riesco a sorvolare sulla Brexit, avvenimento che potrebbe avere ripercussioni pesanti per i malati rari del Regno Unito. Non so come Eurordis abbia affrontato il tema, ma un invito forte è quello a mantenere i ponti di comunicazione e di vita, così faticosi da costruire.

In chiusura voglio ricordare una storia di "nicchia", tipicamente italiana. La storia è quella di Amalia Bruni, donna, medico e scienziata che a Catanzaro (in Calabria, Regione di cui ho il ricordo di una costante assenza dai tavoli istituzionali per le malattie rare) ha costruito il Centro Regionale di Neurogenetica, una realtà dedicata allo studio delle patologie rare neurodegenerative riconosciuta internazionalmente, che per premio viene ora cancellata con italica sensibilità.

Ad Amalia, cui chiediamo di resistere e invitiamo a raccontarci i suoi risultati in uno dei prossimi numeri, voglio dire che noi saremo al suo fianco contro un degrado culturale che sembra essere una iattura per l'Italia di questi anni.

Allo sforzo e all'impegno di tutte le persone attive nel campo delle malattie rare dedichiamo questo numero della Rivista nella 13ª Giornata Internazionale delle Malattie Rare, quest'anno dedicata al tema "dell'Equità come accesso a pari opportunità per valorizzare il potenziale delle persone con una malattia rara".

Diamo forma al futuro



0500005571

Sfidiamo il presente perché l'eccellenza nella ricerca è un fiore raro, che facciamo crescere giorno dopo giorno con impegno e passione

Chiesi

Rare Diseases

www.chiesi.it

MR La Rivista Italiana delle Malattie Rare

Pazienti "Undiagnosed" in Italia: una ricognizione dei progetti in corso



Angelo Selicorni, Milena Mariani
UOC Pediatria ASST Lariana

L'esperienza clinica quotidiana insegna che esiste una quota estremamente rilevante di pazienti che, pur essendo affetti da quadri clinici complessi, a coinvolgimento multi-sistemico, spesso associati a problemi assistenziali consistenti e a disabilità intellettiva, non riescono ad ottenere una classificazione diagnostica clinica e/o genetica definitiva.

Secondo Shashi et al. meno della metà dei pazienti che eseguono valutazioni specialistiche di genetica medica riescono a raggiungere una diagnosi attraverso l'iter diagnostico tradizionale.

Questi pazienti hanno effettuato percorsi estremamente dettagliati fatti di ricoveri ospedalieri, visite specialistiche, esami strumentali più o meno invasivi risultati infruttuosi così come sono stati sottoposti a test genetici metabolici multipli anch'essi risultati non conclusivi.

Questo percorso, sofferto, faticoso, articolato e costoso in termini di sanità pubblica, è ciò che i pazienti e/o i loro familiari definiscono "Odissea diagnostica".

Dati della letteratura indicano un tempo medio di 6-7 anni per il raggiungimento di una diagnosi di malattia rara negli USA e di 5-6 in UK. A rendere ragione delle difficoltà diagnostiche segnalate va ricordata l'esistenza non rara (3-7%) di pazienti il cui fenotipo è la risultante di più difetti monogenici concomitanti oltre ai quadri secondari a varianti di più geni (ereditarietà oligogenica) influenzanti il fenotipo in modo combinato. È ben risaputa l'estrema utilità pratica di una diagnosi definitiva corretta in termini di prognosi, di potenziale trattamento farmacologico/dietetico, di approccio clinico (atteggiamento palliativo in caso di neonati affetti da condizioni cliniche a prognosi inequivocabilmente infausta) e di counselling genetico familiare.

Non meno importante l'aspetto emotivo dei genitori/caregiver che in una percentuale non irrilevante di casi (35-40%) possono soffrire di ansia e/o depressione in relazione al quadro di incertezza prognostica relativa alla condizione del figlio. Per affrontare questa tematica a partire dal maggio 2008 sono nati programmi nazionali volti a offrire un approccio sistematico e coordinato a questi pazienti.

Negli USA il National Institute of Health (NIH) ha attivato un "programma Undiagnosed"che, dopo 6 anni di attività intensa, è sfociato nella creazione di un vero e proprio Network nazionale (Undiagnosed Disease Network, UDN) coinvolgente professionisti appartenenti a 13 diverse strutture/istituzioni con expertise in differenti ambiti complementari (genetica clinica, tecnologie multi-omiche, ricerca translazionale). A seguire, in diverse altre nazioni europee e non (Canada, Spagna, Giappone, Corea ecc.) sono stati istituiti programmi dedicati ai pazienti "Undiagnosed".

> Meno della metà dei pazienti affetti da quadri clinici complessi riesce a raggiungere una diagnosi di MR attraverso l'iter diagnostico tradizionale

L'esperienza italiana attualmente vede attivi 3 progetti (tab. 1) facenti capo a Istituto Superiore di Sanità (ISS), Ospedale Pediatrico Bambino Gesù di Roma (OPBG) e Fondazione Telethon (FT), per la cui descrizione abbiamo intervistato i rispettivi responsabili scientifici (Domenica Taruscio, Marco Tartaglia e Vincenzo Nigro).

Quale tipologia di pazienti ha accesso al programma?

ISS: Il programma include sia pazienti

In Italia sono attivi 3 programmi per offrire un percorso diagnostico dedicato a questi pazienti

in età pediatrica che adulti, sia casi familiari che sporadici; in sostanza è rivolto a pazienti che rimangono senza diagnosi certa nonostante una approfondita e dettagliata ricerca da parte dei clinici.

OPBG: Il programma è prioritariamente rivolto ai pazienti pediatrici affetti da malattie "orfane" di diagnosi, ad elevata complessità clinica e assistenziale. In particolare si tratta di pazienti che presentano quadri sindromici associati a deficit cognitivo, nel 50% dei quali non è oggi possibile identificare la causa della malattia. Tuttavia è garantito l'accesso al programma a tutti i pazienti afferenti all'OPBG, "orfani" di diagnosi, che possano trarre beneficio dal raggiungimento di una diagnosi molecolare.

FT: Il programma è rivolto a pazienti pediatrici (<18 anni) con entrambi i genitori non affetti e disponibili al test. I pazienti dovranno avere una patologia grave e non riconoscibile clini-

Tab. 1 **Centri afferenti ai diversi "Progetti Undiagnosed" Italiani**

Network Italiano Malattie Rare senza diagnosi, Istituto Superiore di Sanità (responsabile dr.ssa D. Taruscio)	**Rete Italiana Malattie Rare Non Diagnosticate, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma (responsabili prof. M. Tartaglia e prof. B. Dallapiccola)**	**Programma Malattie Senza Diagnosi, Fondazione Telethon (responsabile prof. V. Nigro)**
• Centro di Coordinamento Rete Malattie Rare del Piemonte e Valle d'Aosta, • Università degli studi di Torino, Torino • Centro di Coordinamento Rete Malattie Rare della Lombardia, Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri, sede Ranica • Centro di Coordinamento Regionale Malattie Rare, Udine • Università degli Studi di Roma "Tor Vergata", Roma • Università di Ferrara, Ferrara • Università degli Studi di L'Aquila, L'Aquila • IRCCS Ospedale Casa Sollievo della Sofferenza San Giovanni Rotondo, Foggia • U.O.C Genetica Medica Azienda Ospedaliera Bianchi Melacrino Morelli, Reggio Calabria • Università degli Studi di Catania	• Ospedale di Venere, Bari • Ospedale S Martino, Belluno • Policlinico Sant'Orsola Malpighi, Bologna • Azienda Sanitaria dell'Alto Adige, Bolzano • Azienda Ospedaliera Istituti Ospitalieri di Cremona • A.O. Santa Croce e Carle, Cuneo • IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova • IRCCS Eugenio Medea, Lecco • Fondazione IRCCS Ca' Granda Ospedale Maggiore Policlinico, Milano • A.O. Antonio Cardarelli, Napoli • Azienda Ospedaliera dei Colli Ospedale Monaldi, Napoli • Azienda Ospedaliera Ospedali Riuniti "Villa Sofia-Cervello" Presidio Cervello, Palermo • Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia • AUSL Reggio Emilia • Università di Roma "Sapienza" • IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli, Roma • A.O. Città della Salute e della Scienza di Torino - Ospedale Regina Margherita, Torino • Pia Fondazione di Culto e Religione Card. G. Panico, Lecce • IRCCS Burlo Garofolo, Trieste • IRCCS Associazione Oasi Maria Santissima, Troina • Asst Settelaghi, Varese • Ospedale San Bortolo - Aulss8 Veneto, Vicenza	• Fondazione MBBM, ASST Monza • ASST Lariana, Como • IRCCS Istituto Neurologico Carlo Besta, Milano • IRCCS Cà Grande Ospedale Maggiore Policlinico di Milano, Milano • Ospedale SS. Paolo e Carlo, Milano • Ospedale Pediatrico Meyer, Firenze • IRCCS Istituto Giannina Gaslini, Genova • Policlinico Umberto I, Roma • IRCCS Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli, Roma • AORN Santobono-Pausilipon, Napoli • Azienda Ospedaliera Vanvitelli, Napoli • Azienda Ospedaliera Universitaria Federico II, Napoli • Policlinico Universitario di Bari, Bari • IRCCS Associazione Oasi Maria Santissima, Troina

camente, preferibilmente sindromica, con array CGH negativo: le principali malattie note in diagnosi differenziale dovranno essere già state escluse da test biochimici e/o genetici. La disabilità intellettiva isolata è esclusa.

Come si accede in pratica al programma?
ISS: I pazienti sono selezionati fra quelli afferenti ai Centri appartenenti alla Rete Nazionale Malattie Rare. Nello specifico i Centri ad oggi partecipanti al Network Italiano Malattie Rare Senza Diagnosi sono 9.

OPBG: Ogni paziente che afferisce all'OPBG mediante attività clinica routinaria, ambulatoriale o di ricovero, può accedere al programma. I casi dei pazienti vengono discussi dal clinico di riferimento (*case manager*) nell'ambito di riunioni multidisciplinari bisettimanali nel corso delle quali viene impostato il programma di approfondimenti clinici, genetici e strumentali più corretto per il singolo paziente. Da gennaio 2018 l'accesso al programma è anche aperto ai pazienti afferenti ai centri della Rete Italiana Malattie Rare Non Diagnosticate, una rete di 24 centri distribuiti sul territorio nazionale e, da novembre 2019, ai pazienti afferenti agli IRCCS che partecipano alla Rete Pediatrica degli IRCCS (rete IDEA, Rete Italiana salute Dell'Età evolutivA).

FT: Le modalità di accesso sono due: la prima è aperta a tutti i medici italiani, che possono candidare i propri pazienti, se sospettati di essere affetti da una malattia genetica non nota, attraverso una webform dedicata sul sito web di Fondazione Telethon (https://www.telethon.it/cosa-facciamo/terapie-e-diagnosi/programma-malattie-senza-diagnosi/). Altri pazienti accedono al programma tramite i 14 partner clinici del progetto, che sono centri di genetica di terzo livello disseminati sull'intero territorio italiano. I casi dei pazienti selezionati negli ambulatori di genetica medica e che risultano soddisfare i requisiti per l'arruolamento vengono proposti in sessioni plenarie che si tengono via Skype ogni 3 settimane e discussi al fine di creare un confronto sulle possibilità diagnostiche del caso. La tabella n. 1 elenca i Centri afferenti alle 3 reti citate.

Da quando è attivo il programma?
ISS: Il Network Italiano Malattie Rare senza diagnosi è attivo da marzo 2016.

OPBG: Il programma UPP-OPBG è attivo con la sua organizzazione attuale da gennaio 2015 grazie alla possibilità di effettuare il sequenziamento dell'esoma e più recentemente del genoma e del trascrittoma direttamente in-house. Tuttavia il programma si basa su un progetto pilota dedicato alla diagnosi dei pazienti affetti da malattie "orfane" di diagnosi già attivo nel 2013.

FT: Il programma è iniziato ufficialmente nel novembre 2015. La web form è attiva invece da aprile 2016.

Chi finanzia il programma e quanto è stato speso ad oggi?
ISS: Il Network Italiano Malattie Rare senza diagnosi è stato originariamente avviato grazie ad un finanziamento di un progetto dedicato dal titolo "Undiagnosed Rare Diseases: a joint Italy – USA project" svolto in collaborazione con il prof. William A. Gahl e finanziato dal Ministero degli Affari Esteri della Cooperazione Internazionale. Dal 2018 l'attività del network è

Nell'intervista ai responsabili dei programmi focus su obiettivi, modalità di accesso e risultati ottenuti

in parte supportata da un accordo scientifico non condizionato tra ISS e Farmindustria (2018-2020). Ad oggi è stata impegnata una cifra di circa € 200.000.

OPBG: Il progetto è stato supportato nell'ultimo triennio dai fondi del programma "Vite Coraggiose" della Fondazione Bambino Gesù con un investimento globale di circa € 1.000.000. Il programma, per aspetti specifici, è stato inoltre finanziato nell'ambito di bandi competitivi del Ministero della Salute (Ricerca Finalizzata 2018). La recente estensione del progetto alla Rete pediatrica degli IRCCS ha ricevuto anche finanziamenti nell'ambito della Ricerca Corrente 2019 per i Progetti di Rete.

FT: Il programma è finanziato interamente da Fondazione Telethon, con un budget allocato fino ad oggi (n.d.r. dicembre 2019) di € 2.500.000.

Ci sono costi o vincoli per le famiglie che partecipano?
ISS: No.

OPBG: Le famiglie che accedono al programma non devono sostenere alcun costo né sono sottoposte a vincoli di partecipazione. Sono esclusi dall'accesso i pazienti che hanno già in corso in altra sede indagini sovrapponibili per garantire l'accesso al maggior numero di pazienti possibile riducendo la spesa. In caso di indagine già eseguita in altra sede, prima di scegliere approcci –omici differenti, si

Molte le condizioni rare, ultra rare e le nuove entità nosologiche riconosciute nel corso dei progetti

procede ad una fase di riannotazione dei dati disponibili. Tale approccio si è dimostrato diagnostico in circa il 30% dei pazienti arruolati senza necessità di ulteriori costi di materiale.

FT: Nessun costo o vincolo è previsto per le famiglie. Al fine di effettuare i prelievi di sangue, i pazienti candidati dai medici attraverso il portale vengono indirizzati al centro clinico più vicino, che effettuerà anche una consulenza genetica. Alle famiglie coinvolte viene comunque richiesto di esprimere il proprio consenso scritto al fine di essere parte del programma.

Quanti pazienti sono stati testati e che numero di diagnosi sono state raggiunte?

ISS: Ciascun partecipante al Network Italiano Malattie Rare Senza Diagnosi ha il compito di collezionare, in un database appositamente dedicato e con sede all'ISS, dati clinici e fenotipici su pazienti affetti da queste patologie. Nel database sono presenti al momento un totale di 110 casi. Circa il 20% di questi pazienti è stato selezionato per accedere ad approfondimento diagnostico tramite WES e per circa il 5% è stata fornita una diagnosi.

OPBG: Nel corso del progetto sono stati valutati 744 pazienti nell'ambito di 87 sessioni multidisciplinari di teleconsulenza che hanno coinvolto numerosi Centri di genetica clinica distribuiti sul territorio nazionale. Il 34% dei pazienti esaminati è stato avviato ad approfondimenti diagnostici mediante analisi molecolari di primo e di secondo livello in base ad uno specifico sospetto diagnostico suggerito durante le riunioni. Questo protocollo ha permesso di raggiungere una diagnosi in oltre il 70% dei casi. Il 44% dei pazienti discussi, non inquadrabile clinicamente in una specifica condizione o che era risultato negativo alle analisi molecolari di primo e di secondo livello, è stato sottoposto ad analisi WES, che ha individuato la causa della malattia nel 43% dei casi e ha identificato possibili nuove cause di malattia (geni candidati) nel 20% dei pazienti. Complessivamente è stato possibile offrire una diagnosi a oltre 350 famiglie.

FT: Ad oggi, 781 casi clinici sono stati sottoposti al programma. Di questi, 704 sono stati arruolati nel programma per essere sequenziati mediante trio/quartet WES ad alto coverage. Ad oggi, 540 sono stati già sequenziati. Gli altri 165 si trovano in fasi diverse del processo che parte dall'arruolamento ed arriva al sequenziamento. 262 sono stati i referti emessi, di cui 117 conclusivi di una diagnosi di malattia genetica. Tra tutti i casi conclusi, oltre il 44% è stato risolto positivamente, identificando una variante (de novo dominante o X-linked) o due varianti (aut recessive) a patogenicità praticamente certa.

Quali tipologie di condizioni sono state riconosciute (condizioni ultra rare, nuove condizioni)?

ISS: I casi sin qui selezionati sono inclusi nelle seguenti categorie: Connective tissue vascular disorders, Endocrine Genetics, Intellectual disabilities syndromes, Motor neurons syndromes, Multiple abnormalities syndromes e Nephropathies.

OPBG: Il programma ha permesso di identificare condizioni rare, ultrarare e nuove entità nosologiche precedentemente non riconoscibili. In particolare, sono stati scoperti 25 nuovi geni-malattia e descritte una ventina di malattie genetiche in precedenza non conosciute.

FT: Sono state riconosciute condizioni rare ed ultra rare e per molte di queste è stato descritto un ampliamento del fenotipo fino ad oggi riportato nella letteratura scientifica. Inoltre, sono stati identificati nuovi possibili geni malattia: su questi sono in programma degli studi funzionali al fine di chiarire il ruolo patogenetico delle mutazioni riscontrate.

Quali prospettive per i pazienti che risultassero ancora Undiagnosed dopo l'esecuzione di WES?

ISS: Il Network Italiano Malattie Rare Senza Diagnosi rappresenta un nodo fra realtà nazionale ed internazionale essendo la sua responsabile (dr.ssa Domenica Taruscio) fondatrice dell'Undiagnosed Diseases Network International (UDNI, http://www.udninternational.org/). Una parte delle informazioni dei pazienti inseriti nel database, sviluppato per le finalità del progetto, viene infatti condivisa a livello globale tramite software dedicati (es. Phenome Central e Matchmaker Excange), contribuendo alla identificazione di un "secondo" paziente senza diagnosi individuato a livello mondiale.

È importante sottolineare che al Network afferisce anche una nuova Struttura nata nel Centro Nazionale Malattie Rare che coinvolge altri Centri nazionali e Dipartimenti dell'ISS specificatamente dedicata allo studio delle malattie rare senza diagnosi. È denominata Struttura a Missione

Temporanea - Malattie Rare Senza Diagnosi (SMT - Malattie Rare Senza Diagnosi), è nata nel 2018 ed è coordinata dal dr. Marco Salvatore, ricercatore del Centro Nazionale Malattie Rare. La SMT - Malattie Rare Senza Diagnosi è caratterizzata dalla partecipazione di 11 Centri e Dipartimenti dell'ISS e dalla opportunità di creare una forte sinergia fra i ricercatori con expertise multidisciplinare, per favorire la ricerca ed una più efficace risposta sanitaria a queste patologie, ottimizzando e indirizzando risorse umane e strumentali verso obiettivi comuni sui fronti della ricerca, della consulenza, della correlazione genotipo-fenotipo, della correlazione fra studi di fattori ambientali in essere e possibili malattie non diagnosticate, e delle valutazioni di HTA. Obiettivi della SMT sono: favorire una più rapida diagnosi in pazienti con quadri clinici attualmente non inquadrabili nosologicamente; promuovere una più efficace presa in carico dei pazienti; espandere le conoscenze scientifiche su queste malattie per contribuire ad identificare possibili interventi terapeutici.

OPBG: Gli importanti risultati raggiunti nell'ambito della ricerca genomica sopra descritta hanno avuto una ricaduta immediata nella pratica clinica grazie allo sviluppo di un programma strategico per la traslazione delle tecniche -omiche nella diagnostica con oltre 3000 esomi effettuati dall'OPBG in ambito diagnostico a partire dal 2018 (tasso di successo: circa 65%) e oltre 30.000 analisi genetiche eseguite ogni anno. A partire da dicembre 2018, grazie all'acquisizione del sequenziatore NovaSeq6000, è stato inoltre possibile implementare e validare altri approcci –omici complementari all'analisi WES (ad es. genoma, trascrittoma, metiloma) con il supporto di strumenti bioinformatici avanzati per offrire nuove prospettive volte al raggiungimento di una diagnosi nei casi in cui il WES non sia stato risolutivo. Tali approcci sono garantiti a tutti i pazienti precedentemente arruolati nel programma UPP-OPBG, così come prospetticamente ai nuovi pazienti in base alle possibilità diagnostiche valutate caso per caso. La rapida traslazionalità dei risultati raggiunti è garantita inoltre dalla disponibilità di competenze e approcci di genomica funzionale in grado di verificare l'impatto delle varianti genomiche identificate nella patogenesi di malattia mediante approcci computazionali (analisi strutturali di dinamica molecolare), *in vitro* (modelli cellulari) e *in vivo* (zebrafish).

FT: Tutti i nostri pazienti sono descritti utilizzando la Human Phenotype Ontology su piattaforme internazionali designate ad hoc come Phenome

Diverse le possibilità di approfondimento per i pazienti per cui l'analisi WES non risulta risolutiva

Central al fine di trovare *second cases* utili per confermare eventuali sospetti diagnostici. Per i pazienti senza una diagnosi risolutiva dopo il WES, oltre alla condivisione dei dati clinici, viene anche condivisa la lista dei geni candidati ad essere responsabili del loro fenotipo. Questi casi vengono anche inoltrati a progetti collaborativi Europei come Solve-RD al fine di effettuare nuove analisi sia *in silico* (analisi con nuove pipeline, utilizzando tools innovativi) che *in vitro* (es. Whole Genome Sequencing). Va ricordato che il Progetto Pilota iniziato nel 2015/16 prevede ora una seconda fase nell'ambito della quale tutti i pazienti con analisi inizialmente non conclusiva verranno rianalizzati utilizzando tecniche diagnostiche all'avanguardia, come l'Ultra Exome, che è un disegno interno del TIGEM che consente di applicare agli esomi la tecnologia delle linked reads della 10x Genomics. Questa tecnologia consente di distinguere la fase, di ricostruire la posizione cromosomica e di identificare varianti complesse non visibili all'analisi dell'esoma o del genoma.

Bibliografia

- Shashi V, McConkie-Rosell A, Rosell B, et al. The utility of the traditional medical genetics diagnostic evaluation in the context of nextgeneration sequencing for undiagnosed genetic disorders. Genet Med 2014; 16: 176–82.
- Wise AL, Manolio TA, Mensah GA, et al. Genomic medicine for undiagnosed diseases. Lancet. 2019;394(10197):533-540.
- Posey JE, Harel T, Liu P, et al. Resolution of disease phenotypes resulting from multilocus genomic variation. N Engl J Med 2017; 376: 21–31.
- Tifft CJ, Adams DR. The National Institutes of Health undiagnosed diseases program. Curr Opin Pediatr. 2014; 26(6): 626–633.
- Splinter K, Adams DR, Bacino CA, et al. Effect of Genetic Diagnosis on Patients with Previously Undiagnosed Disease. N Engl J Med. 2018; 379(22): 2131–2139.
- Adachi T, Imanishi N, Ogawa Y, et al. Survey on patients with undiagnosed diseases in Japan: potential patient numbers benefiting from Japan's initiative on rare and undiagnosed diseases (IRUD). Orphanet J Rare Dis. 2018;13(1):208.
- Kim SY, Lim BC, Lee JS, et al. The Korean undiagnosed diseases program: lessons from a one-year pilot project. Orphanet J Rare Dis. 2019;14(1):68.
- López-Martín E, Martínez-Delgado B, Bermejo-Sánchez E, et al. SpainUDP: The Spanish Undiagnosed Rare Diseases Program. Int J Environ Res Public Health. 2018;15(8). piiE1746.

Bassa statura e sindromi rare



Gioacchino Scarano[1,2], Mariateresa Falco[1], Francesca Scarano[1], Paolo Fontana[1], Fortunato Lonardo[1]
[1]SSD Genetica Medica, AORN "San Pio", Ospedale "Gaetano Rummo", Benevento
[2]Primario Emerito, già Primario della UOC di Genetica Medica, AORN "San Pio", Ospedale "Gaetano Rummo", Benevento

La crescita è uno dei parametri di salute più evidenti ed è un fenomeno complesso in cui giocano ruoli importanti diversi fattori, sia genetici che ormonali, nutrizionali e ambientali. Il riscontro della **bassa statura** (short stature, SS), definita come deviazione della statura superiore a 2 DS al di sotto della media della popolazione di riferimento distinta per sesso o della statura target della famiglia, in un bambino è causa di preoccupazione per la famiglia e deve essere motivo di attenzione e quindi di accurata valutazione.

La Società Europea di Endocrinologia Pediatrica (ESPE) ha proposto nel 2007 una **classificazione** della bassa statura, aggiornata nel 2016, suddivisa in tre grandi categorie: bassa statura primaria, secondaria ed idiopatica. Nella prima categoria sono comprese le condizioni sindromiche su base genetica, il nato piccolo per età gestazionale con deficit di recupero di crescita e le displasie scheletriche, mentre nella seconda sono incluse condizioni dovute a cause ormonali, nutrizionali e ambientali o a malattie specifiche di organo. Nella terza le basse stature idiopatiche, quelle non associate a nessuna altra anomalia né organica né funzionale.

I recenti progressi tecnologici hanno reso disponibili tecniche diagnostiche in grado di facilitare la diagnosi di condizioni sindromiche su base genetica

Negli ultimi anni il **progresso tecnologico** ha reso disponibili, anche in relazione alla riduzione notevole dei costi, approcci diagnostici più sofisticati come il sequenziamento di nuova generazione (NGS). La disponibilità di questo tipo di tecnica diagnostica ha facilitato la diagnosi di condizioni estremamente rare e ha permesso di identificare nuovi geni responsabili di nuove sindromi, di associare nuovi geni a condizioni sindromiche già note e di raggruppare diverse condizioni in base ai pathway molecolari implicati. I geni identificati, infatti, spesso appartengono a pathway già noti in cui sono coinvolti geni responsabili di altre condizioni sindromiche talora con quadro clinico in parte sovrapponibile, ad esempio il pathway SWI/SNF. **Il percorso diagnostico** è sempre più complesso a causa della notevole **eterogeneità** sia clinica (malattie diverse dovute a mutazioni in domini diversi di uno stesso gene, con perdita o guadagno di funzione) che genetica, nello specifico **allelica** (stessa condizione dovuta a mutazioni diverse in uno stesso gene) o **di locus** (fenotipi simili da mutazioni in geni diversi). Il catalogo Online Mendelian Inheritance in Man (OMIM) nell'aprile 2019 riporta oltre 2000 condizioni con **SS**.

Nella review, suddivisa in due parti, ci focalizzeremo su alcune specifiche forme di **bassa statura primaria** come definita dall'ESPE. Questa prima parte è dedicata ad alcune condizioni sindromiche, la seconda alle displasie scheletriche. L'obiettivo è illustrare alcune condizioni rare già definite clinicamente ma di recente definizione etiopatogenetica e alcune nuove condizioni definite clinicamente in seguito ad analisi di dati genomici, il cosiddetto **"Reverse Phenotyping"**.

Sindromi genetiche

Il sospetto di una condizione genetica di tipo sindromico nel percorso diagnostico di un paziente con bassa statura nasce dall'evidenza di anomalie del fenotipo sia di tipo malformativo che neurologico/organico che debbono essere ricerca-

te con grande attenzione. In prima istanza vengono prese in considerazione cause ben note di sindromi cromosomiche o di sindromi genomiche (da CNV microdel/microdup) o sindromi monogeniche più facilmente identificabili; alcuni esempi che rientrano in questa categoria: le sindromi di Down, di Turner, di Di George (22q11.2), di Cornelia de Lange, di Bloom, Kabuki, di Noonan, di Prader-Willi, di Rubinstein-Taybi, di Silver-Russel, di Williams. Di seguito sono descritte alcune condizioni, raggruppate dove possibile secondo criteri clinici utili per il sospetto diagnostico o per il pathway coinvolto o entrambi; le malattie descritte sono riportate con altre condizioni non descritte nel testo anche nella tabella 1.

Bassa statura e microcefalia

La sindrome di Seckel (SekS) e la bassa statura primordiale con microcefalia di tipo II (Microcefalic Osteodisplastic Primordial Dwarfism, MOPD II) sono condizioni storicamente accomunate da un quadro clinico simile. Sono infatti caratterizzate da un ritardo di crescita sia pre che postnatale, molto più marcato nella MOPD II, e si differenziano principalmente per la disabilità intellettiva, presente nella SekS e solitamente assente nella MOPD II. Quest'ultima può manifestarsi con danno vascolare a livello del SNC con emorragia e infarto cerebrale nel 25% dei casi, causa di exitus nei primi anni di vita. La MOPD II è causata da alterazioni del gene PCNT, che codifica per la pericentrina, proteina chiave nella struttura del centrosoma e nella formazione del fuso mitotico, e la SekS è determinata da un'alterazione della risposta al danno del DNA mediata dalla proteina ATR, la quale interagisce con PCNT; gli altri geni responsabili della SeksS (CPAP, CEP152) fanno parte del medesimo pathway molecolare.

La sindrome di Meier-Gorlin (MGS) è caratterizzata da una triade: bassa statura, microtia e agenesia/ipoplasia della rotula a cui si aggiunge microcefalia. Presenta eterogeneità genetica ma i diversi geni causativi (ORC1, ORC4, ORC6, CDT1, CDC6, GMNN, CDC45 e MCM5) sono tutti coinvolti nello stesso pathway. I primi tre fanno parte del complesso ORC (origin recognition complex del DNA), il quale, dopo aver reclutato altre proteine, tra cui CDT1 e CDC6, attiva l'elicasi MCM5, che ha un ruolo fondamentale nella replicazione del DNA; per tutti questi geni l'ereditarietà è di tipo autosomico recessivo. Le mutazioni del gene GMNN, regolatore della trascrizione che interagisce con CDT1, causano un guadagno di funzione e la trasmissione è di tipo autosomico dominante.

Bassa statura da anomalie della cromatina

La sindrome Floating-Harbor presenta caratteristiche facciali tipiche, voce nasale, ritardo di crescita postnatale, disabilità intellettiva moderata con grave ritardo del linguaggio e problemi comportamentali. La trasmissione è di tipo autosomico dominante con alterazioni del gene SRCAP, che codifica per una proteina che è coinvolta nel rimodellamento della cromatina e interagisce con CREBBP, la cui alterazione è responsabile della sindrome di Rubinstein-Taybi (RTS). Mutazioni del gene CREBBP negli esoni 30 o 31 sono responsabili di una condizione con SS ma fenotipo diverso dalla RTS nota come sindrome di Menke-Hennekam.

Nel percorso diagnostico di un paziente con SS il sospetto di una condizione genetica di tipo sindromico nasce dall'evidenza di anomalie malformative e neurologiche/organiche

La sindrome di Coffin-Siris (CSS) e la sindrome di Nicolaides-Baraitser (NBS) sono malattie clinicamente e geneticamente eterogenee. Tali condizioni possono essere causate da una mutazione in eterozigosi o da un riarrangiamento genomico in diversi geni, tutti codificanti per proteine che compongono un complesso proteico noto come SWI/SNF (Switch/Sucrose Non-Fermenting o anche BAF complex) coinvolto nel rimodellamento della cromatina e nella regolazione dell'espressione genica durante lo sviluppo. Gli elementi clinici dei pazienti con mutazioni nei geni che codificano per proteine che fanno parte di questo complesso (ARID1B, ARID1A, SMARCA4, SMARCB1, SMARCE1, SOX11, ARID2, DPF2, SMARCA2, PHF6) sono variabili, costituiscono un *continuum* clinico di cui la forma più severa è la NBS e differiscono per gravità e per alcune caratteristiche, a seconda del gene coinvolto. Le manifestazioni cliniche principali della CSS classica (mutazioni del gene SMARCA4) sono il ritardo dello sviluppo psicomotorio (di grado variabile), la bassa statura, l'ipoplasia della falange distale del quinto dito e una facies tipica. Possono essere presenti anche malformazioni del sistema nervoso centrale, anomalie cardiache, oculari, urogenitali, sordità e altri elementi clinici. Le caratteristiche facciali

Tab. 1 **Sindromi genetiche rare e bassa statura**

Criterio comune	Sindrome	Geni	Trasmis.	Caratteristiche cliniche	Facies	Ref.
Microcefalia	MOPD II	PCNT	AR	Ritardo di crescita pre e postnatale severo; bassa statura marcata, proporzionata alla nascita e progressivamente sproporzionata per prevalenza del tronco sugli arti; iperlassità articolare, scoliosi; anomalie genitourinarie (ernia inguinale; criptorchidismo nei maschi; ipoplasia delle grandi labbra nelle femmine); macchie caffelatte; intelligenza nella norma.	Microcefalia; craniostenosi, radice nasale ampia, naso prominente, ipoplasia ali nasali, micrognatia, guance prominenti, orecchie a basso impianto, occhi grandi con rime rivolte verso il basso, strabismo, ipodontia.	5
	Seckel	ATR RBBPB CENPJ (CPAP) CEP152	AR	Ritardo di crescita pre e postnatale; microcefalia severa alla nascita, bassa statura proporzionata; disabilità intellettiva; malformazioni cerebrali (atrofia, girazione semplificata, dilatazione subaracnidea).	Fronte sfuggente, naso prominente, orecchie grandi, micrognatia, anomalie dentarie.	5
	Meier-Gorlin	ORC1, ORC4 ORC6, CDT1 CDC6, CDC45L, MCM5	AR	Ritardo di crescita pre e postnatale; intelligenza normale; ipoplasia della rotula; iperlassità articolare; enfisema, tracheo-laringo-broncomalacia; anomalie genitali; ipoplasia mammaria. Difficoltà respiratorie e nell'alimentazione nei primi anni di vita.	Microcefalia, microtia, orecchie a basso impianto con atresia dei canali auricolari esterni, profilo nasale convesso, bocca piccola con labbra carnose, micrognatia, palato alto.	6
		GMNN	AD			7
Anomalie della cromatina	Floating Harbor	SRCAP	AD	Ritardo di crescita postnatale; disabilità intellettiva moderata e grave ritardo del linguaggio; voce nasale; problemi comportamentali.	Fessure palpebrali corte, bocca ampia con angoli rivolti verso il basso, orecchie a basso impianto; punta del naso di forma triangolare, in seguito bulbosa, naso prominente, columella larga, filtro corto e labbro superiore sottile.	8
	Coffin Siris	ARID1B SOX11, DPF2	AD forme mild	Bassa statura, ritardo dello sviluppo psicomotorio di grado variabile, ipoplasia della falange distale del quinto dito, malformazioni del sistema nervoso centrale, anomalie cardiache, oculari, urogenitali, sordità.	Lineamenti grossolani (che possono comparire nel tempo), sopracciglia spesse, ciglia lunghe, ponte nasale corto, ale nasali spesse, narici anteverse, punta nasale larga, filtro ampio, bocca ampia, labbro superiore sottile, labbro inferiore carnoso.	9
		SMARCA4	forma classica			
		ARID1A SMARCB1 SMARCE2 ARID2	forme atipiche /gravi			
	Nicolaides-Baraitser	SMARCA2	AD	Microcefalia, convulsioni, disabilità intellettiva severa. Assenza di linguaggio. Epilessia.	Capelli radi, lineamenti grossolani, narici anteverse, filtro lungo, bocca ampia, labbro superiore sottile, labbro inferiore carnoso.	10
	Wiedeman-Steiner	KMT2A	AD	Ritardo di crescita pre e postnatale, disabilità intellettiva, anomalie renali, arti corti e grossi.	Facies rotondeggiante, naso corto, ipertelorismo, filtro lungo, fessure palpebrali corte, strabismo, orecchie a basso impianto, palato alto.	11
Anomalie genitali	Aarskog	FGD1	XL	Ritardo di crescita marcato nel primo anno di vita con difficoltà di alimentazione e infezioni respiratorie ricorrenti; bassa statura moderata, anomalie genitali (scroto a scialle, criptorchidismo), brachidattilia, ernia inguinale o ombelicale, anomalie vertebrali, anomalie oculari; disabilità intellettiva lieve-moderata.	Facies rotondeggiante con edema facciale nei primi anni di vita; ipertelorismo, ptosi palpebrale, widow's peak, naso piccolo, narici anteverse, filtro lungo, anomalie dentarie.	12
	Opitz G (BBB syndrome)	MID1 (XL)	XL	Disabilità intellettiva moderata, ipotonia, anomalie genitali (ipospadia, criptorchidismo, scroto bifido; appiattimento delle grandi labbra), malformazioni laringotracheali (schisi laringotracheale, fistola tracheoesofagea, ipoplasia dell'epiglottide); ernie.	Fronte prominente, ipertelorismo, ponte nasale piatto con narici anteverse, labiopalatoschisi, frenulo linguale corto, orecchie retroruotate.	13

Criterio comune	Sindrome	Geni	Trasmis.	Caratteristiche cliniche	Facies	Ref.
Anomalie oculari	SHORT	PIK3R1	AD	Ritardo di crescita pre e postnatale; ritardo del linguaggio senza disabilità intellettiva; anomalia oculare di Rieger; iperlassità articolare; ernia inguinale; lipodistrofia parziale (inizialmente al volto, poi agli arti).	Volto triangolare, orecchie prominenti, ponte nasale ampio, telecanto, occhi infossati, ipoplasia delle ali nasali, micrognatia, ritardo nell'eruzione dentaria.	14
	Mulibrey	TRIM37	AR	Ritardo di crescita, macrocefalia relativa; ipotonia; ritardo del linguaggio; retinopatia; anomalie della sella turcica; ispessimento del pericardio; epatomegalia con emangiomi; cisti (fegato, tiroide, ovaio, epididimo, aracnoide); nei cutanei. Difficoltà respiratorie e nell'alimentazione. Aumento del rischio neoplastico.	Dolicocefalia, facies triangolare, bozze frontali prominenti, ponte nasale depresso, lingua piccola, affollamento dentario; agenesia del secondo molare.	15
	Hallermann-Streiff	Non noto	Sporadica	Prematurità con basso peso alla nascita. Bassa statura proporzionata. Ritardo di crescita postnatale. Microftalmia bilaterale con cataratta, che spesso determina cecità. Difficoltà respiratorie e nell'alimentazione per le anomalie craniofacciali. Intelligenza nella norma.	Brachicefalia, bozze frontali e parietali prominenti, ossa del cranio sottili, microftalmia, ipoplasia malare, micrognatia, ipoplasia mandibolare, naso piccolo e sottile, palato alto e stretto, anomalie dentarie, denti connatali, distrofia cutanea, iporicosi.	16
Altri	3M	CUL7 OBSL1 CCDC8	AR	Ritardo di crescita pre e postnatale; macrocefalia relativa; disabilità intelletiva; collo corto, torace corto, talloni prominenti, iperlassità articolare.	Dolicocefalia, bozze frontali prominenti, volto triangolare, ipoplasia malare, mento appuntito, punta nasale carnosa, ponte nasale corto con narici anteverse, filtro lungo, labbra carnose, ritardo nell'eruzione dentaria.	17
	Baraitser-Winter	ACTB ACTG1	AD	Bassa satatura postnatale; disabilità intellettiva, epilessia, anomalie oculari (coloboma, microftalmia), debolezza muscolare, cifosi.	Sutura metopica prominente, ipoplasia malare, retrognatia, naso corto e largo, filtro lungo, labbro superiore sottile, bocca ampia, ipertelorismo, ptosi, epicanto, sopracciglia arcuate, orecchie piccole.	18
	Johanson-Blizzard	UBR1	AR	Bassa statura a esordio prenatale; disabilità intellettiva; sordità; ipotonia, ano imperforato o anteriorizzato, fistole rettoureterali o rettovaginali, anomalie genitoruinarie (caliectasia, reflusso vescicoureterale, criptorchidismo, micropene, ipospadia, anomalie vaginali); ipotioridismo; insufficienza pancreatica esocrina e poi anche endocrina.	Microcefalia, fronte prominente, capelli radi con curvatura verso l'alto sulla fronte, vertigini dei capelli, ipoplasia delle ali nasali, fistola del dotto nasolacrimale, anomalie dentarie.	19
	CHOPS	AFF4	AD	Disabilità intellettiva, facies grossolana, difetti cardiaci, obesità, anomalie polmonari, anomalie scheletriche.	Facies grossolana.	20
	Xia-Gibbs	AHDC1	AD	Bassa statura, ritardo dello sviluppo psicomotorio, anomalie comportamentali, ipotonia, apnee nel sonno, epilessia, malformazioni cerebrali, scoliosi e anomalie oculari (in particolare strabismo). In alcuni pazienti craniostenosi, tracheomalacia, iperlassità articolare, cute soffice ed ipoacusia.	Non sono riportate varianti fenotipiche facciali tipiche.	21

Questa panoramica di alcune malattie di più difficile identificazione sottolinea l'importanza di giungere ad una diagnosi per conoscerne storia naturale ed evoluzione

Gli elementi clinici dei pazienti con mutazioni nei geni codificanti per proteine che compongono il complesso SWI/SNF variano a seconda del gene coinvolto

comprendono lineamenti grossolani (che possono comparire nel tempo), sopracciglia spesse, ciglia lunghe, ponte nasale corto, ali nasali spesse, narici anteverse, punta nasale larga, filtro ampio, bocca ampia, labbro superiore sottile, labbro inferiore carnoso. La NBS è dovuta a mutazioni del gene SMARCA2 presenta un fenotipo facciale tipico e un quadro clinico severo con microcefalia, convulsioni e disabilità intellettiva grave con assenza di linguaggio.

Bassa statura e anomalie dei genitali

La sindrome di Aarskog presenta bassa statura moderata con ritardo di crescita marcato nel primo anno di vita, legato a difficoltà di alimentazione e infezioni respiratorie ricorrenti; tipiche di questa condizione sono la facies e le anomalie genitali (scroto a scialle, criptorchidismo). L'ereditarietà è di tipo X-linked con mutazioni del gene FGD1, espresso a livello del citoplasma e del Golgi e coinvolto nell'organizzazione del citoscheletro.
La sindrome di Opitz G (BBB syndrome) presenta una facies caratteristica, labiopalatoschisi, disabilità intellettiva moderata, ipotonia, anomalie genitali e malformazioni laringotracheali. L'ereditarietà è di tipo X-linked con mutazioni nel gene MID1, una ubiquitina-E3-ligasi ancorata ai microtubuli che regola la degradazione proteica.

Bassa statura e anomalie oculari

La sindrome SHORT (Short stature, Hyperextensibility of joints, inguinal Hernia, Ocular depression, Rieger abnormality, Teething delay) è caratterizzata da ritardo di crescita pre e postnatale, iperlassità articolare, ernia inguinale, occhi infossati, anomalia oculare di Rieger (disgenesia del segmento anteriore) e ritardo della dentizione; è descritto un ritardo nello sviluppo del linguaggio senza disabilità intellettiva ed è tipica una lipodistrofia parziale che nel corso del tempo si estende dal volto agli arti e intolleranza glucidica con insorgenza precoce di diabete. La trasmissione è di tipo autosomico dominante ed è dovuta a varianti nel gene PIK3R1, che ha un ruolo chiave nei meccanismi della crescita cellulare.
La sindrome Mulibrey (MUscle, LIver, BRain, EYe) presenta un ritardo di crescita ad esordio prenatale con macrocefalia relativa, ipotonia muscolare, epatomegalia con emangiomi, lieve ritardo del linguaggio con abilità intellettive normali, anomalie della sella turcica e retinopatia; sono descritti un ispessimento del pericardio, la formazione di cisti (fegato, tiroide, ovaio, epididimo, aracnoide) e di nei cutanei ed un aumento del rischio neoplastico; la scarsa crescita deriva anche da difficoltà respiratorie e nell'alimentazione. La sindrome è dovuta a mutazioni nel gene TRIM37, una ubiquitina-E3-ligasi che regola la degradazione proteica, e presenta una trasmissione di tipo autosomico recessivo.
La sindrome di Hallermann-Streiff ha un fenotipo peculiare facilmente identificabile, caratterizzato da microftalmia bilaterale con cataratta ed ipoplasia mandibolare; i pazienti presentano prematurità con basso peso alla nascita e ritardo di crescita postnatale, legato anche alle difficoltà respiratorie e dell'alimentazione a causa delle anomalie craniofacciali; non è descritta disabilità intellettiva. Ad oggi non è stata identificata una causa molecolare.

Fig. 1 **Sindrome 3M tipo 2**



Paziente a 5 anni.
SGA a 40w,2640g, DIA Ost II, Cava sup sx persistente, idronefrosi RVU grave, RPM e linguaggio, bassa statura, microcrania, ipotonia, pectus excavatum, fingerpads, disturbi gastrointestinali.
Mutazioni in eterozigosi composta del gene OBSL1: Padre (p.Gln1578Ter)
Madre (p. Asp1734Glu).

Altre sindromi

La sindrome 3M (Miller, McKusick and Malvaux) (Fig. 1) è caratterizzata da una facies tipica, ritardo di crescita pre e postnatale, macrocefalia relativa, iperlassità articolare e disabilità intellettiva. La trasmissione è di tipo autosomico recessivo con alterazioni dei geni CUL7, OBSL1 e CCDC8, che codificano per proteine che compongono un complesso centrosomico necessario per la formazione

dei microtubuli, l'integrità genomica e la crescita cellulare.
La sindrome di Baraitser-Winter o cerebrofrontofaciale, è caratterizzata da bassa statura postnatale, disabilità intellettiva, facies tipica, anomalie oculari e muscoloscheletriche. La trasmissione è di tipo autosomico dominante con mutazioni nei geni ACTB e ACTG1, che codificano per due isoforme dell'actina espresse in diversi tipi cellulari come componenti del citoscheletro e mediatori della motilità intracellulare; sono coinvolte inoltre nell'assemblaggio del sarcomero.
La sindrome di Johanson-Blizzard è caratterizzata da bassa statura a esordio prenatale, disabilità intellettiva e ipotonia, con una facies caratteristica; i pazienti presentano in misura variabile altre caratteristiche, quali anomalie ano-rettali e genitourinarie, sordità e ipotonia; sono frequenti l'ipotiroidismo e l'insufficienza pancreatica (sia esocrina che endocrina). La trasmissione è di tipo autosomico recessivo e la condizione è legata ad alterazioni del gene UBR1, che codifica per una componente del complesso ubiquitin-proetin-ligasi-E3.
La sindrome CHOPS (Cognitive impairment and Coarse facies, Heart defects, Obesity, Pulmonary involvement, Short stature and Skeletal dysplasia) presenta bassa statura, disabilità intellettiva, facies grossolana, difetti cardiaci, obesità, anomalie polmonari e anomalie scheletriche. La trasmissione è di tipo autosomico dominante con mutazioni nel gene AFF4 che determinano anomalie nell'elongazione legata alla RNA-polimerasi e quindi nei processi di trascrizione del DNA; negli stessi meccanismi sono coinvolte le coesine, le cui mutazioni sono responsabili di altre condizioni sindromiche note come "coesinopatie", di cui fa parte la sindrome di Cornelia de Lange da considerare nella diagnosi differenziale.
La sindrome di Xia-Gibbs (Fig. 2) è una malattia a trasmissione autosomica dominante dovuta a mutazioni in eterozigosi del gene AHDC1, che presenta domini di legame con il DNA ed è coinvolto nel rimodellamento della cromatina. Clinicamente è caratterizzata da ritardo globale dello sviluppo psicomotorio, anomalie comportamentali, ipotonia, apnee nel sonno, epilessia e malformazioni cerebrali; sono descritti anche ritardo di crescita, scoliosi e anomalie oculari (in particolare strabismo); non sono riportate varianti fenotipiche facciali tipiche della condizione. In alcuni pazienti sono riportati craniostenosi, tracheomalacia, iperlassità articolare, cute soffice ed ipoacusia. Alcuni elementi clinici sono presenti alla nascita, mentre altri compaiono nel tempo.

Fig. 2 **Sindrome di Xia-Gibbs**



Paziente a 1 e 4 anni. Bassa statura, RPM, macrocrania relativa, collo corto, ipotonia, iperlassità articolare, brachidattilia, piedi piatti, ritardo età ossea. Mutazione in eterozigosi de novo del gene AHDC1: c.4289dupA, p.Ala1432fs in eterozigosi

Tra i segni clinici caratterizzanti la S. di Xia-Gibbs, alcuni presenti alla nascita ed altri ad esordio tardivo, non sono riportate facies tipiche

In questa review abbiamo presentato una breve panoramica su alcune malattie di più difficile identificazione al fine di sottolineare quanto sia importante giungere ad una diagnosi per conoscere la storia naturale e quindi la evoluzione della condizione.
La seconda parte della review, dedicata alle displasie scheletriche, verrà pubblicata sul n.2 di MR.

Bibliografia

1. Wei C and Gregory JW. Physiology of normal growth. Paediatrics and Child Health 2009, 19:236-240
2. Wit JM, Ranke MB, Kelnar CJH. ESPE classification of Paediatric Endocrine diagnosis Short Stature. Horm Res 2007;68(supp 2):1–5
3. The International Classification of Pediatric Endocrine Diagnose (ICPED): www.icped.org/revisions/0/2015/diagnoses/
4. Baron J, Sävendahl L, De Luca F et al. Short and tall stature: a new paradigm emerges. Nat Rev Endocrinol 2015; 11: 735–746.
5. Piane M, Della Monica M, Piatelli G et al. Majewski Osteodysplastic Primordial Dwarfism Type II (MOPD II) Syndrome Previously Diagnosed as Seckel Syndrome: Report of a Novel Mutation of the PCNT Gene. Am J Med Genet 2009, 149A:2452-56.
6. Vetro A, Savasta S, Russo Raucci A et al. MCM5: a new actor in the link between DNA replication and Meier-Gorlin syndrome. Eur J Hum Genet 2017, 25, 646-50
7. Ting CY1, Bhatia NS2, Lim JY et al. Further delineation of CDC45-related Meier-Gorlin syndrome with craniosynostosis and review of literature. Eur J Med Genet. 2019 Apr 13. doi: 10.1016/j.ejmg.2019.04.009.
8. Nikkel SM, Dauber A, de Munnik S et al. The phenotype of Floating-Harbor syndrome: clinical characterization of 52 individuals with mutations in exon 34 of SRCAP. OJRD 2013, 8:63
9. Bögershausen N and Wollnik B. Mutational Landscapes and Phenotypic Spectrum of SWI/SNF-Related Intellectual Disability Disorders. Front Mol Neurosci 2018, 11:252
10. Vasileiou G, Vergarajauregui S, Endele S et al. - Mutations in the BAF-Complex Subunit DPF2 Are Associated with Coffin-Siris Syndrome. AM J Hum Genet 2018; 102:468-479
11. Aggarwal A, Rodriguez-Buritica DF, Northrup H. Wiedemann-Steiner syndrome: Novel pathogenic variant and review of literature. Eur J Med Genet 2017; 60:285-288.
12. Orrico A, Galli L, Faivre L et al. Aarskog–Scott Syndrome: Clinical Update and Report of Nine Novel Mutations of the FGD1 Gene. Am J Med Genet 2010, 152A:313–318.
13. Meroni G. X-Linked Opitz G/BBB Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA et al. editors. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.
14. Avila M, Dyment DA, Sagen JV et al. Clinical reappraisal of SHORT syndrome with PIK3R1 mutations: toward recommendation for molecular testing and management. Clin Genet 2016; 89: 501-06.
15. Brigant B, Metzinger-Le Meuth V, Rochette J. TRIMming down to TRIM37: Relevance to Inflammation, Cardiovascular Disorders, and Cancer in MULIBREY Nanism. Int J Mol Sci 2018 Dec 24: E67.
16. Schmidt J, Wollnik B. Hallermann– Streiff syndrome: A missing molecular link for a highly recognizable syndrome. Am J Med Genet 2018;178C:398–406.
17. Simsek-Kiper PO, Taskiran E, Kosukcu C et al. Further expanding the mutational spectrum and investigation of genotype-phenotype correlation in 3M syndrome. Am J Med Genet 2019, 179A:1157-72.
18. Verloes A, Drunat S, Pilz D, Di Donato N.et al. Baraitser-Winter Cerebrofrontofacial Syndrome. In: Adam MP, Ardinger HH, Pagon RA et al. editors. GeneReviews. Seattle (WA): University of Washington, Seattle; 1993-2019.
19. Sukalo M, Schäflein E, Schanze let al. Mutations in the human UBR1 gene and the associated phenotypic spectrum. Hum Mutat 2014;35:521-31.
20. Raible SE, Mehta D, Bettale C | et al. Clinical and molecular spectrum of CHOPS syndrome. Am J Med Genet 2019; 179A:1126-1138.
21. Jiang Y, Wangler MF, McGuire AL et al. The phenotypic spectrum of Xia-Gibbs syndrome. Am J Med Genet 2018;176A:1315-1326.



Le malattie rare senza diagnosi: iniziative e prospettive



Generoso Andria
Professore Emerito di Pediatria, Università Federico II di Napoli

Prevenzione, diagnosi e terapia rappresentano i cardini delle attività svolte dai servizi sanitari nell'assistenza alle malattie, ma anche degli impegni dei medici per i loro pazienti nella pratica clinica. Delle tre attività certamente quella cruciale è rappresentata dalla diagnosi. La prevenzione, soprattutto quella secondaria, non può essere programmata se non si conosce quale tipo di patologia si intende prevenire. La stessa considerazione vale per la cura delle malattie, che possono essere trattate solo a condizione che siano correttamente riconosciute nella loro natura ed eziologia.

Esistono almeno due tipi di "malattie senza diagnosi" (definizione più estesa rispetto a quella anche in uso di "malattie non diagnosticate"):

- *"Malattia non ancora diagnosticata": si riferisce a una malattia che non è stata diagnosticata perché il paziente non è stato indirizzato al medico appropriato, a causa di sintomi comuni fuorvianti o di una presentazione clinica insolita per una condizione rara, ma nota.*
- *"Malattia con diagnosi non conosciuta" o "Sindrome senza nome" (Syndrome Without A Name, SWAN): si riferisce a una malattia per la quale non è ancora disponibile un test diagnostico o la malattia non è stata caratterizzata e la causa non è ancora stata identificata. La persona affetta può anche ricevere una diagnosi errata, perché le sue manifestazioni vengono attribuite ad altre patologie.*

Per le malattie rare (MR) esistono difficoltà ancora maggiori rispetto a patologie più frequenti nell'ottenere una diagnosi precisa in tempi rapidi. I motivi sono ben noti e conseguenti anzitutto alla bassa prevalenza di queste condizioni. Infatti pochi specialisti sono in grado di riconoscerle correttamente e precocemente, non solo a causa del loro numero molto elevato (6000-7000) e della loro eterogeneità clinica, ma anche per il fatto che colpiscono spesso organi e apparati diversi, con presentazioni variabili anche per la stessa malattia. Fortunatamente in molti paesi, tra cui l'Italia, da alcuni decenni i sistemi sanitari hanno messo in atto programmi a favore dei pazienti con MR, perché, nonostante la scarsa frequenza delle singole patologie, i malati rari rappresentano come gruppo un carico notevole, anche sul piano economico, per l'organizzazione della loro assistenza.

Numero elevato, bassa prevalenza ed eterogeneità clinica sono tra le ragioni che rendono difficile la diagnosi di MR

Malati rari senza precisa diagnosi o anche diagnosticati dopo molti anni dall'esordio dei primi segni e sintomi vanno frequentemente incontro a una vera e propria "odissea" di peregrinazioni

Tab. 1 **Iniziative internazionali per malattie rare senza diagnosi**

- **Undiagnosed Disease Network International (UDNI)** è stata costituita nel 2015 sul modello dell'**US NIH Undiagnosed Diseases Program** per rispondere alle esigenze non soddisfatte dei pazienti non diagnosticati a livello globale. All'UDNI (http://www.udninternational.org/) partecipano a oggi oltre USA e Italia (il CNMR è membro fondatore), altri paesi europei (Austria, Francia, Germania, Ungheria, Spagna, Svezia, Olanda), Canada, Giappone, Australia, India, Israele, Corea del Sud, Sri Lanka e Tailandia. Il network si avvale delle competenze multidisciplinari di medici e ricercatori (clinici e non, genetisti, statistici, bioinformatici ecc.).
- **International Rare Diseases Research Consortium (IRDiRC)** fondato nel 2011, riunisce ricercatori e organizzazioni impegnati nella ricerca sulle malattie rare per sviluppare strumenti per la diagnosi molecolare di tutte le malattie rare.
- **SWAN Europe**: è una coalizione di gruppi, organizzazioni e reti di supporto che lavorano con famiglie e/o pazienti affetti da sindromi senza nome e/o condizioni genetiche non diagnosticate. Gli attuali membri di SWAN Europe sono: AnDDI-Rares, Association Sans Diagnostic et Unique (ASDU), EURORDIS, FEDER, Hopen, Objetivo Diagnostico, Platform ZON, SWAN UK e UNIAMO (info@SWANeurope.eu).
- **RareConnect**: Gruppo di discussione sulle malattie non diagnosticate.
- **Solve-RD** è un progetto di ricerca finanziato dalla Commissione europea. Lavora per fornire test diagnostici per la maggior parte delle malattie rare. Solve-RD si integra completamente con le reti di riferimento europee (ERN) di recente costituzione e collabora con Rare Diseases Europe (EURORDIS) (https://www.eurordis.org/content/undiagnosed-rare-diseases) per coinvolgere i pazienti nell'iniziativa.

da uno specialista all'altro. Questi prescrivono test e indagini strumentali e tentano anche vari approcci terapeutici "ex juvantibus" con l'obiettivo di arrivare finalmente alla diagnosi corretta, che rappresenta la chiave per consentire l'accesso a un'assistenza medica e sociale efficace e a cure appropriate. Tuttavia, anche in assenza di un trattamento specifico, ottenere una precisa diagnosi offre al paziente l'opportunità di programmare il proprio futuro e alle famiglie di mettere in atto serenamente una pianificazione riproduttiva. Come è noto, almeno l'80% delle MR ha una causa genetica. Per questa quota molto rilevante di MR i progressi degli ultimi anni nel campo della genetica hanno reso disponibili nuovi strumenti diagnostici. La vera rivoluzione è avvenuta con la possibilità di indagini di analisi molecolare, rappresentate dalla Next Generation Sequencing (NGS). I progressi nella tecnologia di sequenziamento hanno enormemente accelerato la individuazione di mutazioni responsabili di malattie genetiche, su base individuale e in un arco di tempo clinicamente utile, mentre in passato erano necessarie ripetute e successive analisi molecolari in vari geni, ritenuti possibili candidati del quadro clinico osservato nel paziente. Attualmente il test diagnostico di scelta per i pazienti con MR, quando indagini cliniche e di laboratorio tradizionali non hanno portato a una diagnosi, è rappresentato dal sequenziamento dell'intero esoma (Whole Exome Sequencing, WES) cioè dell'intera porzione del genoma codificante per proteine, che rappresenta meno del 2% del genoma, ma contiene circa l'85% delle varianti che causano malattie note. Tuttavia, anche a seguito dell'abbattimento progressivo dei costi in confronto con quelli delle tecniche tradizionali di sequenziamento tipo Sanger, risulterebbe addirittura più conveniente eseguire direttamente il sequenziamento dell'intero genoma (Whole Genome Sequencing, WGS), che comprende, oltre l'esoma, tutto il DNA non codificante per proteine.

Per le MR di origine genetica (80%) sono oggi disponibili nuove tecnologie diagnostiche, la più avanzata delle quali è la NGS

Programmi internazionali per malattie rare senza diagnosi

Poiché il sequenziamento genomico è percepito come il test diagnostico di scelta per famiglie con malattie senza diagnosi o rare, sono fiorite negli ultimi anni in tutto il mondo programmi qualificati, che mettono a disposizione risorse e strutture per queste categorie di pazienti, in primo luogo per l'esecuzione di analisi molecolari di nuova generazione. La tabella 1 elenca alcune iniziative europee e internazionali per malattie senza diagnosi, che hanno anche meritoriamente stabilito reti di collaborazione per condividere i risultati e arricchire i database a cui si fa riferimento per la loro interpretazione. L'Italia è molto impegnata in simili iniziative, come il programma dell'Istituto Superiore di Sanità- Centro Nazionale Malattie Rare, anche in collaborazione con gli NIH statunitensi nell'ambito dell'Undiagnosed Disease Network International (UDNI) (1), e il progetto Undiagnosed Diseases Program (UDP) della Fondazione Telethon, col coordinamento del TIGEM di Pozzuoli-Napoli, anch'esso afferente all'UDNI. Molto qualificata è pure l'attività clinica e di laboratorio dell'Ospedale Bambino Gesù di Roma per l'inquadramento dei pazienti "orfani di diagnosi".

Prospettive future

Francis S. Collins, ex direttore del National Human Genome Research Institute, ha scritto: "Man mano che impariamo di più su interventi efficaci per i fattori di rischio genetico e riconosciamo che gli interventi nella prima infanzia offrono vantaggi significativi, diventerà sempre più convincente ottenere queste informazioni alla nascita" (2). Per prevenire l'"odissea" dei pazienti senza diagnosi o con diagnosi tardive sarebbe immaginabile in un prossimo futuro una carta d'identità ottenuta già nei primi giorni di vita sulla composizione del patrimonio genetico individuale? In realtà nel 2014, sono stati finanziati negli USA quattro gruppi di ricerca per esplorare il sequenziamento neonatale in diversi contesti, con l'obiettivo di studiare anche aspetti etici, legali e sociali di questo approccio (3). Molto produttivo di risultati è il progetto BaySeq per il sequenziamento genico in neonati, sul tipo

Per prevenire l'*odissea* di pazienti senza diagnosi sono in corso progetti per esplorare il sequenziamento genomico neonatale

degli screening neonatali metabolici. Si tratta di uno studio clinico pilota randomizzato che esplora l'applicazione di Sequenziamento Genomico neonatale (SGn) tramite WGS in neonati sani e in quelli ricoverati in un'unità di terapia intensiva, senza selezionare quelli sospettati di avere un disturbo genetico, e valuta gli impatti medici, comportamentali ed economici di SGn. Un recente rapporto (4) sull'analisi e la segnalazione dei risultati di SGn in 159 neonati (su 3860 famiglie invitate) include dati su:

1) *rischio e stato di portatore di malattia ad insorgenza infantile*
2) *rischio di malattia ad insorgenza in età adulta, suscettibile di intervento medico ("medically actionable")*
3) *risultati farmacogenomici selezionati, rilevanti per i farmaci utilizzati in pediatria*
4) *varianti relative a un'indicazione specifica o presente alla nascita o comparsa nel corso dello studio.*

Esiste, tuttavia, un dissenso all'interno della comunità dei genetisti e dei bioeticisti sull'utilizzo del sequenziamento dell'intero genoma per cercare opportunisticamente una vasta gamma di condizioni nei bambini, anche se alcuni genitori esprimono il desiderio di ottenere questo tipo di informazioni (5).

Il ruolo del clinico e della consulenza genetica

Con lo sviluppo delle metodiche di nuova generazione per l'analisi mutazionale delle malattie genetiche il percorso per arrivare alla diagnosi si è in parte modificato. Il percorso diagnostico tradizionale era ed è ancora basato su: anamnesi ed esame clinico con esecuzione di test di laboratorio e indagini strumentali che servano a confermare o escludere un sospetto diagnostico. Oggi, invece, di fronte a un sospetto clinico, anche piuttosto generico, verso patologie con prevalente compro-

La consulenza clinico-genetica al paziente e alla famiglia è fondamentale, come lo è educare il pubblico a rivolgersi esclusivamente a Centri competenti

missione di particolari organi o apparati, il medico è portato a far subito ricorso all'analisi mutazionale con NGS, in particolare al WES, rimandando a una fase successiva, nel caso di un risultato positivo, lo studio clinico più approfondito del paziente. Esiste, dunque, il rischio che il clinico si senta deresponsabilizzato nell'approfondire il sospetto diagnostico, in attesa del referto dell'analisi molecolare, magari dell'intero genoma, del paziente? In verità, dopo il successo del sequenziamento del genoma umano annunciato nei primi anni 2000 da Francis Collins e Craig Venter, ci si rese conto che si era solo all'inizio di una lunga strada ancora da percorrere. La sequenza dei nucleotidi del genoma richiede, per esempio, ulteriori complesse ricerche per conoscere la funzione delle proteine codificate dai geni. Anche in campo clinico l'identificazione del gene patogeno è il primo passo per capire la fisiopatologia della malattia che esso provoca, compresa la possibile eterogeneità dello spettro fenotipico. Come esempio, per le malattie ereditarie del metabolismo una corretta interpretazione dei risultati di WES e/o WGS può essere ottenuta solo eseguendo studi funzionali a più livelli, attraverso diverse piattaforme "omiche", indagini enzimologiche, analisi del flusso di metaboliti in vitro e in vivo, spesso con utilizzo di organismi modello, e richiede la collaborazione con molte discipline diverse per rendere efficace l'approccio al cosiddetto "metabolismo traslazionale" (6). Purtroppo il legittimo desiderio dei pazienti e delle famiglie di avere risposte sulla causa delle loro malattie può indirizzare verso i test diretti al consumatore, che sono al di fuori dei regolamenti condivisi sulle analisi genetiche cliniche, in quanto non offrono una consulenza pre-test significativa, né informazioni critiche sull'interpretazione dei risultati, ammesso che essi siano senza errori. La consulenza clinico-genetica personalizzata al paziente e alla sua famiglia è fondamentale per facilitare il processo decisionale informato, chiaramente stabilire aspettative realistiche per possibili risultati e aiutare a comprenderne correttamente il significato.

È importante, perciò, educare il pubblico a rivolgersi solo a centri affidabili per competenze cliniche e di laboratorio, in grado di fornire consulenze corrette pre- e post-test. Anche in questo caso le "fake news" possono avere conseguenze devastanti sulla vita delle persone.

Bibliografia

1. Taruscio D, Floridia G, Salvatore M, et al. Undiagnosed Diseases: Italy-US Collaboration and International Efforts to Tackle Rare and Common Diseases Lacking a Diagnosis. In: Posada de la Paz M., Taruscio D., Groft S. (eds) Rare Diseases Epidemiology: Update and Overview. Advances in Experimental Medicine and Biology. 2017; vol 1031. Springer, Cham.
2. Collins FS. The Language of Life. DNA and the revolution in personalized medicine. New York etc. Harper; 2011.
3. Berg JS, Agrawal PB, Bailey DB Jr, et al. Newborn sequencing in genomic medicine and public health. Pediatrics. 2017; 139: e20162252
4. Ceyhan-Birsoy O, Murry JB, Machini K, et al. Interpretation of Genomic Sequencing Results in Healthy and Ill Newborns: Results from the BabySeq Project. Am J Hum Genet. 2019; 104:76–93.
5. Ross LF, Clayton EW. Ethical Issues in Newborn Sequencing Research: The Case Study of BabySeq. Pediatrics. 2019; 144(6): e20191031.
6. Wanders RJA, Vaz FM, Ferdinandusse S, et al. Translational Metabolism: A multidisciplinary approach towards precision diagnosis of inborn errors of metabolism in the omics era. J Inherit Metab Dis. 2019; 42:197–208.

MR

la Rivista

Una proposta educazionale a 360°:

- la Rivista
- il portale Web
- il Corso online di Formazione a Distanza



Ogni numero della Rivista è accompagnato da una **FAD** (Formazione a Distanza), con erogazione di crediti formativi ECM



www.malattierare.eu

per leggere MR e i supplementi, richiedere la Rivista, consultare la redazione e per accedere alla FAD di MR



L'alfa-Mannosidosi: diagnosi, terapia e follow up



Irene Bruno
Responsabile Malattie Metaboliche e Rare, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste

G. giunge alla nostra attenzione all'età di due anni con ritardo dello sviluppo psicomotorio, ipotonia e atassia. Alla visita presenta lineamenti grossolani del volto, la cui progressiva comparsa è documentata dalle fotografie del bambino in età precedenti (fig.1).

Vengono eseguiti una serie di controlli mirati a cercare un coinvolgimento d'organo nell'ottica di una malattia da accumulo lisosomiale: le indagini a carico di cuore, fegato, milza ed encefalo risultano nella norma. Viene tuttavia evidenziata la presenza di una disostosi vertebrale e di una ipoacusia mista, dato che rinforza il sospetto clinico di malattia d'accumulo. Le indagini enzimatiche escludono le più comuni malattie da accumulo lisosomiale, tra cui le mucopolisaccaridosi 1 e 2. Il bambino ha presentato numerose otiti e una otite media essudativa che ha necessitato di drenaggi timpanici e una progressione dell'ipoacusia neurosensoriale che ha richiesto la protesizzazione acustica.

Fig. 1 **Valutazione dismorfologica**



Tipici lineamenti grossolani; dentini distanti; protesi acustiche e visus corretto con lenti per ipermetropia e strabismo.

Vista la facies con lineamenti grossolani, il ritardo psicomotorio, l'atassia e la presenza di disostosi multiple è stato cercato e trovato il deficit di alfa-mannosidasi, confermato poi geneticamente.

Contestualmente in Europa era stato avviato uno studio di terapia enzimatica sostitutiva per alfa-Mannosidosi in bambini sotto i sei anni di vita in cui è stato inserito il paziente.

In trattamento da quasi due anni, oggi G. ha avuto miglioramenti significativi soprattutto nella sfera motoria con maggiore fluidità del movimento, minor impaccio motorio e riduzione delle infezioni respiratorie. Permane il ritardo linguistico ma il quoziente intellettivo, quantificato con appropriati test, risulta nella norma anche se il farmaco non passa la barriera ematoencefalica.

Facies con lineamenti grossolani, ritardo psicomotorio, atassia e disostosi multipla suggeriscono la ricerca del deficit

Tab. 1 Quando sospettare la malattia

L'alfa-Mannosidosi va sospettata in presenza dei seguenti sintomi:

- **Facies** con lineamenti grossolani, fronte prominente, sella nasale piatta, denti distanti, macroglossia, prognatismo, macrocefalia
- **Anomalie scheletriche** (disostosi multipla, osteonecrosi)
- **Ipoacusia** mista
- **Ritardo** psicomotorio/disabilità intellettiva
- **Infezioni** frequenti
- **Impaccio** motorio (goffaggine, ipotonia, atassia)

L'alfa-Mannosidosi

L'alfa-Mannosidosi è una rara malattia da accumulo dovuta alla mancanza di un'idrolasi lisosomiale, l'alfa-mannosidasi, deputata alla degradazione delle glicoproteine derivanti dal normale catabolismo cellulare, in piccoli frammenti tali da poter essere trasportati nel citosol per essere riutilizzati. L'accumulo di tali sostanze, associato ad altri meccanismi patofisiologici ancora non del tutto noti, risulta tossico per le cellule e porta al fenotipo clinico della malattia.

Quando sospettarla

Il sospetto diagnostico si pone per pazienti che presentino una facies con lineamenti grossolani (detta "Hurler like") associata a perdita uditiva sia di tipo neurosensoriale che trasmissiva e a disabilità intellettiva di grado lieve moderato. Di frequente riscontro ed utile nel processo diagnostico risulta, inoltre, una condizione di immunodeficienza associata a frequenti infezioni respiratorie, anomalie scheletriche, impaccio motorio/atassia, strabismo (tab.1).

Le aree cerebrali maggiormente coinvolte dalla malattia sono proprio quelle deputate alla motricità fine ed alla coordinazione, il cervelletto è spesso coinvolto ed ipotrofico. Un idrocefalo comunicante può comparire a qualsiasi età.

Più rare sono le opacità corneali, l'epatosplenomegalia, le osteonecrosi asettiche e la miopatia.

La malattia presenta un *continuum* fenotipico, suddiviso per praticità in forme lievi (tipo 1) diagnosticate dopo i dieci anni di vita, prive di manifestazioni scheletriche e miopatiche; forme intermedie (tipo 2) diagnosticate nei primi dieci anni di vita che presentano un po' tutte le caratteristiche e la progressione di malattia e forme gravi (tipo 3), spesso incompatibili con la vita o a decorso rapidamente progressivo.

La diagnosi si basa sul dosaggio dell'enzima nei leucociti o nei fibroblasti, mentre la conferma è genetica

Aspetti clinici

Inizialmente lo sviluppo intellettivo può apparire normale, ma con il progredire della malattia la disabilità intellettiva è presente in tutti gli individui affetti. La presenza di ipoacusia e ritardo del linguaggio compromette ulteriormente i valori di QI ai test.

Dopo la pubertà i disturbi psichiatrici colpiscono il 25% degli affetti.

I bambini sono ipotonici, presentano ritardo nelle acquisizioni delle tappe motorie, sono impacciati, spesso atassici. A causa dell'immunodeficienza si riscontrano frequenti infezioni respiratorie, otiti, gastroenteriti e infezioni urinarie. Le infezioni diminuiscono poi dalla seconda decade di vita.

Diagnosi

La diagnosi si basa sul dosaggio dell'attività enzimatica dell'alfa-mannosidasi acida nei leucociti o nei fibroblasti. La conferma genetica avviene con l'identificazione di varianti patogenetiche nel gene MAN2B1, la malattia ha una ereditarietà di tipo recessivo.

Nelle urine è possibile riscontrare un'aumentata escrezione di oligosaccaridi ricchi in mannosio, ma in caso di sospetto diagnostico, vista la possibilità di falsi negativi, è preferibile utilizzare il test enzimatico. Nel 90% dei pazienti, allo striscio di sangue periferico sono presenti numerosi linfociti vacuolati.

Trattamento

Il trattamento di questi pazienti deve avere come obiettivo il miglioramento della qualità di vita e la prevenzione/trattamento delle complicanze a lungo termine. L'alfa-Mannosidosi coinvolge più sistemi ed apparati e necessita di un team specia-

La terapia enzimatica sostitutiva con velmanase alfa è ben tollerata e rallenta le complicanze non neurologiche della malattia oltre a ridurre infezioni batteriche e uso di antibiotici

lizzato multidisciplinare per un corretto follow up. Oltre ai controlli ospedalieri specialistici (otorino, audiometrista, ortopedico, internista, oculista…), fondamentale è la presa in carico socio-sanitaria territoriale volta all'integrazione scolastica e tra pari, alla presa in carico abilitativa e riabilitativa del paziente.
Indicati i vaccini vista la predisposizione alle infezioni, inclusi i vivi attenuati.

La terapia enzimatica sostitutiva
Nel luglio 2018 l'European Medical Agency (EMA) ha approvato una terapia enzimatica sostitutiva volta a rallentare le complicanze non neurologiche della malattia.
Velmanase alfa si somministra settimanalmente per via endovenosa ed è generalmente molto ben tollerato; non passa la barriera ematoencefalica, si è dimostrato efficace nel ridurre le infezioni batteriche, l'uso di antibiotici e nel migliorare l'impaccio motorio.
L'IRCCS Burlo Garofolo è attualmente l'unico Centro Italiano che partecipa ad uno studio multicentrico europeo volto a valutare benefici ed effetti collaterali della terapia enzimatica sostitutiva avviata prima dei sei anni di vita nei bambini affetti.

Il trapianto di midollo
Il trapianto di midollo è stato tentato nei piccoli pazienti diagnosticati precocemente con l'obiettivo di prevenire il decadimento cognitivo e di ottenere il miglioramento generale dei sintomi. Al momento non è considerato una terapia efficace a fronte dei molti effetti collaterali e rischi e degli scarsi benefici osservati.

La diagnosi differenziale

Si pone con le altre malattie da accumulo lisosomiale, tra queste:

- **Mucopolisaccaridosi**: presenza di lineamenti grossolani, disostosi multipla con bassa statura e contratture articolari
- **Sialidosi**: lineamenti grossolani e disostosi multipla, ma anche una caratteristica macchia rosso ciliegia alla macula
- **Mucolipidosi 2**: lineamenti grossolani e disostosi, bassa statura e malnutrizione.

L'alfa-Mannosidosi è una malattia rara e ha diritto all'esenzione RCG091. A tutt'oggi in Italia non esiste ancora una associazione di pazienti specifica per la malattia.

Bibliografia

1. Yunis JJ, Lewandowski RC Jr, Sanfilippo SJ, Tsai MY, et al. Clinical manifestations of mannosidosis-a longitudinal study. Am J Med. 1976;61:841–8.
2. Borgwardt L, Guffon N, Amraoui Y, et al. Efficacy and safety of Velmanase alfa in the treatment of patients with alpha-mannosidosis: results from the core and extension phase analysis of a phase III multicentre, double-blind, randomised, placebo-controlled trial. J Inherit Metab Dis. 2018;41:1215–23.
3. Dietemann JL, Filippi de la Palavesa MM, Tranchant C, et al. MR findings in mannosidosis. Neuroradiology. 1990;32:485–7.
4. Malm D, Halvorsen DS, Tranebjaerg L, et al. Immunodeficiency in alpha-mannosidosis: a matched case-control study on immunoglobulins, complement factors, receptor density, phagocytosis and intracellular killing in leucocytes. Eur J Pediatr. 2000;159:699–703.
5. Riise Stensland HM, Frantzen G, Kuokkanen E, et al. amamutdb.no: A relational database for MAN2B1 allelic variants that compiles genotypes, clinical phenotypes, and biochemical and structural data of mutant MAN2B1 in α-mannosidosis. Hum Mutat. 2015;36:581–6.
6. Spranger J, Gehler J, Cantz M. The radiographic features of mannosidosis. Radiology. 1976;119:401–7.



Pemfigoide delle membrane mucose



Elena Rubini[1], Paolo Giacomo Arduino[2], Federica Machetta[3], Enrica Sarnicola[4], Karol Giancaspero[1], Elisa Foddai[1], Giorgia Caputo[1], Simone Baldovino[1]
[1]SCU Nefrologia e Dialisi - CMID Centro di Coordinamento Rete Interregionale per le Malattie Rare del Piemonte e della Valle D'Aosta - Ospedale S. Giovanni Bosco - ASL Città di Torino e Dipartimento di Scienze Cliniche e Biologiche, Università di Torino, [2]Dipartimento di Scienze Chirurgiche, C.I.R. Dental School, Torino, [3]UO Oculistica, Ospedale Koelliker, Torino, [4]SC Oculistica, Ospedale San Giovanni Bosco - ASL Città di Torino

Nel 2006 il signor B., di 72 anni, lamentava la comparsa di lesioni bullose desquamanti a carico della cute del dorso, del collo e del cuoio capelluto, contestualmente all'insorgenza di sanguinamenti gengivali ricorrenti. Il paziente veniva sottoposto a valutazione odontostomatologica con riscontro di lesioni vescicolari-erosive a livello della mucosa orale, per le quali veniva data indicazione a biopsia: il referto istologico mostrava la presenza di un infiltrato linfo-plasmacellulare a carico della lamina propria connettivale, mentre l'esame in immunofluorescenza diretta mostrava una deposizione lineare di IgG a livello della membrana basale, reperti compatibili con diagnosi di pemfigoide delle membrane mucose. Veniva avviata una terapia steroidea endovenosa (ev) con metilprednisolone 1 g per tre giorni, seguita da prednisone orale ad alte dosi (50 mg a scalare).

Il paziente ha inizialmente risposto alla terapia steroidea, ma successivamente ha riferito la comparsa di arrossamento oculare associato a dolore urente e lacrimazione; alla visita oculistica si evidenziava la presenza di trichiasi palpebrale e veniva posto il sospetto di pemfigoide cicatriziale oculare (PCO).

Veniva quindi ripetuto il trattamento con steroidi ev e si decideva di avviare, previo ottenimento del consenso informato, un trattamento steroid-sparing con anticorpi monoclonali anti CD20 (espressi dai linfociti B) secondo lo schema utilizzato per l'artrite reumatoide (rituximab 1 g ev a distanza di due settimane) (1). A conclusione del ciclo terapeutico il paziente riportava un'esacerbazione di una pregressa epatite B per cui veniva sottoposto a terapia con lamivudina inizialmente associata ad interferone; quest'ultimo veniva successivamente interrotto per il possibile effetto trigger che avrebbe potuto indurre una riacutizzazione del PCO.

Il trattamento con rituximab risultò efficace per controllare le manifestazioni orali del pemfigoide ma non permise di stabilizzare la malattia a livello oculare. Si optò quindi per l'avvio di una terapia immunosoppressiva sistemica con micofenolato mofetile 2 g/die in associazione a terapia steroidea orale; il trattamento steroideo fu sospeso dopo poco a causa dello sviluppo di diabete mellito iatrogeno insulino-trattato. Stante lo scarso controllo dei segni e sintomi oculari con la sola terapia immunosoppressiva venne effettuato un tentativo terapeutico con dapsone 50 mg/die,

Il PMM è una grave dermatosi bullosa a genesi autoimmune che coinvolge soprattutto le mucose e colpisce i soggetti anziani

successivamente aumentato a 100 mg/die sempre con scarso beneficio. La malattia oculare assumeva decorso cronico progressivo con evoluzione sinechiante e conseguente compromissione della capacità visiva, pertanto nel marzo 2013 veniva intrapreso un trattamento con immunoglobuline endovena (IGV) ad un dosaggio di 0,4 g/kg/die per cinque giorni al mese, seguito da singole infusioni mensili di IGV 0,4 g/kg/die (2). Le infusioni venivano progressivamente dilazionate fino alla loro completa sospensione avvenuta dopo 18 mesi di follow up durante i quali l'esame obiettivo e strumentale oculare apparivano in netto miglioramento, a testimonianza di una completa e persistente stabilizzazione clinica.

Il paziente proseguiva pertanto con sola terapia di mantenimento con dapsone 100 mg/die fino a luglio 2018 quando, durante rivalutazione oftalmologica, si rilevava una riattivazione della malattia associata a simblefaron bilaterale con scomparsa degli archi oculari e comparsa di panno corneale. In considerazione della buona risposta clinica ottenuta cinque anni prima dalla terapia con immunoglobuline ev a scopo immunomodulante, si riavviava trattamento di induzione con tre infusioni al mese di IGV 0,4 g/kg/die per tre mesi, seguite da richiami mensili come precedentemente sperimentato. Tale terapia risulta tuttora in corso, la rivalutazione oftalmologica a tre mesi dal riavvio del farmaco ha evidenziato una completa remissione dell'attività di malattia e, in virtù della persistente stabilità clinica, a ottobre 2019 è stata data indicazione a trapianto di cellule limbari da donatore vivente.

Epidemiologia e prognosi

Il pemfigoide delle membrane mucose (PMM), noto anche come pemfigoide cicatriziale (PC), è una grave dermatosi bullosa a genesi autoimmune, che colpisce soprattutto le mucose. L'epidemiologia del PMM non è chiara ma diversi studi indicano un'incidenza di malattia compresa fra 1 e 2 casi/milione/anno (3). Più comune nelle donne e nelle persone in età avanzata, clinicamente il PMM è una malattia sistemica che colpisce le mucose come la congiuntiva oculare, la mucosa orale e genitale, meno comunemente la cute, il faringe, l'esofago e la laringe; la progressiva cicatrizzazione di tessuti di occhio, gola ed esofago può determinare la comparsa di gravi complicanze che possono potenzialmente impattare in maniera significativa su qualità e aspettativa di vita.

Patogenesi e diagnosi del PMM

La patogenesi della malattia può essere ricondotta alla presenza nel siero dei pazienti di autoanticorpi contro antigeni della membrana basale, questi tuttavia sono rilevabili con minore frequenza e con un titolo generalmente inferiore rispetto a quanto non accada in alte patologie autoimmuni cutanee. Gli antigeni più frequentemente associati alla malattia sono il collagene VII e il collagene XVII (chiamato anche BP180), la BP230, la laminina 332 e l'integrina $\alpha6/\beta4$ (4).

La diagnosi si basa sull'esame obiettivo delle mucose, sulla biopsia e sul riscontro di autoanticorpi contro il collagene VII e XVII, la BP230, la laminina 332 e l'integrina $\alpha6/\beta4$

Fig. 1 **Manifestazioni cliniche suggestive**



A. Lesioni sinechianti a livello congiuntivale B. Lesioni ulcerative della mucosa del cavo orale

Il sospetto diagnostico si può porre in presenza di manifestazioni cliniche suggestive (occhio arrossato senza causa apparente, presenza di lesioni sinechianti a livello congiuntivale (fig. 1/A), lesioni ulcerative delle gengive, del palato (fig. 2/B) e dei genitali).

La diagnosi si basa, oltre che

La presa in carico multidisciplinare prevede follow up presso centri esperti per l'avvio di un trattamento steroideo, immunomodulante o immunosoppressivo

sull'esame obiettivo delle mucose coinvolte da parte di clinici esperti della malattia, sulla biopsia (non sempre effettuabile, soprattutto nelle forme a coinvolgimento solo oculare) e sul riscontro di autoanticorpi contro gli antigeni sopraindicati nel siero dei pazienti (4). In numerosi casi il PMM rappresenta una manifestazione paraneoplastica (soprattutto quando sono presenti anticorpi anti laminina 332); è quindi indispensabile effettuare un esteso screening per patologie neoplastiche solide o ematologiche e monitorare i pazienti nel tempo per evidenziare la comparsa di eventuali tumori.

Approcci terapeutici

I corticosteroidi per via sistemica a dosaggi immunosoppressivi, così come gli immunomodulanti (dapsone, mitomicina-C) e gli immunosoppressori (ciclofosfamide, azatioprina, metotressato, micofenolato di mofetile), sono i capisaldi del trattamento del PMM grave (5); negli ultimi anni sono stati anche utilizzati farmaci biotecnologici quali rituximab (2). In casi selezionati non responsivi alle terapie standard è possibile utilizzare immunoglobuline per via endovenosa (IGV) ad alte dosi (6). Nei casi in cui siano presenti estese lesioni cicatriziali a livello corneale, quando la componente infiammatoria della malattia sia ben controllata è possibile proporre ai pazienti un trapianto di limbus (7).

Conclusioni

Il PMM è una patologia autoimmune grave che colpisce soprattutto i soggetti anziani. Il sospetto clinico deve essere rapidamente posto dal medico di medicina generale, dagli oculisti e dagli odontoiatri al fine di inviare prontamente il paziente presso i centri esperti dove possa essere confermata la diagnosi e dove si possa intervenire prontamente con un trattamento steroideo, immunomodulante o immunosoppressivo al fine di ridurre il rischio di un'evoluzione cicatriziale. L'iter diagnostico deve includere una valutazione estensiva di possibili neoplasie sottostanti.
La gestione dei pazienti affetti da pemfigoide delle membrane mucose richiede un approccio multispecialistico e spesso necessita dell'uso di trattamenti off-label.

Bibliografia

1. Lamberts A, , Euverman HI, Terra JB. et al. Effectiveness and Safety of Rituximab in Recalcitrant Pemphigoid Diseases. Front Immunol. 2018;9:248.
2. Witte M, Zillikens D, Shimanovich I. Intravenous immunoglobulins for rituximab-resistant mucous membrane pemphigoid. J Eur Acad Dermatol Venereol. 2018;32(8):e321-e324.
3. Broussard KC, , Leung TG, Moradi A, et al. Autoimmune bullous diseases with skin and eye involvement: Cicatricial pemphigoid, pemphigus vulgaris, and pemphigus paraneoplastica. Clin Dermatol. 2016;34(2):205-13.
4. Kamaguchi M, Iwata H. The Diagnosis and Blistering Mechanisms of Mucous Membrane Pemphigoid. Front Immunol. 2019;10:34.
5. Buonavogli A, Leone P, Dammacco R, et al. Pemphigus and mucous membrane pemphigoid: An update from diagnosis to therapy. Autoimmun Rev. 2019;18(4):349-358.
6. Tavakolpour S. The role of intravenous immunoglobulin in treatment of mucous membrane pemphigoid: a review of literature. J Res Med Sci. 2016;21:37.
7. Movahedan A, Cheung AY, Eslani M, et al. Long-term Outcomes of Ocular Surface Stem Cell Allograft Transplantation. Am J Ophthalmol. 2017;184:97-107.



Una condizione ultra rara da scoprire: la sindrome di Kleefstra



Chiara Armano[1], Paola Cianci[1-2], Angelo Selicorni[2]
[1]Clinica Pediatrica, Ospedale F. Del Ponte, Università degli Studi dell'Insubria, Varese
[2]UOC Pediatria ASST Lariana PO S. Fermo della Battaglia, Como

V. è un bambino di 3 anni e 11 mesi che conosciamo dai 15 mesi perché inviato per una visita genetica di inquadramento. Il piccolo è nato alla 38° settimana di EG da parto eutocico dopo gravidanza normodecorsa. Il peso alla nascita era 2,600 kg (97°p.le), l'APGAR 9/10. Riferito buon adattamento alla vita extra-uterina. La crescita staturo-ponderale è riferita costante, ai centili superiori della norma. In anamnesi vengono riportati tre episodi di convulsione febbrile semplice ed un ricovero a 15 mesi per polmonite dispnoizzante oltre a svariati episodi infettivi. La visita oculistica mostra un'escavazione della papilla (pseudocoloboma). La RMN evidenzia una modesta ipoplasia del corpo calloso. Al momento della valutazione V. frequenta la scuola dell'infanzia con sostegno per un quadro di moderato ritardo psicomotorio; è presente un modesto ipertono a carico degli arti inferiori ed una discreta scialorrea.
All'età dell'ultima valutazione pronuncia qualche parola con buon intento comunicativo. All'esame obiettivo sono presenti sfumate anomalie minori del viso tra cui la presenza di occhi infossati, labbra carnose con labbro superiore incurvato, denti spaziati ed una ipoplasia medio facciale (Fig. 1). Ha eseguito un arrayCGh risultato nella norma. L'insieme dei dati clinici è comunque orientativo per un quadro complesso su base costituzionale. In assenza di diagnosi cliniche gestaltiche il piccolo viene sottoposto a Whole Exome Sequencing che non mostra varianti patogenetiche significative.

Oltre alle anomalie del viso, sono frequenti quelle dentarie, obesità, ritardo psico-motorio e disabilità, malformazioni cardiache, renali e disturbi del sonno

Fig. 1 **Il paziente a 15 mesi, in occasione della prima valutazione**



La rivalutazione del quadro con l'utilizzo del programma Face2gene suggerisce un'ipotesi di sindrome di Kleefstra. Poiché tale ipotesi sembra convincente andiamo ad analizzare perché i test genetici sin qui eseguiti non siano stati di aiuto. Questo approfondimento ci permette di capire che una quota minoritaria di questi pazienti può avere una delezione intragenica a carico del gene malattia EHMT1.
Attiviamo, quindi, una indagine MLPA del gene stesso che ci permette di mettere in luce una delezione dell'esone 19 che conferma la diagnosi clinica.

La sindrome di Kleefstra (KS)

Inizialmente descritta come "sindrome da delezione 9q subtelomerica", è una rara malattia genetica caratterizzata da dismorfismi, ipotonia, disabilità intellettiva con grave ritardo del linguaggio (1) descritta la prima volta nel 1999; dal 2010 la condizione ha preso il nome della dottoressa olandese Tjitske Kleefstra che si dedica attivamente allo studio di questa sindrome.
Ad oggi sono descritti circa 100 pazienti con diagnosi certa (2), ma la prevalenza può essere considerata più alta tenuto conto delle probabili mancate diagnosi (3); maschi e femmine sono affetti in proporzione similare.
Il difetto di base è rappresentato nel 50-80% dei casi da una microdelezione della regione cromosomica 9q34.3 e nel restante 20-50% da mutazioni/anomalie intrageniche del gene EHMT1 (Euchromatin Histone Methyl-Transferase 1) mappato all'interno della regione cromosomica 9q34.3 stessa (3) (4). Il gene codifica per una proteina di 1298 aminoacidi coinvolta nel processo di metilazione del DNA.

La diagnosi

La diagnosi di KS fondata sul sospetto clinico può trovare conferma biologica attraverso arrayCGH per l'identificazione di duplicazioni/delezioni della regione cromosomica 9q34.3 o sequenziamento del gene EHMT1 (analisi diretta, WES, pannelli genomici per disabilità intellettiva contenenti il gene in oggetto). È necessaria l'analisi MLPA per l'identificazione di piccole delezioni intrageniche descritte nel 5% dei pazienti (5). Le anomalie genetiche sopracitate sono solitamente ad insorgenza casuale, de novo (90%), nel soggetto affetto; è, quindi, rara l'osservazione di una ricorrenza familiare. La presenza di un mosaicismo somatico (o germinale) per uno dei difetti o di una traslocazione cromosomica bilanciata coinvolgente la regione 9q34.3 in uno dei genitori rappresentano elementi favorenti una ricorrenza familiare della patologia.

Caratteristiche cliniche

Sul piano fenotipico i bambini affetti presentano anomalie minori del viso abbastanza specifiche quali: brachi-microcefalia, fronte ampia, sopracciglia arcuate, sinofria, lieve up slanting delle rime palpebrali, elice ispessito, naso corto con narici anteverse, ipoplasia mediofacciale, labbro superiore incurvato, labbro inferiore extroverso, lingua protrusa e prognatismo (5). I tratti del viso si fanno più accentuati con il passare degli anni. Frequenti sono inoltre le anomalie dentarie (presenza di denti neonatali o ritardata perdita della dentizione primaria).
Il quadro tipico della KS si caratterizza inoltre con:
Accrescimento staturo ponderale: il peso alla nascita dei pazienti con KS è normale o ai limiti superiori di norma (10% dei casi delezione 9q34.3 e 50% mutazione EHMT1) ed evolve, in circa la metà dei casi, verso quadri di sovrappeso e obesità. La statura è solitamente nei range di normalità.
Ritardo psicomotorio/disabilità intellettiva: è comune il riscontro di ipotonia nei primi mesi/anni di vita con conseguente ritardo nell'acquisizione delle normali tappe di sviluppo motorio. La deambulazione autonoma può avvenire intorno ai 2-3 anni (3). I pazienti mostrano usualmente quadro di disabilità intellettiva moderata/severa; sono però descritti pazienti con un ritardo mentale lieve o QI ai limiti inferiori di norma nell'ambito di un disturbo dello spettro autistico (1).
Data la non elevata numerosità dei soggetti noti, non è ancora definibile in modo assoluto la reale

La KS presenta deficit cognitivo, ipotonia, ritardo del linguaggio espressivo e facies caratteristica: alcuni pazienti possono avere una delezione intragenica del gene malattia EHMT1

variabilità di espressione clinica. È descritta la presenza di un grave ritardo del linguaggio espressivo, mentre risulta maggiormente preservata la comprensione del linguaggio nell'ambito di una cosiddetta "childhood apraxia of speech". In relazione a ciò alcuni pazienti utilizzano con buoni risultati sistemi di comunicazione non verbale (2).

Ulteriori problematiche relative alla sfera del neurosviluppo e del comportamento sono rappresentate da disturbi dello spettro autistico, stereotipie e modesti atteggiamenti di autoaggressività che a volte evolvono in quadri di apatia e catatonia nell'adulto.

Malformazioni maggiori: non esiste una malformazione maggiore tipica della condizione ed evocativa della stessa come avviene in altre condizioni sindromiche.

Sono segnalati con una prevalenza significativamente maggiore rispetto alla popolazione generale i seguenti difetti congeniti: anomalie cardiache osservate nel 30% dei casi ed estremamente variabili in termini di tipologia (difetti del setto atriale e ventricolare, tetralogia di Fallot, coartazione aortica, valvola aortica bicuspide e stenosi polmonare); alterazioni del sistema nervoso centrale (ipoplasia del corpo calloso, anomalie corticali e difetti della sostanza bianca); anomalie renali (idronefrosi, cisti renali, reflusso vescico-ureterale); anomalie dei genitali nei maschi (ipospadia, criptorchidismo e micropene).

Comorbidità pediatriche: i pazienti con KS mostrano non raramente problematiche gastro-intestinali quali reflusso gastroesofageo, addominalgia, stipsi. Sono occasionalmente stati osservati bambini con infezioni respiratorie ricorrenti. È inoltre possibile l'insorgenza di episodi critici convulsivi (30% dei casi con delezione 9q34.3 e 20% dei casi con mutazione EHMT1) e quadri epilettici (crisi tonico cloniche, assenze, epilessia parziale complessa) (2).

In ambito sensoriale alcuni pazienti presentano ipoacusia neurosensoriale o trasmissiva ed alterazioni dell'acuità visiva (ipermetropia). Una potenziale complicanza cardiologica non malformativa è rappresentata dalla presenza di flutter atriale. I pazienti con KS possono presentare disturbi del sonno con frequenti risvegli notturni.

Alcuni report segnalano che nei pazienti adolescenti o giovani adulti i disturbi del sonno possono anticipare la comparsa di una regressione con sviluppo di psicosi, depressione o disturbi bipolari. Un precoce trattamento farmacologico con antipsicotici è fondamentale per migliorare l'outcome a lungo termine rallentando l'evolutività del quadro psichico (6).

In termini di correlazione genotipo-fenotipo i dati ad oggi disponibili sembrano

La diagnosi differenziale della KS si pone con le sindromi di Down, di Smith-Magenis e di Angelman, con la sindrome KMT2C-associata e l'aploinsufficienza di MBD5

Tab. 1 **Diagnosi differenziale della sindrome di Kleefstra**

Sindrome genetica in diagnosi differenziale	Caratteristiche fenotipiche comuni alla KS
Sindrome di Down	Brachicefalia Protusione della lingua Ipertelorismo Ipoplasia mediofacciale Ipotonia
Sindrome di Smith-Magenis	Ipotonia/apatia nei primi anni di vita Ipoplasia mediofacciale Disturbi del sonno Dismorfismi facciali Ritardo del linguaggio
Sindrome di Pitt-Hopkins	Crisi convulsive Disturbi del sonno Ritardo del linguaggio
Sindrome di Angelman	Disturbi del sonno con frequenti risvegli Ipoplasia medio facciale/prognatismo Disturbi dello spettro autistico
Sindrome da mutazione del gene KMT2C	Disabilità intellettiva Dismorfismi Disturbi dello spettro autistico
Aploinsufficienza di MBD5	Disabilità intellettiva Crisi convulsive Regressione dello sviluppo

Modificata da Kleefstra T, de Leeuw N. Gene Reviews 2010

evidenziare come i quadri secondari a microdelezione (se di ampiezza >1 Mb) si associno a fenotipi più severi (4) rispetto a quelli in cui il difetto di base è rappresentato da microdelezione di ampiezza inferiore ad 1Mb o a mutazioni intrageniche, sia in termini di gravità della disabilità intellettiva che di frequenza/severità delle comorbidità mediche (3).

La KS entra in diagnosi differenziale con numerose condizioni sindromiche quali la sindrome di Down, di Smith-Magenis, di Pitt-Hopkins, di Angelman, la sindrome KMT2C associata e l'aploinsufficienza di MBD5. La tabella 1 descrive gli elementi clinici di overlapping tra la KS e le sindromi citate (4).

Conclusioni e prospettive

Come intuibile c'è ancora molto lavoro da fare per la definizione accurata sia della variabilità di espressione clinica della condizione sia della sua reale storia naturale. In analogia a tutte le condizioni sindromiche multisistemiche il followup assistenziale si giova di un percorso integrato tra un ambito neurospichiatrico/riabilitativo (la cui efficacia rappresenta l'elemento maggiormente determinante la prognosi del paziente) ed un ambito internistico (inizialmente pediatrico) per la diagnosi precoce ed il trattamento delle potenziali complicanze mediche note (gastrointestinali, respiratorie, cardiache, neurosensoriali, neurologiche e del sonno).

Trattamento e presa in carico richiedono un percorso integrato tra ambito neuropsichiatrico/riabilitativo ed internistico per la gestione delle complicanze mediche

*A ottobre 2019 è nata l'**Associazione Italiana Sindrome di Kleefstra APS** - Tel: 347-8318440*
www.kleefstraitalia.org
e-mail: kleefstraitalia@gmail.com.

Bibliografia

1. Willemsen MH, Vulto-van Silfhout AT, Nillesen WM, et al. Update on Kleefstra Syndrome. Mol Syndromol. 2012; 2(3-5):202–212.
2. Samango-Sprouse C, Lawson P, Spouse C, et al. Expanding the Phenotypic profile of Kleefstra Syndrome: A Female with Low-Average Intelligence and Childhood Apraxia of Speech. Am J Med Genet Part A. 2016;170A:1312-1316.
3. Kleefstra T, de Leeuw N. Kleefstra Syndrome. Gene Reviews 2010 Oct 5 (Updated 2019 Mar 21).
4. Ciaccio C, Scuvera G, Tucci A, et al. New Insights into Kleefstra Syndrome: Report of Two Novel Cases with Previosly Unreported Features and Literature Review. Cytogenet Genome Res. 2018;156(3):127-133.
5. https://www.orpha.net/consor4.01/www/cgi-bin/?lng=IT.
6. Vermeulen K, Staal WG, Janzing JG, et al. Sleep Disturbance as a Precursor of Severe Regression in Kleefstra Syndrome Suggests a Need for Firm and Rapid Pharmacological Treatment. Clin Neuropharm. 2017;40(4):185-188.



L'accesso ai farmaci per MR: l'esperienza di Regione Lombardia



Massimo Medaglia
Direttore S.C. Farmacia, ASST Grande Ospedale Metropolitano Niguarda, Milano

Regione Lombardia, attraverso l'istituzione della rete regionale delle malattie rare costituita dai Presidi di Rete delle Malattie Rare (RMR) e da un Centro di Coordinamento Malattie Rare (CCMR, http://malattierare.marionegri.it), ha da tempo recepito quanto stabilito dalla normativa nazionale, ovvero che i pazienti affetti da MR hanno diritto all'esenzione dalla partecipazione al costo per i farmaci necessari alla cura delle stesse. Nel dicembre 2017 la Direzione Generale Welfare di Regione Lombardia ha formalizzato il documento *Malattie Rare: definizione di un percorso condiviso per la prescrizione e la fornitura dei trattamenti farmacologici e non farmacologici,* con la principale finalità di facilitare l'accesso del paziente alle terapie appropriate, specificando il ruolo dei vari attori coinvolti, alla luce delle più recenti indicazioni normative. Di seguito ne presentiamo una sintesi inerente alla prescrizione ed erogazione della terapia farmacologica (Tab. 1).

Inizio del percorso

Il prescrittore del Presidio RMR lombardo deve essere in grado di garantire l'erogazione delle terapie prescritte e provvedere all'inizio di quelle a somministrazione ospedaliera, per una opportuna valutazione della loro efficacia e tollerabilità.
L'erogazione può avvenire:

- direttamente dal Presidio RMR: farmaci A-PHT e C non reperibili presso le farmacie aperte al pubblico, farmaci H, esteri, farmaci inseriti negli elenchi L.648 e sue estensioni, comprese eventuali formulazioni galeniche, farmaci off-label, farmaci "per uso compassionevole" e farmaci Cnn (in quest'ultimo caso previa autorizzazione regionale della competente Struttura presso DG Welfare);
- tramite ricetta SSR: farmaci A-PHT se reperibili presso le farmacie aperte al pubblico, farmaci A, C e formulazioni galeniche esitabili dalle stesse, ovvero non in regime di L.648/96. La prescrizione SSR su ricetta cartacea RUR o dematerializzata può essere effettuata sia dallo specialista del Presidio di RMR che dal MMG/PDF sulla base del Piano Terapeutico redatto dallo specialista RMR.

Continuità di cura

La continuità di cura deve essere assicurata in prima istanza dal Presidio RMR ed eventualmente da una struttura sanitaria (ASST) più vicina alle necessità del paziente.
Sono esclusi da tale procedura i farmaci Cnn, esteri, inseriti negli elenchi L.648/96 e sue estensio-

La Lombardia ha definito un percorso condiviso per prescrizione e fornitura di trattamenti farmacologici e non

Tab. 1 **Prescrizione ed erogazione della terapia farmacologica secondo il Percorso per l'assistito in cura presso il Presidio RMR lombardo**

Tipo di medicinale	Assistito lombardo in cura c/o Presidio RMR lombardo	Assistito lombardo in cura c/o Presidio RMR extraregione	Assistito non lombardo in cura c/o Presidio RMR lombardo
Farmaci A, C, A-PHT (se reperibili in farmacie aperte al pubblico) e formulazioni galeniche non in regime L.648/96	Farmacie aperte al pubblico tramite ricetta RUR/DEM da Presidio RMR/MMG/PDF	Farmacie aperte al pubblico tramite ricetta RUR/DEM da MMG/PDF	ASL extraregione secondo normativa della regione dell'assistito
Farmaci H e A-PHT, C non reperibili in farmacie aperte al pubblico	Presidio RMR ASST (1)	Presidio RMR extraregione ASST (1)	ASL extraregione/Presidio RMR (per C, previa autorizzazione della ASL di residenza)
Farmaci esteri Farmaci 648 (comprese preparazioni galeniche)	Presidio RMR	Presidio RMR extraregione Presidio RMR (1)	ASL extraregione/Presidio RMR (per farmaci esteri, previa autorizzazione della ASL di residenza)
Farmaci Cnn Farmaci off-label	Presidio RMR	Presidio RMR extraregione Presidio RMR (1)	ASL extraregione/Presidio RMR (per farmaci esteri, previa autorizzazione della ASL di residenza)

(1) Previo rispetto delle condizioni riportate nel documento regionale

ni e/o off-label, farmaci "ad uso compassionevole" per i quali, stante la responsabilità individuale del prescrittore, la prescrizione/erogazione rimarrà in carico al Presidio RMR, a cui il paziente continuerà a far riferimento.

Per l'assistito lombardo in cura presso un Presidio RMR non lombardo, qualora quest'ultimo non provveda direttamente all'erogazione (rendicontandone i costi in mobilità extraregionale) o il paziente chieda di essere supportato per la continuità terapeutica da una struttura sanitaria lombarda, il percorso può esser garantito, a seconda della tipologia di farmaci, attraverso le seguenti modalità:

- farmaci di classe A, A-PHT reperibili presso le farmacie aperte al pubblico, C e formulazioni galeniche esitabili dalle stesse purché non soggetti a ricetta medica limitativa: tramite prescrizione su ricetta SSR in regime di esenzione (indicazione del codice della malattia rara) su ricetta cartacea RUR o dematerializzata da parte del MMG/PDF, sulla base del Piano Terapeutico redatto dallo specialista del Presidio RMR extraregionale.
- farmaci di classe H, A-PHT e C non reperibili presso le farmacie aperte al pubblico: previo parere favorevole del prescrittore del Presidio RMR extraregionale, tramite l'U.O. competente o la Farmacia della ASST individuata, sulla base del Piano Terapeutico redatto dallo specialista del Presidio RMR extraregionale e rinnovato almeno annualmente.

Nel caso di farmaci esteri, inseriti negli elenchi L.648/96 e relative estensioni e/o off-label e farmaci ad uso compassionevole per i quali, stante la responsabilità individuale del prescrittore, la prescrizione/erogazione deve preferibilmente rimanere in carico al Presidio RMR extraregione, a cui il paziente continuerà a far riferimento.

Esclusivamente nei casi in cui il Presidio RMR extraregione non fosse disponibile ad effettuare l'erogazione, l'ASST di residenza del paziente dovrà mettere il paziente in contatto con un Presidio RMR lombardo al fine di valutarne la presa in carico.

In Lombardia l'erogazione delle terapie prescritte può avvenire tramite Presidio RMR o mediante ricetta SSR

Infine, per l'assistito non lombardo seguito da Presidio RMR lombardo la somministrazione dei farmaci utilizzabili esclusivamente in ambiente ospedaliero e la fornitura dei farmaci di classe A-PHT non reperibili nelle farmacie aperte al pubblico potranno essere garantite dal Presidio RMR prescrittore qualora il paziente riscontrasse difficoltà nel reperire la fornitura presso la propria ASL di residenza extraregionale.
In particolare, il Presidio RMR lombardo potrà erogare farmaci off-label (non riferiti a L.648/96) e farmaci classificati in C/Cnn, solo dopo aver ottenuto formale autorizzazione alla fornitura da parte della ASL di residenza del paziente extraregionale per la conseguente compensazione tra regioni.

La continuità di cura viene assicurata dal Presidio RMR ed eventualmente da una ASST più vicina alle necessità del paziente

Bibliografia

- Decreto Ministeriale 18 maggio 2001, n. 279. Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie ai sensi dell'articolo 5, comma 1, lettera b) del decreto legislativo 29 aprile 1998, n. 124.
- Delibera della Giunta Regionale Lombardia n. VII/7328 del 11.12.2001. Individuazione della Rete regionale per la prevenzione, la sorveglianza, la diagnosi, la terapia delle malattie rare, ai sensi del Decreto Ministeriale 18 maggio 2001, n. 279
- Legge Regionale Lombardia 11 agosto 2015, n. 23. Evoluzione del sistema sociosanitario lombardo: modifiche al Titolo I e al Titolo II della legge regionale 30 dicembre 2009, n. 33 (Testo unico delle leggi regionali in materia di sanità)
- Delibera della Giunta Regionale Lombardia n. X/5954 del 5.12.2016. Regole di sistema 2017 - Determinazioni in ordine alla gestione del servizio sociosanitario per l'esercizio 2017
- D.P.C.M. 12.1.2017. Definizione e aggiornamento dei livelli essenziali di assistenza, di cui all'articolo 1, comma 7, del decreto legislativo 30 dicembre 1992, n. 502
- Delibera della Giunta Regionale Lombardia n. XI/1538 del 15.04.2019. Aggiornamento della rete regionale delle malattie rare e del documento «Malattie rare: definizione di un percorso condiviso per la prescrizione e la fornitura dei trattamenti farmacologici e non farmacologici»



Malattie rare non diagnosticate



Rossella Parini[1], Erica Daina[2]
[1]Clinica Pediatrica, Centro Malattie Metaboliche Rare, Fondazione MBBM, presso ASST - Ospedale San Gerardo, Monza.
[2]Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri IRCCS, Centro di Ricerche Cliniche per le Malattie Rare Aldo e Cele Daccò, Ranica (Bergamo)

Genomic medicine for undiagnosed diseases

Wise AL, Manolio TA, Mensah GA, et al. Lancet 2019; 394: 533–40.

Riassunto

Questo è il terzo di una serie di 5 articoli che hanno lo scopo di introdurre il medico clinico alla comprensione delle opportunità diagnostiche offerte dalla medicina genomica alla pratica clinica. L'articolo che qui commentiamo discute come la medicina genomica possa essere usata per la diagnosi di malattie rare che non hanno ancora ottenuto una diagnosi con i metodi tradizionali e come possa modificare il percorso terapeutico (Fig. 1).

I tempi sono maturi per una entrata più massiccia nella pratica clinica: il costo di exome e genome sequencing si sta sempre più riducendo ed è ben chiara in ambito medico-scientifico la necessità di migliorare i tempi diagnostici delle malattie rare.

Molti lavori pubblicati negli ultimi anni dimostrano l'efficacia del sequenziamento genomico associato ad una accurata definizione del fenotipo utilizzando strumenti standardizzati.

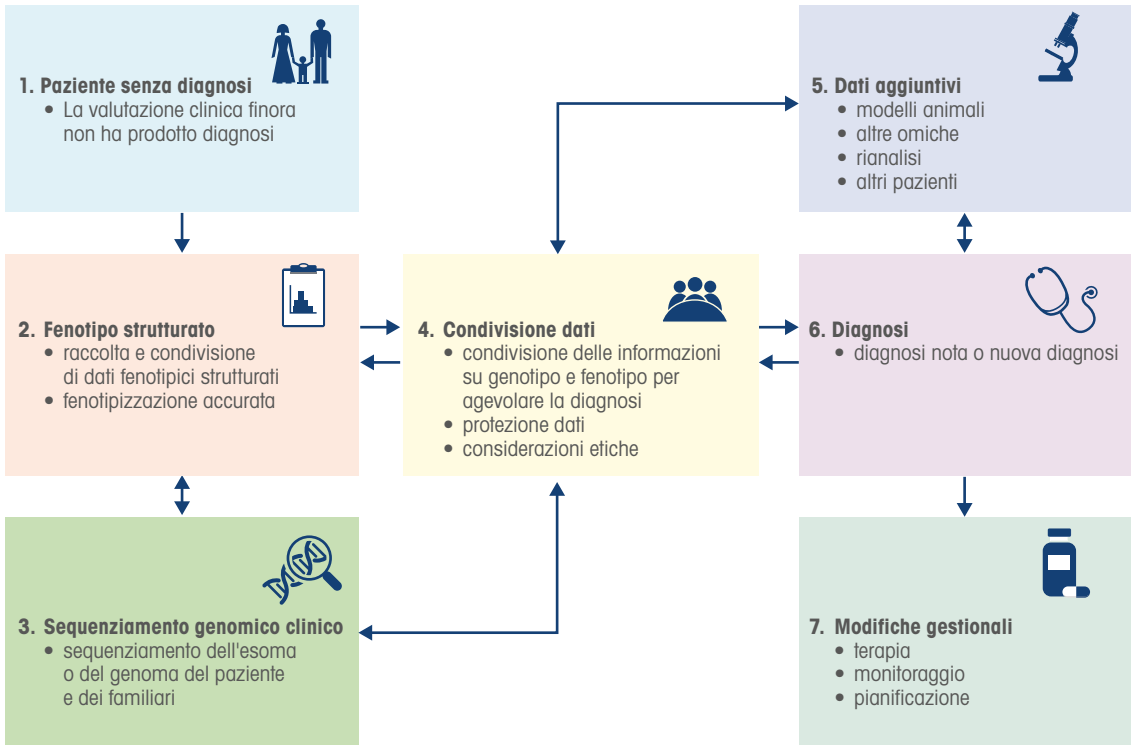
Esistono strumenti elettronici che aiutano nella definizione strutturata del fenotipo: Phenomizer classifica le malattie sulla base di segni e sintomi e produce una diagnosi differenziale basata sul fenotipo, BioLark si può usare per produrre termini human phenotype ontology (HPO) (sistema di definizione standardizzata di termini clinici) da note cliniche, Phenolyzer combina i fenotipi con precedenti conoscenze biologiche per risalire a possibili geni implicati.

Il sequenziamento genomico associato a raccolta strutturata dei dati fenotipici ha permesso di raggiungere più velocemente la diagnosi in neonati con malattia acuta o in feti con anomalie morfologiche, rispetto ai metodi tradizionali, con possibilità di intervento terapeutico più mirato, prognosi più precoce e risparmio economico. In questo ambito è importante anche la condivisione dei dati fenotipici nelle malattie rare, sia dei feti che dei pazienti, per confermare l'associazione genotipo/fenotipo, per identificare altri pazienti con stesso fenotipo, per rinforzare l'evidenza che una variante di un gene è associata ad un certo fenotipo.

Esiste ormai una letteratura che mostra come, a scopo diagnostico, i dati fenotipici e quelli genomici possono essere integrati anche con dati da modelli animali, da metaboloma e transcrittoma.

La frequenza diagnostica del clinical exome sequencing è molto variabile ma possiamo dire che,

Fig. 1 **L'approccio della medicina genomica ai pazienti con malattie rare non diagnosticate**



Modificato da Wise AL et al. Lancet 2019

in pazienti già esaminati senza successo con metodi tradizionali, si ha una frequenza complessiva media di 25-35% con una percentuale più bassa negli adulti.
In molti casi ciò ha portato a modificare procedure terapeutiche (ad esempio diverso approccio ad intervento in feto per ernia diaframmatica, in osteogenesi imperfetta programmazione di parto senza traumi e apprendimento prima del parto da parte dei genitori di come evitare traumi al bambino) o a evitare inutili stress e a programmare cure palliative.
Tre articoli scientifici mostrano come la diagnosi genomica veloce in terapia intensiva neonatale abbia modificato la strategia terapeutica nel 33-72% dei casi.
È ancora da discutere in comunità scientifica come riportare al paziente o alla famiglia tutti i risultati secondari che si ottengono con il sequenziamento genomico.

Commento

Questo articolo, che spiega ai clinici come potrebbero utilizzare al meglio il sequenziamento genomico, apre nuovi orizzonti che devono essere esplorati.
Il clinico deve imparare a raccogliere in modo strutturato i dati fenotipici usando programmi disponibili sul web e a condividerli.
A tal proposito vediamo qualche difficoltà per il momento: 1- in questo articolo si insiste molto sui vantaggi del sequenziamento genomico veloce nella diagnosi di neonati con malattia acuta o di feti, ma non ci risulta che per il momento questo sia possibile in Italia salvo che in situazioni molto particolari. 2- l'uso più esteso del sequenziamento genomico nella diagnosi delle malattie rare impone la risoluzione di vari problemi etici quali, per primo, quello degli incidental finding: quanto delle informazioni genomiche secondarie va riportato al paziente o alla sua famiglia?

Patient-Customized Oligonucleotide Therapy for a Rare Genetic Disease

Kim J, Hu C, Moufawad El Achkar C, et al. N Engl J Med. 2019;381(17):1644-1652.

Riassunto

Il sequenziamento del genoma è spesso fondamentale nella caratterizzazione delle malattie rare, tuttavia per la maggior parte delle patologie su base genetica oggi diagnosticabili non è ancora disponibile un trattamento mirato.

Il lavoro espone come, partendo dalla caratterizzazione molecolare di una rara malattia neurodegenerativa a prognosi infausta, si sia arrivati alla progettazione, alla valutazione preclinica e alla produzione di un farmaco specifico.

La piccola paziente descritta è affetta da Ceroidolipofuscinosi neuronale tipo 7 (nota anche come malattia di Batten o CLN7), condizione che si manifesta con un deterioramento della vista nei primi anni di vita. Dopo l'esordio dei sintomi visivi iniziano il declino cognitivo e l'epilessia. La cecità sopraggiunge entro pochi anni e contestualmente le capacità cognitive e motorie si deteriorano progressivamente. Il trattamento è solo sintomatico e consiste in cure palliative con la somministrazione di farmaci anticonvulsivanti e in interventi di supporto.

Le Ceroidolipofuscinosi sono malattie autosomiche recessive e sono causate dal difetto/mutazione di un singolo gene (monogeniche). Ciascun gene è costituito da due alleli: un allele viene ereditato dalla madre, l'altro dal padre. Affinché la malattia si manifesti, è necessario che l'individuo erediti l'allele recessivo mutato da entrambi i genitori che sono portatori della malattia. Grazie a sofisticate indagini genetiche, è stato possibile identificare il difetto responsabile della malattia nella piccola paziente: una mutazione patogenetica nota in una copia del gene CLN7 e, nell'altra copia, una anomalia molto complessa e non descritta in precedenza condizionante errori di sintesi dell'RNA messaggero (mRNA). Gli autori hanno ideato oligonucleotidi antisenso (antisense oligonucleotide, ASO) con l'obiettivo di "correggere" il difetto dell'mRNA e hanno selezionato un ASO, dimostratosi in grado di indurre un aumento del rapporto tra mRNA normale e mutante nei fibroblasti in coltura della paziente.

Dopo una valutazione tossicologica abbreviata, e dopo aver ottenuto l'autorizzazione dalla Food and Drug Administration (FDA) e l'approvazione dal comitato etico competente, i ricercatori hanno somministrato il composto alla piccola per via intratecale a dosi crescenti. Il trattamento, iniziato all'età di sei anni, si è dimostrato in grado di influenzare positivamente il decorso della malattia, in assenza di gravi effetti collaterali.

Commento

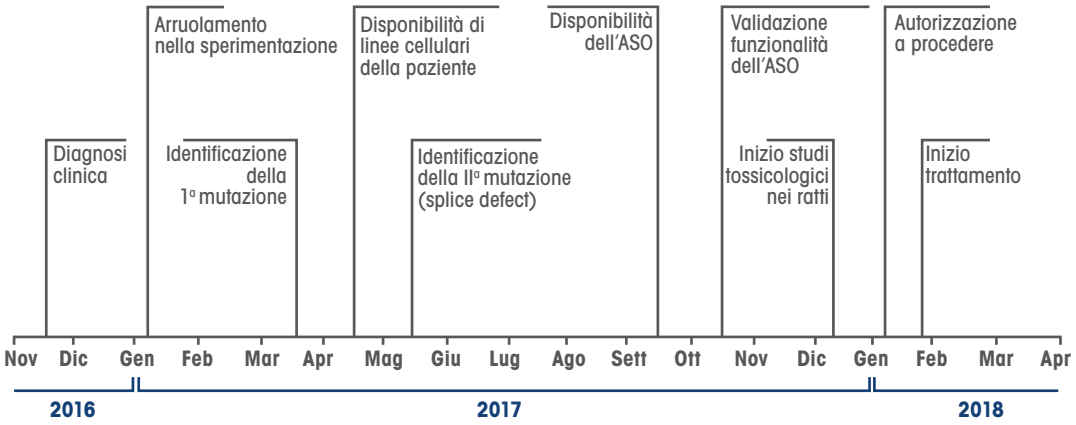
Nel caso descritto la diagnostica e la caratterizzazione molecolare hanno reso possibile la sintesi di un oligonucleotide antisenso (ASO) specifico per la correzione del difetto studiato. Gli ASO sono brevi molecole a singolo filamento di DNA o di RNA complementari ad una determinata sequenza. La sequenza a cui si legano è solitamente una molecola di mRNA che, "allacciata" da un ASO specifico, non è più in grado di essere tradotta. Le ricerche sperimentali condotte sulle linee cellulari ottenute dalla paziente hanno aperto la strada alla realizzazione di uno studio clinico su base individuale (N-of-1 trial) entro un anno.

Lo studio, finanziato in larga parte da una Fondazione creata dai familiari della piccola paziente (Mila's Miracle Foundation) rappresenta un modello per il celere sviluppo di terapie personalizzate. I tempi di realizzazione del trattamento sono rapidissimi se confrontati con quelli abitualmente necessari per portare un principio attivo dalla sua identificazione come potenziale farmaco alla pratica clinica (Fig. 2).

Il lavoro illustra come la definizione delle basi genetiche possa farci comprendere i meccanismi responsabili di determinati fenotipi di malattie rare e come le tecnologie recentemente sviluppate consentano l'avvio di percorsi per lo sviluppo di farmaci davvero individualizzati.

Sebbene questo nuovo percorso per la scoperta e

Fig. 2 **Cronologia dalla diagnosi clinica all'inizio del trattamento**



ASO: oligonucleotide antisenso (antisense oligonucleotide).

lo sviluppo di farmaci sia più avanzato per gli ASO, altri tipi di trattamenti, tra cui terapie cellulari e genetiche individualizzate, si stanno concretamente avvicinando.

Le possibilità di realizzazione di terapie sofisticate e molto costose aprono nuovi interrogativi. In che modo l'urgenza della situazione del paziente o il numero di persone che alla fine potrebbero essere curate influenzeranno il processo decisionale? Se le possibilità di interventi individualizzati diventeranno comuni, dovranno essere affrontati anche gli aspetti relativi all'approvazione e alla sostenibilità dei trattamenti.

Nell'immediato futuro tali tematiche saranno sempre più oggetto di discussione da parte dalle autorità regolatorie e sarà fondamentale il contributo di accademici, associazioni dei pazienti, industria farmaceutica e altre parti interessate.



EURORDIS Rare Diseases Europe: la voce dei malati rari e dei loro familiari in Europa



Simona Bellagambi
Membro Consiglio Direttivo EURORDIS Rare Diseases Europe

Sin dagli anni '90 le malattie rare (MR) hanno rappresentato una priorità di Sanità pubblica per l'Unione Europea (UE) e gli stati membri e gli sforzi per creare una legislazione innovativa a sostegno delle MR e dei medicinali orfani sono stati guidati principalmente dalle istituzioni dell'UE. Nel 1997, un paio di anni prima dell'adozione del Regolamento Europeo sui Farmaci Orfani, è nata EURORDIS Rare Diseases Europe (www.eurordis.org), alleanza non profit unica nel suo genere che ad oggi raccoglie oltre 800 organizzazioni in 72 paesi. Guidata da chi vive con una MR, EURORDIS rappresenta circa 30 milioni di persone in Europa: la sua mission è creare una forte comunità, preparata e consapevole, di associazioni e di loro rappresentanti per collaborare in tutti i processi decisionali europei di sviluppo di politiche, ricerca e servizi sociosanitari, amplificando in tal modo la voce dei malati e delle loro famiglie.

Advocacy ed empowerment

Negli anni EURORDIS è diventata un interlocutore riconosciuto dalla Commissione Europea (CE) e ha contribuito allo sviluppo di documenti essenziali sulle MR da parte della CE indirizzati agli stati membri grazie anche alla rappresentanza dei pazienti coordinati da EURORDIS nella Task Force sulle MR, divenuta EUCERD (Comitato di Esperti sulle Malattie Rare dell'Unione Europea) e poi CEG-RD (Gruppo di Esperti della Commissione Europea sulle Malattie Rare). EURORDIS ha fortemente cooperato, attraverso colloqui di sensibilizzazione e presentazione di propri documenti di posizione, alla Comunicazione del Consiglio del 2008 ed alle successive Raccomandazioni del Consiglio del giugno 2009 sulle azioni europee nel campo delle MR tese allo sviluppo di piani e strategie nazionali.
Nel 2018 sono stati 25 gli stati membri che si sono dotati di un piano/strategia nazionale, 5 dei quali sono già stati rinnovati. Proprio la leadership di EURORDIS nei workpackages del progetto EUROPLAN e nelle successive Joint Action, che avevano come obiettivo il confronto tra gli attori nazionali sui vari temi previsti, ha permesso alle Federazioni Nazionali dei vari paesi - in Italia UNIAMO FIMR - di avere un ruolo chiave nel dibattito e di organizzare le conferenze nazionali che hanno poi raggiunto l'obiettivo di iniziare una proficua collaborazione tra gli attori nazionali con l'esito sopradescritto.

Nata nel 1997, EURORDIS raccoglie oltre 800 organizzazioni in 72 Paesi e rappresenta 30 milioni di europei

Fermamente convinta che ogni cittadino abbia diritto all'accesso all'assistenza del più alto livello possibile e nel paese di residenza, EURORDIS ha avuto un ruolo cruciale nella creazione e sviluppo delle 24 Reti di Riferimento Europee (ERNs), lanciate ufficialmente a marzo 2017.
EURORDIS è anche riuscita ad ottenere l'inclusione dei rappresentanti dei pazienti nel comitato di gestione della Rete e nei vari comitati trasversali, attraverso gli ePAGs (European Patient Advocacy Groups) che riporteranno il punto di vista dei pazienti ed aiuteranno nell'individuazione dei centri fungendo da collegamento con le varie associazioni di pazienti e riferendo criticità e necessità. Attraverso le Federazioni Nazionali EURORDIS continua a perorare la necessità che le Reti ed i loro Centri vengano integrati in modo efficace nei SSN dei vari paesi. Continua, quindi, l'attività di EURORDIS affinché le MR rimangano una priorità in UE e vengano sviluppate nuove regolamentazioni dedicate alla sperimentazione clinica ed investimenti nella ricerca attraverso programmi quadro. EURORDIS fa anche parte di IRDiRC, il Consorzio Internazionale della Ricerca sulle Malattie Rare. Per raggiungere l'obiettivo di un accesso migliore ed equo ai farmaci ed alle terapie innovative per i pazienti, EURORDIS sostiene e promuove la collaborazione tra gli stati membri per una Health Technology Assessment (HTA) comune ed è impegnata nel dialogo con l'industria per la creazione di un mercato allargato.

Formazione

Attraverso la Summer School a Barcellona, dedicata alla conoscenza dello sviluppo dei farmaci e del processo regolatorio europeo, ha formato oltre 400 rappresentanti di pazienti in grado di partecipare efficacemente all'attività dei Comitati dell'EMA, l'Agenzia europea dei medicinali. Dallo scorso anno a Parigi la Winter School fornirsce ai partecipanti la conoscenza delle tecniche di sviluppo della ricerca.

Approccio olistico

Con INNOVCare (www.innovcare.eu), progetto finanziato dalla Commissione Europea, è stata data ampia attenzione anche all'integrazione degli aspetti sociali, abilitazione, riabilitazione, integrazione scolastica e lavorativa mostrando come sia necessario un maggior coordinamento tra gli aspetti medici e quelli sociali ed evidenziando l'impegno quotidiano dei caregivers, che sono spesso familiari costretti a lasciare il proprio lavoro per assistere la persona affetta da malattia rara.

La Giornata Mondiale promossa da EURORDIS sensibilizza opinione pubblica e politici sull'impatto delle MR

Il gruppo di europarlamentari

Attraverso la rete degli europarlamentari, EURORDIS mira a riunire i membri del Parlamento per garantire una forte azione politica internazionale e nazionale, offrire un contributo strategico alla legislazione attuale e a quella futura ed integrare le malattie rare nelle scelte politiche a tutti i livelli. Per questo in occasione delle ultime elezioni europee, ha chiesto agli eurodeputati di aderire alla campagna a sostegno delle malattie rare #Pledge4RD, con lo scopo di sostenere un nuovo quadro politico che:

- permetta a tutte le persone affette da una MR di ricevere una diagnosi accurata e cure adeguate entro un anno dal primo consulto medico
- supporti la presa in carico globale del malato e i sistemi sociali improntanti alla piena inclusione dei malati rari durante tutto il loro percorso di vita
- colga le opportunità offerte dalla scienza e dall'innovazione, che rappresentano una speranza per i malati rari e per coloro che li assistono, e che possono cambiare la loro vita.

Sensibilizzazione: Rare Diseases Day

Nel 2008 EURORDIS ed il suo Consiglio delle Alleanze Nazionali, in cui sono rappresentati ad oggi oltre 40 Paesi, hanno lanciato la Giornata delle Malattie Rare (www.rarediseaseday.org) che si celebra ogni anno l'ultimo giorno di febbraio. Questo evento ha l'obiettivo di far conoscere le MR e di sensibilizzare l'opinione pubblica ed i politici sull'impatto psicologico e socio economico che le MR hanno sulla persona affetta e sul suo nucleo familiare.
Siamo fiduciosi che nei prossimi anni l'impegno a livello europeo e degli stati membri sollecitato dalla comunità dei malati rari riuscirà ad affrontare queste sfide centrando l'obiettivo di migliorare la qualità della vita delle persone con MR e delle loro famiglie.

La RIvista Italiana delle Malattie Rare

ANNO IV - N. 1 FEBBRAIO 2020
QUADRIMESTRALE DI ATTUALITA' IN MEDICINA

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

editore

Med Point srl
Via G.B. Giorgini, 16 - Milano
Tel. 02 3343281 - Fax 02 38002105
e-mail medpointsrl@medpointsrl.it - www.malattierare.eu
www.medpointsrl.it

Direttore Responsabile: Ida Tacconi
Redazione: Luca Annovazzi, Anna Invernizzi, Monica Luciani
Direzione grafica: Silvia Patrini
Impaginazione: Marcella Ronca
Segreteria di Redazione: Arianna Nespolon - arianna.nespolon@medpointsrl.it
Stampa: MAGICGRAPH SRL - Busto Arsizio (VA)

@ 2020 **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.



SANOFI GENZYME
SPECIALTY CARE DI SANOFI

Ci occupiamo di sclerosi multipla,
malattie rare, oncologia e immunologia.
Lavoriamo insieme al mondo scientifico, alle associazioni,
agli innovatori per migliorare la vita delle persone
che affrontano ogni giorno la disabilità.

SANOFI GENZYME
Empowering Life