ORGANO UFFICIALE
DELLA SOCIETÀ ITALIANA
DI NEUROPSICHIATRIA
DELL'INFANZIA E DELL'ADOLESCENZA

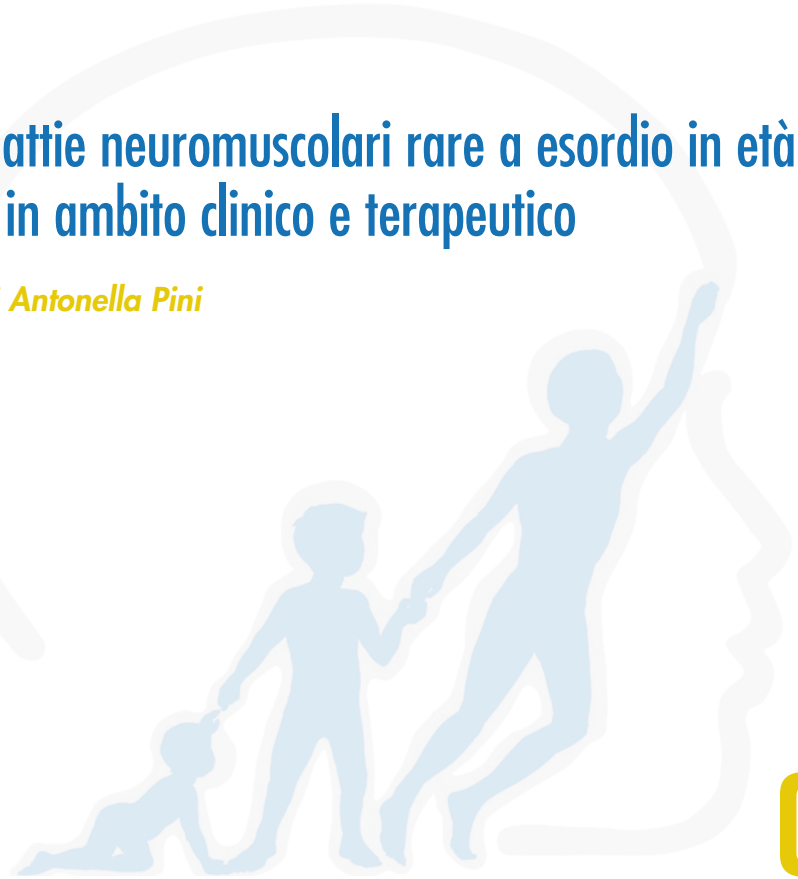
www.sinpia.eu

Giornale di NEUROPSICHIATRIA dell'ETÀ EVOLUTIVA

CENSITA IN PSYCINFO E ELSEVIER NURSING DATABASE EMCARE

Le malattie neuromuscolari rare a esordio in età evolutiva: novità in ambito clinico e terapeutico

a cura di Antonella Pini



PACINI EDITORE MEDICINA

02/ VOL. 39 2019

Periodico quadrimestrale - Agosto - ISSN 2611-2884 (Online)

Giornale di
NEUROPSICHIATRIA
dell'ETÀ EVOLUTIVA

ORGANO UFFICIALE
DELLA SOCIETÀ ITALIANA
DI NEUROPSICHIATRIA
DELL'INFANZIA E DELL'ADOLESCENZA

CENSITA IN PSYCINFO E ELSEVIER NURSING DATABASE EMCARE

DIREZIONE

Direttore Editoriale
Antonella Costantino (Presidente SINPIA)

Direttore Scientifico
Carmela Bravaccio

Comitato di Redazione

Vice-Presidente
Renzo Guerrini

Coordinatori Sezioni Scientifiche
Rocco Farruggia
Fulvio Guccione
Andrea Guzzetta
Vincenzo Leuzzi
Stefania Millepiedi

Associati
Mauro Camuffo
Elisa Fazzi
Oliviero Fuzzi
Marco Lamberti
Alessandro Mariani
Massimo Molteni
Annalisa Monti
Nardo Nardocci
Roberta Penge
Renata Rizzo
Carmela Tata
Pierangelo Veggiotti

Segreteria Scientifica (Napoli)
Maria Pia Riccio
Gaetano Terrone
Simone Pisano

Comitato di Consulenza - Advisory board
Umberto Ballottin (Padova)
Pier Antonio Battistella (Padova)
Paola Bucci (Napoli)
Sara Calderoni (Pisa)
Maria Paola Canevini (Milano)
Giangennaro Coppola (Napoli)
Giancarlo Costanza (Catania)
Paolo Curatolo (Roma)
Francesca Darra (Verona)
Giordano D'Urso (Napoli)
Jessica Galli (Brescia)
Vincenzo Guidetti (Roma)
Lucia Margari (Bari)
Antonio M. Persico (Messina)
Francesco Pisani (Parma)
Armido Rubino (Napoli)
Renato Scifo (Catania)
Giuseppina Sgandurra (Pisa)
Alessandro Simonati (Verona)
Stefano Sotgiu (Sassari)
Aglaia Vignoli (Milano)
Benedetto Vitiello (Torino)
Alessandro Zuddas (Cagliari)

Copyright by
Società Italiana di Neuropsichiatria
dell'Infanzia e dell'Adolescenza (SINPIA)

EDIZIONE

Pacini Editore Srl
Via Gherardesca, 1 - 56121 Pisa
Tel. 050 313011 - Fax 050 3130300
info@pacinieditore.it - www.pacinimedicina.it

Direttore Responsabile: Patrizia Alma Pacini

PACINI EDITORE MEDICINA

02/ VOL. 39 2019

INDICE

Le malattie neuromuscolari rare a esordio in età evolutiva: novità in ambito clinico e terapeutico

a cura di A. Pini

Introduzione
A. Pini 47

Distrofia muscolare di Duchenne: cause, diagnosi, correlazioni genotipo/fenotipo, e storia naturale
Duchenne muscular dystrophy: etiopatogenesis, genotype/phenotype correlation and natural history
L. Bello, E. Pegoraro 49

Prospettive di trattamento nella distrofia muscolare di Duchenne
New treatments in Duchenne muscular dystrophy
F. Fortunato, A. Ferlini 59

Aspetti neuropsicologici della distrofia muscolare di Duchenne
Neurocognitive phenotype in Duchenne muscular dystrophy
M. Filippini, S. Lenzi, A. Pini, E. Briganti, G. Astrea, M. Pane, R. Battini 65

L'atrofia muscolare spinale
Spinal muscular atrophy (SMA)
M.C. Pera, M. Pane, E. Mercuri 73

Atrofia muscolare spinale: aspetti genetici e patogenetici
Spinal muscular atrophy: genetic and pathogenetic aspects
E. Abiusi, A. Vaisfeld, F.D.Tiziano 79

Psicologia e SMA
Psychology and SMA
J.L. Casiraghi 86

La distrofia miotonica congenita
Congenital myotonic dystrophy
V.A. Sansone, E. Brigonzi, E. Albamonte 90

Le miopatie congenite
Congenital myopathies
C. Fiorillo, C. Bruno, C. Minetti 97

Sindromi miasteniche congenite
Congenital myasthenic syndromes
C. Rodolico, C. Bonanno 113

Distrofie muscolari dei cingoli
Limb girdle muscular dystrophies
C. Orsini, P. D'Ambrosio, L. Politano 116

Malattia di Charcot-Marie-Tooth in età pediatrica
Childhood onset Charcot-Marie-Tooth disease
I. Moroni 121

Le distrofie muscolari congenite
Congenital muscular dystrophies
A. Pini, M. Giannotta, L. Maltoni, S.C. Previtali, G. Lattanzi, A. D'Amico, F.M. Santorelli, G. Astrea 127

Istruzioni per gli autori 136

La Società Italiana di Neuropsichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza e Pacini Editore srl informano i lettori e gli utenti della Rivista Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva che gli articoli pubblicati rispecchiano esclusivamente la ricerca e l'opinione degli autori firmatari dei contenuti. Tali articoli quindi non rappresentano e non vogliono in alcun modo costituire indicazioni o linee guida della Società Italiana di Neuropsichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza stessa. Questo a differenza dei testi e contenuti che esplicitamente siano dichiarati di ufficiale matrice istituzionale e pubblicati nelle apposite rubriche della Rivista dedicate alle Linee Guida della Società Italiana di Neuropsichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza.
La Rivista Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva viene inviata a soci abbonati, medici, operatori sanitari, solo ed esclusivamente per l'aggiornamento professionale, informare e promuovere attività e prodotti/servizi strettamente inerenti e attinenti alla professione degli utenti, garantendo sempre una forte affinità tra il messaggio e l'interesse dell'utente. Si prega i prendere visione della Privacy Policy al seguente link: http://www.pacinimedicina.it/privacy-policy-informativa-privacy/. Per comunicazioni/informazioni: info@pacinieditore.it
L'editore resta a disposizione degli aventi diritto con i quali non è stato possibile comunicare e per le eventuali omissioni. Le fotocopie per uso personale del lettore possono essere effettuate nei limiti del 15% di ciascun fascicolo di periodico dietro pagamento alla SIAE del compenso previsto dall'art. 68, commi 4 e 5, della legge 22 aprile 1941 n. 633. Le riproduzioni effettuate per finalità di carattere professionale, economico o commerciale o comunque per uso diverso da quello personale possono essere effettuate a seguito di specifica autorizzazione rilasciata da AIDRO, Corso di Porta Romana n. 108, Milano 20122, segreteria@aidro.org, http://www.aidro.org. I dati relativi agli abbonati sono trattati nel rispetto delle disposizioni contenute nel D.Lgs. del 30 giugno 2003 n. 196 e adeguamenti al Regolamento UE GDPR 2016 (General Data Protection Regulation) a mezzo di elaboratori elettronici ad opera di soggetti appositamente incaricati. I dati sono utilizzati dall'editore per la spedizione della presente pubblicazione. Ai sensi dell'articolo 7 del D.Lgs. 196/2003, in qualsiasi momento è possibile consultare, modificare o cancellare i dati o opporsi al loro utilizzo scrivendo al Titolare del Trattamento: Pacini Editore Srl - Via A. Gherardesca 1 - 56121 Pisa. Per ulteriori approfondimenti fare riferimento al sito web http://www.pacinieditore.it/privacy/.
Aut. Trib. di Milano n. 425 dell'14/11/198. Pubblicato online nel mese di novembre 2019 da Pacini Editore Srl - Pisa - Rivista registrata presso "Registro pubblico degli Operatori della Comunicazione" (Pacini Editore srl - n. di registrazione n. 6269 - 29/8/2001).

Introduzione

Introduction

A. Pini

UOC di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna

Molto opportunamente il Consiglio Direttivo SINPIA ha richiesto un aggiornamento sulle malattie neuromuscolari rare a esordio in età evolutiva, dopo il precedente monografico pubblicato nel 2004. Decisamente ampie sono infatti le novità che si sono presentate negli ultimi 15 anni, sia diagnostiche che terapeutiche, sia nella metodologia che sugli obiettivi da perseguire nell'assistenza e nella ricerca clinica.

Il presente monografico tratta le principali forme come la distrofia muscolare di Duchenne, le distrofie muscolari congenite e dei cingoli, la atrofia muscolare spinale 5q, la malattia di Steinert congenita e infantile, le miopatie e miastenie congenite e le neuropatie periferiche, rivolgendosi in particolare ai Neuropsichiatri Infantili e ai Pediatri che a vario titolo incontrano nella loro professione dentro o fuori dall'ospedale questi bambini e i loro genitori, offrendo una panoramica di ognuna di esse dai segni clinici che permettano di sospettarle agli aspetti più scientifici e genetici, alle nuove terapie, includendo talora contenuti molto tecnici. Particolare attenzione è stata posta agli aspetti cognitivi ed emotivi, specie per la Duchenne e la SMA, data l'esistenza di una ricca produzione scientifica al riguardo, con alcune nuove evidenze. Altri soggetti ai quali si è pensato di indirizzare questo monografico sono i giovani specialisti in formazione o già specializzati in Neuropsichiatria Infantile interessati alle malattie rare, che si affacciano all'esperienza lavorativa sia territoriale che ospedaliera e che saranno chiamati da un lato ad arricchirsi di conoscenze approfondite da aggiornare continuamente, dall'altro a imparare a lavorare in team multiprofessionali come queste patologie richiedono.

Alcuni aspetti clinici vanno sottolineati. Da un lato da una attenta valutazione clinica di questi bambini, andando oltre il sintomo "debolezza muscolare", ma integrandolo nella visione sistemica propria dell'età evolutiva, sta emergendo che, specie nei bambini più piccoli, gli aspetti cognitivi, motori ed emotivi sono strettamente correlati. Le scale di valutazione utilizzate abitualmente per la valutazione dello sviluppo neurocognitivo si dimostrano strumenti adatti a descrivere queste relazioni. Questo concetto si spinge fino a dovere includere talvolta nella diagnostica differenziale quadri clinici caratterizzati principalmente da disturbo del neurosviluppo, come accade per alcune nuove forme genetiche individuate tramite tecniche di NGS.

D'altro lato la migliore conoscenza dell'andamento clinico dei bambini con SMA o con Duchenne attraverso la analisi di grosse quantità di dati ricavati dai punteggi di scale di valutazione funzionale a loro volta sviluppate *ad hoc* e standardizzate, in un contesto di Network Italiano, ha permesso di delineare, tramite studi multicentrici, le traiettorie evolutive motorie di queste principali forme a meccanismo biologico-molecolare più conosciuto rispetto ad altre. Questo intenso lavoro di raccolta ed elaborazione dei dati ha permesso di stabilire alcuni fattori predittivi di peggioramento e di perdita del cammino nella Duchenne così da consentire la progettazione di trials terapeutici con misure di outcome più appropriate e definite e di stabilire la tollerabilità e l'efficacia di molecole da utilizzare in farmaci innovativi, altrimenti difficili da proporre agli Enti Regolatori per la loro commercializzazione. Dopo molti anni di intenso lavoro alcuni farmaci innovativi sono oggi prescrivibili per la Duchenne (con mutazioni stop-codon) come nel caso di Translarna o per la SMA per Spinraza. Questi farmaci stanno cambiando significativamente la qualità e le aspettative di vita delle SMA e stiamo assistendo alla necessità di descrivere nuovi fenotipi, dato che i bimbi trattati invece di peggiorare come sarebbe accaduto in storia naturale, si stabilizzano o migliorano nel tempo, acquisendo tappe motorie e abilità funzionali inimmaginabili 20 anni fa; tali abilità motorie sono del tutto peculiari, in parte risultato di nuovi compensi, in parte risultato di forza muscolare in più. Per altre patologie in particolare la Steinert, le miopatie congenite

CORRISPONDENZA

Antonella Pini, UOC di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna - E-mail: antonella.pini@isnb.it

e alcune forme di distrofia muscolare congenita, l'emergere di prospettive terapeutiche non è lontana nei prossimi anni e al momento, analogamente a quanto fatto per la Duchenne e per la SMA, l'impegno scientifico è rivolto a descriverne la storia naturale e le relative traiettorie evolutive.
Un altro aspetto importante da sottolineare è come nel corso di questi anni molte conoscenze siano state divulgate grazie alla descrizione puntuale e aggiornata, nella letteratura scientifica internazionale, degli aspetti diagnostici, clinici (specie respiratori, cardiaci, ortopedici, nutrizionali e di gestione dell'emergenza-urgenza) e psicosociali e oggi la conoscenza di queste malattie rare è più diffusa che in passato. Il livello di preparazione di molti professionisti che lavorano in strutture sanitarie più periferiche rispetto ai centri esperti di terzo livello si è elevato e dunque a fianco dell'istituzione, in Italia, di Centri di riferimento dedicati alle malattie neuromuscolari quali i Centri NEMO, in alcune realtà regionali si stanno sviluppando modelli di interazione tra centri di diverso livello di competenze in un logica di rete Hub & Spoke. Qualunque sia il modello, è necessario che i Centri specialistici più esperti interagiscano con i centri territoriali inclusi quelli di NPIA e la Pediatria di Comunità e con gli altri centri ospedalieri più periferici per la gestione quotidiana delle problematiche croniche di questi pazienti. Il team multidisciplinare dovrebbe essere specificamente formato nella realizzazione di percorsi di cura strutturati e personalizzati, che da un lato affrontino gli aspetti neurocognitivi, comportamentali ed emotivi e dall'altro prevedano il monitoraggio periodico e il trattamento delle complicanze in particolare respiratorie, cardiache, ortopediche, fisiatriche, nutrizionali, epilettologiche e sensoriali a seconda delle diverse forme.
Tra gli strumenti utili a garantire al paziente *standard di cura* di buona qualità, esistono i PDTA (percorsi diagnostico terapeutico assistenziali) promossi dalle Aziende Sanitarie e dalle Associazioni di malati. Nei PDTA vengono esplicitati gli interventi complessi basati sulle migliori evidenze scientifiche e caratterizzati dall'organizzazione del processo di diagnosi e assistenza attraverso il coordinamento e l'attuazione di attività consequenziali standardizzate da parte di un team multidisciplinare *ad hoc*. Il PDTA mira a costruire una presa in carico multidisciplinare all'interno di una realtà territoriale che comprende agenzie socio sanitarie integrate con le strutture ospedaliere. Obiettivo dell'assistenza non deve essere soltanto la cura dei sintomi, bensì la promozione della salute, la prevenzione primaria e secondaria delle ricadute, il miglioramento dello stato funzionale e della qualità della vita unitamente a una maggiore attenzione al contesto sociale e relazionale della persona. Questi obiettivi vengono monitorati con specifici indicatori e per raggiungerli è necessario ricollocare il paziente al centro del sistema di cura, non considerandolo più come un recipiente passivo di visite e cure episodiche: entrambe devono essere condivise, motivate e coordinate, garantite nel tempo e accessibili. Nei PDTA deve essere inclusa la modalità di passaggio del paziente in età adolescenziale ai Centri Neurologici e Fisiatrici per Adulti una volta raggiunta la maggiore età, a garanzia della continuità di cura, sia dentro che fuori dall'ospedale. Tale passaggio che rappresenta di per sé un momento organizzato in un breve arco di tempo, deve essere anticipato dalla preparazione del bambino e dell'adolescente con malattia neuromuscolare rara e della sua famiglia al divenire adulto, secondo un processo multidimensionale che rappresenta la Transizione e che si svolge in un arco temporale più lungo.
Altrettanto importante è il tema del Progetto riabilitativo neuromotorio, oggetto di rivisitazione delle linee guida SIMFER attualmente a disposizione e ormai datate. Per questa ragione questo complesso tema non è stato affrontato in questo monografico.
Tornando alla diagnosi, per quanto detto, ancora più importante di ieri è, oggi, che sia il più precoce possibile. La disponibilità di terapie farmacologiche innovative (anche se ancora per poche malattie neuromuscolari) tanto più efficaci quanto più precocemente avviate, il consiglio genetico e una precoce presa in carico multidisciplinare sono oggi da perseguire con costanza e determinazione. Da un lato l'utilizzo di test genetici diagnostici precisi consente, di fronte a un quadro clinico chiaramente evocatore, di accelerare i tempi della diagnosi superando alcuni accertamenti strumentali invasivi che possono essere rimandati o che talora non sono più necessari a questo fine (ad esempio la biopsia muscolare per la diagnosi di SMA o di malattia di Duchenne). D'altro canto, per la stessa ragione, occorre intercettare i primi segni clinici in maniera più attenta rispetto al passato e dunque in particolare i Pediatri di Libera scelta vanno informati sui sintomi clinici anche sfumati per indirizzare tempestivamente il bambino ai Centri terziari per la diagnosi e la terapia farmacologica o genica, se disponibile. Questa precocità diagnostica si sta configurando per la SMA nello screening neonatale genetico.

Distrofia muscolare di Duchenne: cause, diagnosi, correlazioni genotipo/fenotipo, e storia naturale

Duchenne muscular dystrophy: etiopatogenesis, genotype/phenotype correlation and natural history

L. Bello, E. Pegoraro

Dipartimento di Neuroscienze DNS, Università degli Studi di Padova

Riassunto

Le distrofinopatie sono un gruppo di malattie genetiche che colpiscono principalmente il muscolo scheletrico e cardiaco, causate da un difetto della proteina distrofina nel sarcolemma delle fibre muscolari e dei cardiomiociti. La distrofina è codificata dal gene *DMD*, situato a livello del braccio corto del cromosoma X in posizione Xp21. Le distrofinopatie sono ereditate con modalità legata all'X, i maschi emizigoti ne sono affetti e le femmine eterozigoti sono per lo più portatrici sane. Tuttavia, vi è un'alta incidenza di mutazioni de novo (circa un terzo dei casi). Una diagnosi precoce della DMD consente la gestione tempestiva della compromissione motoria e cognitiva progressiva, la pianificazione dell' inizio di una terapia precoce con glucocorticoidi e la possibilità di fornire consulenza genetica ai genitori e alla famiglia nel ramo materno, offrendo la possibilità di diagnosi prenatale per i neonati In questo contesto, è importante che i pediatri e le persone a contatto con i bambini in età prescolare, così come la società in generale, siano sensibilizzati ed educati al riconoscimento precoce dei segni tipici della DMD.

Parole chiave: Distrofia muscolare, Genetica, Storia naturale

Summary

Dystrophinopathies are a group of genetic diseases that predominantly affect skeletal and cardiac muscle, caused by a dystrophin protein defect in the sarcolemma of muscle fibers and cardiomyocytes. Dystrophin is encoded by the DMD gene, located at the level of the short arm of the X chromosome at position Xp21. Dystrophinopathies are inherited with X-linked modality, hemizygote males are affected, and heterozygous females are mostly healthy carriers. However, there is a high incidence of de novo mutations (about a third of cases. An early diagnosis of DMD allows early management of progressive motor and cognitive impairment, planning to start early glucocorticoid therapy, and provide genetic counseling for parents and family in the maternal branch, offering the possibility of prenatal diagnosis for newborns. In this context, it is important that pediatricians and people in contact with preschool children, as well as society in general are sensitized and educated to the early recognition of the typical signs of DMD.

Key words: Muscular dystrophy, Genetic, Natural history

DISTROFIA MUSCOLARE DI DUCHENNE

Le distrofinopatie sono un gruppo di malattie genetiche che colpiscono preminentemente il muscolo scheletrico e cardiaco, causate da un difetto della proteina distrofina a livello del sarcolemma delle fibre muscolari e dei cardiomiociti [1]. La distrofina è codificata dal gene *DMD*, situato a livello del braccio corto del cromosoma X in posizione Xp21.Le distrofinopatie sono ereditate con modalità legata al cromosoma X, i maschi emizigoti risultano affetti, e le femmine eterozigoti sono per lo più portatrici sane. È da segnalare tuttavia un'alta incidenza di mutazioni *de novo* (circa un terzo dei casi) [2].

La distrofia muscolare di Duchenne (DMD, MIM #310200) è la forma severa di distrofinopatia, e comporta severa disabilità dovuta a perdita della deambulazione prima o attorno all'adolescenza, successiva perdita di capacità motorie anche agli arti superiori e nei distretti assiali, e aspettativa di vita ridotta prinicipalmente per insufficienza respiratoria da deficit ventilatorio restrittivo o per cardiomiopatia dilatativa. Le complicanze a carico dell'apparato respiratorio o cardicaco

CORRISPONDENZA

Luca Bello, Dipartimento di Neuroscienze DNS, Università degli Studi di Padova - E-mail: luca.bello@unipd.it

intervengono attorno all'adolescenza o in età giovane adulta.
La DMD è causata da una completa, o pressoché completa assenza di distrofina nel muscolo scheletrico dovuta a mutazioni nel gene *DMD* che alterano la cornice di lettura del trascritto o inseriscono un codone di stop prematuro, dando luogo a un trascritto instabile. Al contrario, nella distrofia muscolare di Becker (BMD, MIM #300376), variante allelica mite della DMD, le mutazioni rispettano la cornice di lettura e danno luogo a trascritti stabili, e quindi all'espressione di distrofina quantitativamente o qualitativamente alterata [3]. La BMD presenta una notevole eterogeneità clinica e comprende anche quadri paucisintomatici quali iperCKemia, mialgie, e mioglobinuria [4-6]. Mutazioni che rispettano il quadro di lettura si osservano anche nella cardiomiopatia dilatativa X-linked [7]. Le portatrici di distrofinopatia, in special modo le portatrici DMD, in una minoranza di casi, possono essere affette da debolezza muscolare e cardiomiopatia di severità variabili, a causa principalmente di un'inattivazione sbilanciata del cromosoma X [8-10].

QUADRO CLINICO ALLA PRESENTAZIONE

I primi segni clinici di malattia nella DMD compaiono nella prima infanzia [11 12]. L'acquisizione delle tappe dello sviluppo motorio può essere normale o mostrare lieve ritardo: la gran parte dei bambini affetti infatti acquisisce la deambulazione autonoma entro i 18 mesi, e virtualmente tutti entro i 24. Il deficit di forza compare generalmente attorno all'età di 3-4 anni: i genitori notano nel figlio un generale ritardo motorio in confronto ai pari età, con frequenti cadute, difficoltà e lentezza nell'alzarsi da terra e salire gradini, impaccio nella corsa, alterazioni della marcia con tendenza a camminare sulle punte e andatura ancheggiante. Meno comunemente, il bambino giunge all'attenzione medica per un ritardo del linguaggio (per una trattazione esaustiva delle problematiche neuropsichiatriche legate alla DMD si veda l'articolo dedicato in questo numero monografico) o per il riscontro occasionale di elevazione della creatin chinasi (CK) plasmatica o delle transaminasi. I valori della CK nella DMD alla diagnosi sono sempre molto alti (da 10 a 100 volte e oltre il limite superiore della norma), ma si abbassano nel corso degli anni fino a normalizzarsi in pazienti non deambulanti e severamente ipostenici anche agli arti superiori, con atrofia muscolare molto marcata [12].
Una recente revisione del percorso diagnostico nei pazienti DMD italiani [13] ha evidenziato come la diagnosi di DMD venga posta mediamente a 41 mesi, un'età più precoce rispetto alla media di altri Paesi sviluppati. La diagnosi è più precoce nei casi in cui è la CK elevata, piuttosto che il deficit di forza, il primo segno che porta il bambino all'attenzione medica. Una diagnosi precoce di DMD permette una presa in carico precoce, con la possibilità di mettere in atto presidi terapeutici volti a massimizzare l'acquisizione di capacità motorie (es. psicomotricità, fisioterapia), ricercare eventuali segni di coinvolgimento neurocognitivo e al bisogno intervenire con presidi terapeutici (es. logopedia, sostegno psicologico e scolastico, presa in carico neuropsichiatrica), programmare l'avvio precoce della terapia con glucocorticoidi e fornire una consulenza genetica ai genitori e alla famiglia nel ramo materno, offrendo la possibilità di diagnosi prenatale per nuovi nati [14]. In questo contesto, è importante che i pediatri di libera scelta, il personale sociosanitario in contatto con bambini in età prescolare, nonché la società in generale siano sensibilizzati e educati al riconoscimento precoce dei segni tipici della DMD.

MUTAZIONI GENETICHE

Come accennato sopra, la DMD è causata da mutazioni del gene *DMD* che causano una grave instabilità del trascritto, solitamente a causa di una perdita della cornice di lettura (*open reading frame*, ORF) o della presenza di un codone di stop prematuro. Nella maggior parte dei casi, circa il 60% [15], le mutazioni causa di DMD sono ampie delezioni, estese da alcune migliaia fino a centinaia di migliaia di basi, che comprendono uno o più esoni del gene *DMD*. Conseguentemente, una volta completato il processo di splicing e maturazione del trascritto, vi è una perdita dell'ORF oltre i margini della delezione e presenza di un codone di stop prematuro. Il trascritto risultante è altamente instabile e viene rapidamente degradato da un processo di "controllo qualità" del trascritto noto come *nonsense mediated decay*, per cui la proteina risulta completamente assente. Al contrario quando l'ORF viene mantenuto, al di là della nuova giunzione esone-esone si riprende una traduzione normale dando luogo a un trascritto internamente deleto ma leggibile e con conservazione del corretto codone di stop alla fine dell'ORF. Questo trascritto è stabile e dà luogo a una distrofina di peso molecolare e quantità ridotte, che usualmente risultano in un fenotipo BMD più mite [3]. Infatti, la larga maggioranza dei casi di BMD (circa l'80%) sono causati da delezioni "*in frame*". Questa "regola del mantenimento o perdita della cornice di lettura" si applica in maniera del tutto simile anche alle duplicazioni genomiche, che sono responsabili di una più piccola percentuale di casi DMD (circa 10%) e a rari casi di BMD in questo con distrofina di peso molecolare aumentato. Infine, in una piccola percentuale di casi, le distrofinopatie sono causate da mutazioni più piccole, sub-esoniche, fra cui

le principali sono delezione/inserzione di pochi nucleotidi, mutazioni di splicing o sostituzione di un singolo nucleotide che comporta la comparsa di un codone di stop prematuro (mutazione nonsenso) o la sostituzione di un aminoacido (mutazione missenso). Nel caso delle mutazioni nonsenso il trascritto contenente il codone di stop prematuro è instabile, degradabile e comporta assenza di proteina e un fenotipo DMD [16]. Talora, a causa di fenomeni di splicing alternativo o altri meccanismi molecolari complessi, alcuni pazienti con mutazioni puntiformi possono mostrare espressione di variabili quantità di distrofina e fenotipi BMD o intermedi [17]. Nel caso dei piccoli riarrangiamenti sub-esonici con delezione/inserzione di pochi nucleotidi, si applica la "regola del *frame"* per predire l'effetto della mutazione sul trascritto, infine nel caso delle mutazioni di splicing nelle regioni introniche fiancheggianti gli esoni (più raramente in regioni introniche profonde) è difficile prevedere l'effetto funzionale della mutazione sul trascritto e come conseguenza di queste mutazioni sono stati descritti sia fenotipi severi che miti. Molto rare sono infine le mutazioni missenso, che danno luogo a una proteina instabile e risultano più frequentemente in quadri di BMD severa o intermedi DMD/BMD [18].

PATOGENESI

Quale ne sia la causa a livello genomico, la deficienza di distrofina risulta dannosa a livello delle fibre dei muscoli scheletrici e dei cardiomiociti. Normalmente, la distrofina si localizza a livello del versante intracellulare della membrana sarcoplasmatica, prendendo contatto tramite il dominio N-terminale con l'actina del citoscheletro contrattile, e tramite la testa C-terminale con il distroglicano, proteina transmembrana, che prende contatto con le proteine della matrice extracellulare. Alla distrofina e al distroglicano si associano anche i sarcoglicani e altre proteine che costituiscono il cosiddetto "complesso distrofina/glicoproteine" (DGC), che riveste importanti funzioni strutturali di stabilizzazione del collegamento meccanico fra il citoscheletro contrattile e la matrice, soprattutto a livello di strutture specializzate alla trasmissione laterale della forza nelle fibre muscolari note come costameri [19]. Oltre ad un ruolo di stabilizzazione meccanica la distrofina e il DGC sono attivi in diverse altre vie di segnalazione molecolare e processi biologici, fra cui si ricordano alcuni dei principali: la NO sintasi neuronale, associata alla distrofina, è responsabile della produzione di ossido nitrico (NO) nella fibra muscolare che ha un'importante ruolo di segnalazione paracrina soprattutto per quanto riguarda la vasodilatazione durante sforzo [20]; la distrofina promuove l'aggregazione di specifici canali sulla membrana che hanno un ruolo nella regolazione della permeabilità di membrana per vari ioni, primariamente il calcio [21]; infine la distrofina partecipa alla regolazione della polarità e divisione asimmetrica delle cellule staminali muscolari [22]. L'assenza della distrofina determina l'assenza dell'intero DGC, e quindi un sovvertimento strutturale, meccanico, e funzionale del sarcolemma.

È rilevante notare che anche in assenza di distrofina il tessuto muscolare scheletrico si sviluppa normalmente durante la vita fetale, e svolge inizialmente una funzione pressoché normale, se si esclude una certa riduzione della forza massimale, soprattutto dopo contrazione muscolare eccentrica vigorosa e/o prolungata [23]. I meccanismi tramite cui l'assenza di distrofina danneggia l'integrità e la funzione del muscolo scheletrico si evidenziano nell'arco di anni, con il succedersi di continui cicli di degenerazione e necrosi di fibre muscolari (o parte di esse) e loro rigenerazione. La complessità di questi processi patologici è esemplificata anche dalla variabilità degli effetti fenotipici dell'assenza di distrofina su modelli animali di DMD diversi. Ad esempio, nel topo *mdx*, classico modello di distrofinopatia, si osserva un'"ondata" di necrosi muscolare all'età di 3 settimane, cui segue una rigenerazione piuttosto efficace e una relativa stabilizzazione della forza e funzione muscolare fino all'età avanzata dell'animale [24]; nel cane, similmente all'uomo, i cicli di degenerazione e rigenerazione fibrale sono già presenti alla nascita, e il deficit di forza progredisce continuamente con l'età determinando un importante deficit funzionale; nel gatto, ancora, si ha una marcatissima ipertrofia muscolare [25]. Senza dubbio, in assenza di distrofina, sono molteplici i fattori e meccanismi molecolari che concorrono a causare la necrosi e degenerazione delle fibre muscolari e a determinare l'efficienza con cui il potenziale rigenerativo del tessuto muscolare può far fronte a al danno, prima di raggiungere un quadro terminale di sostituzione del tessuto muscolare contrattile con tessuto fibroadiposo non contrattile, che si accumula quando la rigenerazione delle fibre muscolari da parte delle cellule satelliti non è sufficiente. Ricordiamo di seguito alcune delle vie molecolari implicate in questi processi: l'attivazione sin dalle fasi più precoci della patologia del *Nuclear Factor* κB (NF-κB) [26], un importante mediatore dell'infiammazione che migrando nel nucleo cellulare attiva la trascrizione di citochine e molecole di segnalazione pro-infiammatorie che provocano un reclutamento di un infiltrato infiammatorio secondario, prevalentemente di tipo linfo-monocitario, che concorre a generare e mantenere un ambiente pro-infiammatorio [27] [28]; la liberazione da parte del tessuto muscolare di pattern molecolari associati al danno (*damage-associated molecular patterns*, DAMPs), quali acidi nucleici o proteine intracitoplasmatiche, che vengono processati come antigeni e presentati ai linfociti T tramite il

complesso maggiore di istocompatibilità (MHC), sia da parte di cellule presentanti l'antigene "professionali" (es. macrofagi), sia dalle stesse fibre muscolari, che sostengono un ambiente pro-infiammatorio [29]; infine, l'attivazione della via molecolare pro-fibrotica regolata dal *Transforming Growth Factor* β (TGF-B), tipica delle fasi di malattia più tardive in cui prevale la proliferazione dei fibroblasti e la sostituzione fibroadiposa terminale del tessuto muscolare [26].

ITER DIAGNOSTICO E DIAGNOSI DIFFERENZIALE

Il riscontro di una CK elevata (almeno oltre 5 volte il limite superiore la norma), che non si normalizza dopo un periodo di alcuni giorni di riposo, in un maschio in età prescolare, è altamente suggestiva di distrofinopatia, indipendentemente dal quadro clinico, e impone l'avvio di un iter diagnostico con il riferimento del paziente a un Centro Neuromuscolare per accertamenti di terzo livello. Qualora il sospetto invece sorga dall'osservazione clinica (es. deficit di forza), è utile eseguire rapidamente un dosaggio della CK e se questa risultasse elevata inviare il paziente al Centro terziario. Presso il Centro di riferimento, il bambino viene valutato clinicamente per la conferma o ricerca di segni (e in minor misura sintomi) specifici: ritardo delle tappe motorie; ipertrofia o consistenza "pastosa" delle masse muscolari, in particolare i polpacci; alterazioni della marcia (anserina, tendenzialmente sulle punte) e postura (iperlordosi); iniziale rigidità delle tibiotarsiche; deficit di forza prossimale; ritardo dello sviluppo linguistico o presenza di disturbi comportamentali o disturbi pervasivi dello sviluppo; storia di mialgie o di mioglobinuria da sforzo.
Confermato clinicamente il sospetto clinico di distrofinopatia, il primo passo nella diagnosi molecolare di DMD consiste nell'invio di un campione di DNA per *Multiple Ligation Probe Amplification analysis* (MLPA) [30]. Questa metodica è mirata a una quantificazione del numero di copie di ciascuno dei 79 esoni del gene *DMD* a livello genomico, che normalmente sono una copia nei maschi (emizigoti al locus *DMD* situato sul cromosoma X) e 2 copie nelle femmine. Il riscontro di assenza di copie di alcuni esoni indica una delezione genomica estesa a comprendere gli esoni corrispondenti (es. 0 copie degli esoni dal 48 al 50, indica una delezione 48-50), anche se non vengono con questa metodica determinati i limiti intronici della delezione. Il riscontro di 2 copie di un esone nei maschi è indicativo di duplicazione della regione genomica comprendente gli esoni corrispondenti. La valutazione dell'ORF nel trascritto mutato permette di predire l'effetto *in frame* o *out of frame* della mutazione con le conseguenti implicazioni prognostiche sopra illustrate. Dal punto di vista operativo, è importante sottolineare che quando la MLPA evidenzia una delezione comprendente un singolo esone, è sempre importante confermare il risultato con un'altra metodica (ad esempio semplice amplificazione con PCR dell'esone interessato), in quanto piccole mutazioni a livello dei siti di ibridazione delle sonde potrebbero generare falsi positivi. La sensibilità della MLPA in presenza di un forte sospetto clinico di DMD è di circa il 70%, percentuale che corrisponde approssimativamente alla proporzione di delezioni e duplicazioni di uno o più esoni su tutte le mutazioni causative di DMD.
In caso di negatività della MLPA, si può procedere con biopsia muscolare, per confermare la presenza di un quadro istologico distrofico, con degenerazione/rigenerazione di fibre muscolari, proliferazione del connettivo, e infiltrato infiammatorio secondario, ma soprattutto evidenziare l'assenza di distrofina tramite immunoistochimica e immunoblot con anticorpi diretti a diversi epitopi della proteina. A fronte di una moderata invasività e necessità di sedazione per pazienti in età pediatrica, la biopsia offre diversi vantaggi di tipo diagnostico: permette di verificare l'assenza della distrofina, o se presente, tramite immunoblot, di dosarne la quantità relativamente al controllo e misurarne il peso molecolare. L'assenza di distrofina, o la sua presenza solo in minime tracce, è reperto di fortissima specificità per la diagnosi di DMD; mentre il riscontro di una distrofina con peso molecolare chiaramente alterato (piccole variazioni in immunoblot possono essere di difficile interpretazione) ha specificità del 100% per BMD. Data la variabilità clinica presente nello spettro delle distrofinopatie, discriminare fra DMD e BMD sulla base della clinica e della CK può essere molto difficile in età prescolare e fino ad almeno i 7 anni, pertanto il dosaggio della distrofina da biopsia muscolare riveste un forte significato anche prognostico. Significato prognostico rilevante soprattutto in presenza di mutazioni per le quali non è facile predire l'effetto sulla proteina, come mutazioni di splicing, missenso, o riarrangiamenti complessi. Infine, la biopsia muscolare, con il consenso dei genitori/tutori, può essere conservata in biobanche specializzate per poter essere utilizzata in progetti di ricerca volti ad indagare vari aspetti delle basi molecolari di malattia, o anche per poterne creare linee cellulari mioblastiche per esperimenti mirati alla sperimentazione preclinica di nuovi trattamenti.
In presenza di MLPA negativa, di un fenotipo fortemente suggestivo di distrofinopatia, con o senza aver eseguito una biopsia muscolare (che talora viene rifiutata dai genitori/tutori, anche dopo averne illustrato i vantaggi) è necessario procedere con un sequenziamento dell'intera regione codificante del gene *DMD*, che includa anche le regioni introniche fiancheggianti, alla ricerca

di “piccole mutazioni” sub-esoniche. In effetti, le linee guida diagnostiche più recenti [14] consigliano la sequenza della regione codificante del gene *DMD* dopo MLPA negativa prima della biopsia muscolare. La sequenza del gene *DMD* può essere ottenuta con sequenziamento “Sanger” tradizionale, dopo amplificazione con PCR di ogni singolo esone, oppure, preferibilmente al giorno d’oggi, con metodiche di *Next Generation sequencing* mirate o al solo gene *DMD*, o a pannelli di geni implicati in malattie muscolari. Quest’ultimo approccio, nel caso in cui il paziente non abbia eseguito la biopsia muscolare e quindi la diagnosi di distrofinopatia rimanga dubbia, permette potenzialmente di individuare casi di sarcoglicanopatia o altre distrofie muscolari con fenotipo Duchenne-like. Nel caso di identificazione di varianti di dubbio significato patogenetico, che non è raro con le metodiche NGS applicate a pannelli di geni, va nuovamente riconsiderata la biopsia muscolare per lo studio delle proteine muscolari e per poter confermare la patogenicità della variante. Infine, nei rari casi con sequenza negativa da DNA genomico, risulta ancora una volta utile la biopsia per estrarre l’RNA messaggero (trascritto maturo post-splicing), da cui retrotrascrivere e sequenziare il cDNA, al fine di identificare pattern di splicing aberranti, effetto di mutazioni introniche profonde che andranno poi ricercate in maniera mirata nel DNA genomico. L’applicazione di questo algoritmo diagnostico molecolare [31] permette di definire la diagnosi nella quasi totalità dei casi di distrofinopatia, obbiettivo che va perseguito per offrire la miglior prognosi al paziente e il miglior *counseling* genetico ai familiari, e non precludere l’accesso a nuove terapie molecolari [32].
La diagnosi differenziale della DMD si pone soprattutto con le sarcoglicanopatie DMD-like, che possono avere un fenotipo virtualmente indistinguibile; alcune forme di distrofia muscolare congenita, che hanno maggiori e più precoci ipotono, debolezza muscolare, ritardo delle tappe dello sviluppo, e retrazioni articolari. L’atrofia muscolare di tipo 2 ha rispetto alla DMD ipostenia più profonda, in particolare a livello assiale, fenotipo ipotrofico piuttosto che ipertrofico, CK molto più bassa, e segni neurofisiologici di denervazione. La BMD ha una diagnostica che segue l’ordine di esami molecolari indicati ma che ha una diagnosi differenziale molto più ampia e meno immediata, principalmente con l’ampia gamma di distrofie muscolari dei cingoli e con le SMA di tipo 3.

CORRELAZIONI GENOTIPO/FENOTIPO E IMPLICAZIONI PROGNOSTICHE

Come illustrato nel paragrafo precedente, la diagnosi molecolare della DMD e delle distrofinopatie in generale può contenere in sé anche un forte significato prognostico, relativo alle correlazioni genotipo/fenotipo stabilite dalla letteratura. Il criterio principale che governa queste correlazioni è rappresentato dalla “regola del *frame*” [3] alla quale però esistono diverse ed importanti eccezioni, quantificate in circa il 9% dei casi, e relativamente più comuni nell’ambito dello spettro fenotipico BMD che in quello DMD [15 33]. Alcune di queste eccezioni sono degne di nota. Ad esempio: mutazioni nella porzione prossimale del gene, codificante per la regione N-terminale con domini simili alla calpaina e legante l’actina sarcomerica, possono avere comportamenti meno facilmente prevedibili [34]. Fenomeni di *splicing* alternativo oppure di re-iniziazione della traduzione proteica da siti di ingresso del ribosoma alternativi possono portare all’espressione di distrofina nonostante mutazioni previste *out of frame*; di converso, mutazioni previste *in frame* nella stessa regione, se impediscono completamente il legame con l’actina, possono portare a quadri molto severi simili alla DMD, e in particolare associarsi a precoce e severa cardiomiopatia [35]. All’estremità 3’ del gene, che codifica per l’estremità C-terminale della proteina, a livello degli esoni più distali, è possibile che mutazioni previste *out of frame* possano associarsi a quadri BMD [36], a causa probabilmente di una parziale *escape* del trascritto dal *nonsense mediated decay*. Infine, alcune specifiche delezioni possono associarsi più frequentemente di altre a fenomeni di splicing alternativo che ricostituiscono l’integrità della cornice di lettura, come nel caso delle delezioni confinanti con l’esone 44 (es. delezione singola dell’esone 45 e altre) che si associano spesso a quadri di distrofinopatia intermedia DMD/BMD [37-39]. In ogni caso, la formulazione di una prognosi specifica va sempre basata su una diagnostica molecolare completa, e nei casi dubbi anche sugli studi proteici su tessuto muscolare. La prognosi va riservata a Centri qualificati che facciano riferimento a casistiche internazionali pubblicate in letteratura o su database pubblici (*http://www.dmd.nl; http://e-dystrophin.genouest.org*) e su casistiche proprie del Centro. In alcuni casi, differenziare fra fenotipi DMD e BMD può risultare molto difficile in pazienti giovani paucisintomatici.
A complicare l’identificazione di rapporti genotipo/fenotipo va ricordato che il gene *DMD* riconosce una complessa organizzazione e regolazione genomica con diversi promotori e fenomeni di splicing alternativo che danno origine a diverse isoforme [40] con profili di espressione variabili in diversi tessuti. Mentre tutte le mutazioni patogenetiche di distrofinopatia interessano le isoforme “full-length” di 427 kDa (Dp427) espresse da diversi promotori nelle fibre muscolari scheletriche, nel cuore, e nelle cellule nervose, alcune isoforme più corte (primariamente Dp140 e Dp71) sono espresse dalle regioni più distali del gene, da promotori situati all’interno di introni del gene stesso. Mutazioni che interessano la

parte distale del gene (approssimativamente dall'introne 44 in poi) e quindi l'espressione di queste isoforme "corte" sono state associate a più frequenti manifestazioni a livello del sistema nervoso centrale [41 42], per la cui trattazione rimandiamo al capitolo dedicato in questo Numero monografico.
Infine, sono stati descritti anche "modificatori genetici", ovvero polimorfismi in geni diversi dal gene *DMD* in grado di modificare il fenotipo della DMD. In genere, l'effetto di queste varianti è piccolo in confronto alle correlazioni genotipo/fenotipo all'interno del locus DMD, e ha rilevanza nella valutazione di ampie popolazioni in studi di storia naturale o trial clinici, piuttosto che nel delineare la prognosi del singolo paziente. Per una revisione esaustiva rimandiamo a una nostra recente revisione [43].

COMUNICAZIONE DELLA DIAGNOSI E CONSULENZA GENETICA

La comunicazione di diagnosi di DMD, a causa delle pesanti implicazioni in termini di disabilità e ridotta aspettativa di vita, è un momento complesso e doloroso per i familiari, per i pazienti, e non ultimo per il medico stesso. Questa comunicazione va effettuata in un setting appropriato: l'ambiente deve essere riservato e tranquillo, la presenza di entrambi i genitori o comunque di tutti coloro che sono esercenti la patria potestà del bambino è strettamente necessaria così come l'allocazione di un tempo adeguato. La comunicazione deve essere corretta ed esaustiva toccando anche gli aspetti legati alla evolutività della malattia, ma contemporaneamente deve sottolineare gli aspetti di speranza legati da una parte alla variabilità clinica con presenza di alcuni casi più miti, dall'altra al miglioramento delle condizioni generali e dell'aspettativa di vita dei pazienti DMD con gli standard di cura odierni, ed infine alla disponibilità crescente di trattamenti innovativi in commercio o sperimentali. Grande rilevanza ha la capacità di ascolto e di empatia del clinico che comunica la diagnosi, spesso con necessità di incontri multipli – qualora l'impatto emotivo della diagnosi precluda la possibilità di recepire efficacemente altre importanti informazioni – o del supporto di uno psicologo. Senza dubbio, al di là dei contenuti della comunicazione e delle tecniche comunicative utilizzate, lo strumento migliore, per trasformare questo momento difficile nella base di un processo costruttivo, è la contemporanea e attiva offerta di una presa in carico globale e multidisciplinare del paziente, in modo che il Centro rappresenti un punto di riferimento forte per la famiglia. Per questo motivo, sarebbe utile che la comunicazione della diagnosi avvenisse presso lo stesso Centro che offrirà la presa in carico, e contestualmente ad essa.

Parte integrante della presa in carico del paziente con distrofinopatia è l'offerta della consulenza genetica per i familiari. Il primo passo, in assenza di una familiarità nota (cioè di altri maschi affetti nel ramo materno), è determinare se la madre sia o meno una portatrice eterozigote della mutazione del figlio maschio affetto. Ciò viene fatto con tecniche diverse a seconda della mutazione identificata nel probando: MLPA nel caso di riarrangiamenti di uno o più esoni, o sequenza Sanger mirata per piccole mutazioni. In un terzo circa dei casi privi di precedente storia familiare positiva per DMD/BMD [2], la madre risulta non portatrice, per cui si presume che il primo evento mutazionale stocastico sia avvenuto nella linea germinale della madre stessa (mutazione *de novo*). In questo caso non vi è rischio di essere portatrici per la nonna materna o le zie materne del probando. L'analisi genetica nelle sorelle dell'affetto è invece mandatoria, in quanto la condizione di mosaicismo germinale tipica delle mutazioni *de novo* comporta un rischio di ricorrenza nei germani di circa il 14% [44]. In caso di sorelle asintomatiche del probando è opportuno attendere almeno la maturità sessuale, se non la maggiore età, per eseguire il test molecolare con l'assenso o consenso informato dell'interessata, nell'ottica di renderla consapevole del rischio di generare prole affetta da DMD e quindi responsabilizzarla relativamente ad una scelta consapevole di gravidanza. Per quanto riguarda i familiari maschi dei probandi DMD, l'asintomaticità in età scolare o oltre può tranquillamente essere considerata indicativa dello stato di non affetto; maggiore attenzione va posta nei casi di BMD con fenotipo più mite, per esempio mialgie e/o iperCKemia. In questi casi non è inusuale riscontrare lo stato di affetto in zii o nonni materni pauci- o asintomatici. In generale, è opportuno che la consulenza genetica sia eseguita presso il Centro che ospita il laboratorio diagnostico, mirando alla prevenzione di nuovi casi inaspettati, promuovendo la programmazione responsabile della gravidanza nelle familiari a rischio, e offrendo loro il percorso per la diagnostica prenatale.
Merita infine un cenno il dibattito, ancora in corso, sull'opportunità di uno screening neonatale, o più tardivo ma comunque ad ampio spettro nella popolazione maschile, per la DMD [45-47]. Argomenti a favore sono l'utilità della presa in carico precoce, la possibilità di identificare precocemente familiari a rischio e prevenire secondi casi (es. fratelli minori o cugini), e in maniera crescente ma ancora molto parziale l'accesso precoce a nuovi trattamenti; gli argomenti contrari includono l'impossibilità di accedere a un trattamento nella gran parte dei casi fino ai 4 anni circa, quando si consiglia generalmente l'avvio della terapia steroidea, a fronte del peso della diagnosi in termini di equilibrio psichico dei genitori e serenità dell'ambiente familiare; e le

incomplete sensibilità e soprattutto specificità di uno screening basato sull'elevazione della CK sierica, che includerebbe come "falsi positivi" casi di BMD e altre miopatie per le quali l'utilità dello screening sarebbe ancora più discutibile.

STORIA NATURALE E COINVOLGIMENTO RESPIRATORIO E CARDIACO

Il concetto di "storia naturale" della DMD si è – fortunatamente – modificato e reso di più difficile definizione, almeno nei paesi sviluppati, per la sempre più diffusa e capillare implementazione degli standard di cura consigliati internazionalmente [14 48 49], che saranno illustrati nella sezione dedicata in questo Numero monografico. Nonostante sia importante non confondere la vera "storia naturale" con gli effetti positivi delle cure (glucocorticoidi, fisioterapia, ventilazione meccanica, farmaci cardiaci ecc.) [50], utilizziamo qui questa espressione in senso lato, per indicare l'evoluzione di malattia che oggi comunemente si osserva nella DMD, trattata con cure standard. Studi osservazionali, appunto detti "di storia naturale", su ampie popolazioni di pazienti DMD, ai quali un contributo fondamentale hanno apportato i ricercatori e clinici delle Rete Italiana per la DMD, hanno portato a definire alcune importanti tappe o "pietre miliari" della malattia.

Un dato saliente derivato dagli studi italiani, condotti utilizzando misure di efficacia clinica "moderne" e studiate appositamente per la DMD, come il test del cammino di 6 minuti (6MWT), mutuato e adattato dal campo della pneumologia alle malattie muscolari (McDonald et al., 2010), e la scala funzionale *North Star Ambulatory Assessment* [52 53], indica che fino all'età di 7 anni circa vi è una progressiva acquisizione di competenze motorie, seguita da un peggioramento funzionale e conseguente perdita di abilità motorie dovute alla progressione della sostituzione fibroadiposa a livello dei ventri muscolari [54 55]. Questo dato ha un'importanza cruciale nel disegnare trial clinici che mirino a rallentare la progressione del deficit di forza e la perdita di funzione. Dopo i 7 anni di età si assiste alla perdita sequenziale di alcune abilità motorie, invariabilmente in quest'ordine: correre/saltare (talora mai acquisite se non con terapia steroidea), alzarsi da terra, salire gradini, camminare autonomamente [56]. La perdita della deambulazione, che la vera "storia naturale" della DMD, in assenza di terapia con glucocorticoidi e di qualsiasi trattamento, vedeva posizionata attorno ai 9-10 anni, si è spostata nei *teens* grazie ai glucocorticoidi e ai nuovi standard di cura, con valori mediani fino a 14 anni di età [57]. Il progredire della malattia porta poi inevitabilmente anche al coinvolgimento degli arti superiori. La perdita di funzione a livello degli arti superiori è stata meno estensivamente caratterizzata, ma anche in quest'ambito vi è crescente attenzione per poter definire misure di efficacia valide anche nei pazienti non deambulanti e consentire quindi il disegno di studi clinici che coinvolga anche pazienti in stadio di malattia più avanzata [58 59]. È intuitivo come per i pazienti non deambulanti il mantenimento di un *range* di movimento ampio e di una funzione anti-gravitaria a livello degli arti superiori abbia enormi implicazioni sulla qualità di vita e le possibilità di partecipazione sociale.

Infine, una trattazione completa delle complicanze cardiorespiratorie, che sono appannaggio dell'adolescente e dell'adulto, vanno oltre lo scopo di questo articolo, per cui ci limiteremo ad alcuni cenni, rimandando il lettore ad altre fonti per approfondimento [60 61]. Dal punto di vista respiratorio, la forza muscolare inspiratoria e espiratoria, misurabile direttamente con le massime pressioni inspiratorie ed espiratorie (MIP e MEP) e indirettamente tramite il picco di flusso espiratorio (PEF) risultano ridotte e in continua diminuzione già alle più precoci valutazioni (prima dei 10 anni), ma non è ancora individuabile un vere e proprio pattern restrittivo, risultando ancora normali i volumi polmonari mobilizzabili, misurati come capacità vitale forzata (FVC) o volume espiratorio forzato in 1 secondo (FEV1). Tutte queste misure vanno incontro a un graduale e parallelo declino, all'incirca dal decimo anno di vita in poi [62 63]. Al raggiungimento di alcune "soglie" di restrizione si ha la comparsa dapprima di ipoventilazione notturna (in genere al di sotto del 50% predetto per età e altezza della FVC), poi anche diurna (al di sotto del 30% circa) con necessità di fisioterapia respiratoria per la prevenzione di atelettasie e per contrastare l'aumentato rischio di infezione da scarsa clearance delle vie respiratorie e tosse insufficiente; e soprattutto, quando la capacità vitale scende al di sotto di 1 litro, di assistenza ventilatoria meccanica non invasiva con cPAP, dapprima solo notturna, quindi anche variabilmente nelle ore anche diurne, o continua. Questo presidio terapeutico è forse quello che singolarmente ha più di tutti allungato l'aspettativa di vita dei pazienti affetti da DMD. La tracheostomia è necessaria solo molto tardivamente e in casi selezionati. Un importante ruolo nel determinare la funzione respiratoria hanno anche le deformità scoliotiche della gabbia toracica e il sovrappeso.

Dal punto di vista cardiaco, il miocardio va incontro, in assenza di distrofina, a fenomeni di degenerazione, rigenerazione, fibrosi, e infiammazione secondaria simili a quelli osservati nei muscoli scheletrici e respiratori. Ciò determina una riduzione della contrattilità e della funzione di pompa che diventano evidenti solitamente a partire dall'adolescenza, e sono rilevabili nella gran parte dei pazienti all'inizio dell'età adulta [64 65]. Si associa generalmente un rimodellamento dilatativo del

ventricolo sinistro con incremento del volume telediastolico. Queste alterazioni sono rallentate e in parte prevenute da terapia con beta-bloccanti, inibitori dell'enzima convertente l'angiotensina (ACEi), e antagonisti dei mineralocorticoidi [48 66 67], che possono essere avviati per la terapia in pazienti sintomatici o con alterazioni ecocardiografiche, o a scopo profilattico in pazienti adolescenti o preadolescenti senza alterazioni cardiache maggiori. È importante sottolineare come la cardiomiopatia tenda a esser asintomatica o a presentarsi in maniera subdola data l'impossibilità dei pazienti con DMD adolescenti e adulti di esercitarsi fisicamente. Vi è una tendenza alla tachicardia per iperattivazione adrenergica, ed è incrementato il rischio di aritmie con fenomeni di rientro innescati da aree di fibrosi che interferiscono con la conduzione elettrica. Queste aritmie possono essere anche severe causando morte improvvisa in pazienti con funzione di pompa ancora conservata, per cui è indicato l'impianto del defibrillatore se emergono aritmie pericolose al monitoraggio Holter, o comunque in pazienti con funzione di pompa severamente ridotta [48].

Bibliografia

1 Hoffman EP, Brown RH, Kunkel LM. *Dystrophin: the protein product of the Duchenne muscular dystrophy locus*. Cell 1987;51:919-28.

2 van Essen AJ, Busch HFM, te Meerman GJ, et al. *Birth and population prevalence of Duchenne muscular dystrophy in the Netherlands.* Hum Genet 1992;88:258-66.

3 Monaco AP, Bertelson CJ, Liechti-Gallati S,et al. *An explanation for the phenotypic differences between patients bearing partial deletions of the DMD locus.* Genomics 1988;2:90-5.

4 Doriguzzi C, Palmucci L, Mongini T, et al. *Exercise intolerance and recurrent myoglobinuria as the only expression of Xp21 Becker type muscular dystrophy.* J Neurol 1993;240:269-71.

5 Gospe SM Jr, Lazaro RP, Lava NS, et al. *Familial x-linked myalgia and cramps: a nonprogressive myopathy associated with a deletion in the dystrophin gene*. Neurology 1989;39:1277-80.

6 Morrone A, Zammarchi E, Scacheri PC, et al. *Asymptomatic dystrophinopathy.* Am J Med Genet 1997;69:261-7.

7 Melacini P, Fanin M, Danieli GA, et al. *Myocardial involvement is very frequent among patients affected with subclinical Becker's muscular dystrophy.* Circulation 1996;94:3168-75.

8 Moser H, Emery AEH. *The manifesting carrier in Duchenne muscular dystrophy.* Clin Genet 1974;5:271-84.

9 Pegoraro E, Neil Schimke R, Arahata K, et al. *Detection of new paternal dystrophin gene mutations in isolated cases of dystrophinopathy in females.* Am J Med Genet 1994;54:989-1003.

10 Pegoraro E, Schimke RN, Garcia C, et al. *Genetic and biochemical normalization in female carriers of duchenne muscular dystrophy: evidence for failure of dystrophin production in dystrophin-competent myonuclei.* Neurology 1995;45:677-90.

11 Bello L, Hoffman EP, Pegoraro E. *Dystrophinopathies. Muscular dystrophy: causes and management.* 2013, pp. 67-96.

12 Darras BT, Miller DT, Urion DK. *Dystrophinopathies*. In: Pagon RA, Adam MP, Ardinger HH, et al. (eds.). *GeneReviews(®)* [online]. Seattle (WA): University of Washington 1993. Accessed at: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK1119/.

13 D'Amico A, Catteruccia M, Baranello G, et al. *Diagnosis of Duchenne Muscular Dystrophy in Italy in the last decade: Critical issues and areas for improvements.* Neuromuscul Disord 2017;27:447-51.

14 Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 1: diagnosis, and neuromuscular, rehabilitation, endocrine, and gastrointestinal and nutritional management.* Lancet Neurol 2018;17:251-67.

15 Aartsma-Rus A, Van Deutekom JCT, Fokkema IF, et al. *Entries in the Leiden Duchenne muscular dystrophy mutation database: an overview of mutation types and paradoxical cases that confirm the reading-frame rule.* Muscle Nerve 2006;34:135-44.

16 Nigro V, Politano L, Nigro G, et al. *Detection of a nonsense mutation in the dystrophin gene by multiple SSCP.* Hum Mol Genet 1992;1:517-20.

17 Flanigan KM, Dunn DM, von Niederhausern A, et al. *Nonsense mutation-associated Becker muscular dystrophy: interplay between exon definition and splicing regulatory elements within the DMD gene*. Hum Mutat 2011;32:299-308.

18 Roberts RG, Gardner RJ, Bobrow M. *Searching for the 1 in 2,400,000: A review of dystrophin gene point mutations.* Hum Mutat 1994;4:1-11.

19 Ervasti JM. *Costameres: the Achilles' heel of Herculean muscle.* J Biol Chem 2003;278:13591-4.

20 Rando TA. *Role of nitric oxide in the pathogenesis of muscular dystrophies: a "two hit" hypothesis of the cause of muscle necrosis.* Microscopy Research and Technique 2001;55:223-35.

21 Franco Jr A, Lansman JB. *Calcium entry through stretch-inactivated ion channels in mdx myotubes.* Nature 1990;344:670-3.

22 Dumont NA, Wang YX, von Maltzahn J, et al. *Dystrophin expression in muscle stem cells regulates their polarity and asymmetric division.* Nat Med 2015;21:1455-63.

23 Tegeler CJ, Grange RW, Bogan DJ, et al. *Eccentric contractions induce rapid isometric torque drop in dystrophin-deficient dogs.* Muscle Nerve 2010;42:130-2.

24 Partridge TA. *The mdx mouse model as a surrogate for Duchenne muscular dystrophy*. FEBS J 2013;280:4177-86.

25 Gaschen FP, Hoffman EP, Gorospe JR, et al. *Dystrophin*

deficiency causes lethal muscle hypertrophy in cats. J Neurol Sci 1992;110:149-59.

26 Chen Y-W, Nagaraju K, Bakay M, et al. *Early onset of inflammation and later involvement of TGF in Duchenne muscular dystrophy.* Neurology 2005;65:826-34.

27 McDouall RM, Dunn MJ, Dubowitz V. *Nature of the mononuclear infiltrate and the mechanism of muscle damage in juvenile dermatomyositis and Duchenne muscular dystrophy.* J Neurol Sci 1990;99:199-217.

28 Morrison J, Lu QL, Pastoret C, et al. *T-cell-dependent fibrosis in the mdx dystrophic mouse.* Lab Invest 2000;80:881-91.

29 Rosenberg AS, Puig M, Nagaraju K, et al. *Immune-mediated pathology in Duchenne muscular dystrophy.* Sci Transl Med 2015;7:299rv4.

30 Schwartz M, Dunø M. *Improved molecular diagnosis of dystrophin gene mutations using the multiplex ligation-dependent probe amplification method*. Genetic Testing 2004;8:361-7.

31 Falzarano MS, Scotton C, Passarelli C, et al. *Duchenne muscular dystrophy: from diagnosis to therapy.* Molecules 2015;20:18168-84.

32 Bello L, Pegoraro E. *Genetic diagnosis as a tool for personalized treatment of Duchenne muscular dystrophy.* Acta Myol 2016;35:122-7.

33 Kesari A, Pirra LN, Bremadesam L, et al. *Integrated DNA, cDNA, and protein studies in Becker muscular dystrophy show high exception to the reading frame rule.* Hum Mutat 2008;29:728-37.

34 Muntoni F, Gobbi P, Sewry C, et al. *Deletions in the 5' region of dystrophin and resulting phenotypes*. J Med Genet 1994;31:843-7.

35 Kaspar RW, Allen HD, Ray WC, et al. *Analysis of dystrophin deletion mutations predicts age of cardiomyopathy onset in becker muscular dystrophy.* Circ Cardiovasc Genet 2009;2:544-51.

36 Bello L, Campadello P, Barp A, et al. *Functional changes in Becker muscular dystrophy: implications for clinical trials in dystrophinopathies.* Sci Rep 2016;6:32439.

37 Bello L, Morgenroth LP, Gordish-Dressman H, et al. *DMD genotypes and loss of ambulation in the CINRG Duchenne Natural History Study*. Neurology 2016;87:401-9.

38 van den Bergen JC, Ginjaar HB, Niks EH, et al. *Prolonged ambulation in duchenne patients with a mutation amenable to exon 44 skipping*. J Neuromuscul Dis 2014;1:91-4.

39 Wang RT, Barthelemy F, Martin AS, et al. *DMD genotype correlations from the Duchenne Registry: endogenous exon skipping is a factor in prolonged ambulation for individuals with a defined mutation subtype.* Hum Mutat 2018;39:1193-202.

40 Muntoni F, Torelli S, Ferlini A. *Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes.* Lancet Neurol 2003;2:731-40.

41 Bresolin N, Castelli E, Comi GP, et al. *Cognitive impairment in Duchenne muscular dystrophy*. Neuromuscul Disord 1994;4:359-69.

42 Doorenweerd N, Mahfouz A, van Putten M, et al. *Timing and localization of human dystrophin isoform expression provide insights into the cognitive phenotype of Duchenne muscular dystrophy.* Sci Rep 2017;7:12575.

43 Bello L, Pegoraro E. *The "Usual suspects": genes for inflammation, fibrosis, regeneration, and muscle strength modify duchenne muscular dystrophy*. J Clin Med 2019;8.

44 Bakker E, Veenema H, Den Dunnen JT, et al. *Germinal mosaicism increases the recurrence risk for "new" Duchenne muscular dystrophy mutations.* J Med Genet 1989;26:553-9.

45 Helderman-van den Enden AT, Madan K, Breuning MH, et al. *An urgent need for a change in policy revealed by a study on prenatal testing for Duchenne muscular dystrophy.* Eur J Hum Gene 2012:1-6.

46 Ross LF. *Screening for conditions that do not meet the Wilson and Jungner criteria: the case of Duchenne muscular dystrophy*. Am J Med Genet A 2006;140A:914-22.

47 Ross LF, Clarke AJ. *A historical and current review of newborn screening for neuromuscular disorders from around the world: lessons for the United States*. Pediatr Neurol 2017;77:12-22.

48 Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 2: respiratory, cardiac, bone health, and orthopaedic management.* Lancet Neurol 2018;17:347-61.

49 Birnkrant DJ, Bushby K, Bann CM, et al. *Diagnosis and management of Duchenne muscular dystrophy, part 3: primary care, emergency management, psychosocial care, and transitions of care across the lifespan.* Lancet Neurol 2018;17:445-55.

50 Dubowitz V. *Unnatural natural history of Duchenne muscular dystrophy.* Neuromuscul Disord 2015;25:936.

51 McDonald CM, Henricson EK, Han JJ, et al. *The 6-minute walk test as a new outcome measure in Duchenne muscular dystrophy.* Muscle Nerve 2010;41:500-10.

52 Mazzone ES, Messina S, Vasco G, et al. *Reliability of the North Star Ambulatory Assessment in a multicentric setting*. Neuromuscul Disord 2009;19:458-61.

53 Scott E, Eagle M, Mayhew A, et al. *Development of a Functional assessment scale for ambulatory boys with Duchenne muscular dystrophy: development of a scale for Duchenne MD*. Physiother Res Int 2012;17:101-9.

54 Mazzone E, Martinelli D, Berardinelli A, et al. *North Star Ambulatory Assessment, 6-minute walk test and timed items in ambulant boys with Duchenne muscular dystrophy.* Neuromuscul Disord 2010;20:712-6.

55 Mazzone E, Vasco G, Sormani MP, et al. *Functional changes in Duchenne muscular dystrophy: a 12-month longitudinal cohort study*. Neurology 2011;77:250-6.

56 Henricson EK, Abresch RT, Cnaan A, et al. *The cooperative international neuromuscular research group Duchenne natural history study: glucocorticoid treatment preserves clinically meaningful functional milestones and reduces rate of disease progression as measured by manual muscle testing and othe: CINRG*

DMD Natural History Study. Muscle Nerve 2013;48:55-67.

57 Bello L, Gordish-Dressman H, Morgenroth LP, et al. *Prednisone/prednisolone and deflazacort regimens in the CINRG Duchenne Natural History Study.* Neurology 2015;85:1048-55.

58 Mayhew A, Mazzone ES, Eagle M, et al. *Development of the performance of the upper limb module for duchenne muscular dystrophy*. Dev Med Child Neurol 2013;55:1038-45.

59 Pane M, Mazzone ES, Fanelli L, et al. *Reliability of the performance of upper limb assessment in Duchenne muscular dystrophy.* Neuromuscul Disord 2014;24:201-6.

60 Melacini P, Vianello A, Villanova C, et al. *Cardiac and respiratory involvement in advanced stage duchenne muscular dystrophy.* Neuromuscul Disord 1996;6:367-76.

61 Vianello A, Matarese A, Paladini L. *Ventilatory assistance. Muscular dystrophy: causes and management*. 2013. pp. 381-91.

62 LoMauro A, Romei M, Gandossini S, et al. *Evolution of respiratory function in Duchenne muscular dystrophy from childhood to adulthood.* Eur Respir J 2018;51.

63 McDonald CM, Gordish-Dressman H, Henricson EK, et al. *Longitudinal pulmonary function testing outcome measures in Duchenne muscular dystrophy: long-term natural history with and without glucocorticoids.* Neuromuscul Disord 2018;28:897-909.

64 Barp A, Bello L, Politano L, et al. *Genetic modifiers of duchenne muscular dystrophy and dilated cardiomyopathy.* PLOS ONE 2015;10:e0141240.

65 Nigro G, Comi LI, Politano L, et al. *The incidence and evolution of cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy.* Int J Cardiol 1990;26:271-7.

66 Duboc D, Meune C, Lerebours G, et al. *Effect of perindopril on the onset and progression of left ventricular dysfunction in Duchenne muscular dystrophy.* J Am Coll Cardiol 2005;45:855-7.

67 Raman SV, Hor KN, Mazur W, et al. *Eplerenone for early cardiomyopathy in Duchenne muscular dystrophy: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial.* Lancet Neurol 2015;14:153-61.

Prospettive di trattamento nella distrofia muscolare di Duchenne

New treatments in Duchenne muscular dystrophy

F. Fortunato, A. Ferlini

Genetica Medica, Università di Ferrara

Riassunto

Le distrofie muscolari di Duchenne/Becker (DMD/BMD) sono patologie neuromuscolari ereditarie a trasmissione X-linked recessiva causate da mutazioni nel gene distrofina. Tale difetto genetico è alla base di una serie di complessi eventi molecolari e cellulari che si susseguono "a cascata" e che conducono alla degenerazione del tessuto muscolare.

Gli approcci sperimentali, in fase di sperimentazione clinica e preclinica, sono finalizzati ad agire sui diversi bersagli specifici di tali processi: ripristinare la sintesi di distrofina, ridurre la fragilità muscolare, contrastare il processo infiammatorio e fibrotico. Ulteriori strategie terapeutiche mirano, inoltre, ad agire direttamente sulla funzionalità cardiaca e respiratoria.

Sebbene allo stato attuale non esista una vera e propria cura per la DMD/BMD, estremamente ricco e versatile è lo scenario degli approcci terapeutici in fase di sperimentazione clinica: ad oggi sono in corso, a livello mondiale, più di 30 trials clinici finalizzati a valutare la sicurezza e l'efficacia di queste strategie terapeutiche, dei quali tratteremo brevemente in questo capitolo. L'utilizzo degli steroidi, in uso nella pratica clinica da tempo, verrà trattata in apposito capitolo.

Parole chiave: Distrofia muscolare, Terapia, Trial clinici

Summary

Duchenne/Becker muscular dystrophies (DMD/BMD) are hereditary neuromuscular X-linked recessive disorders caused by mutations in the dystrophin gene. This genetic defect is the basis of a series of complex molecular and cellular events that follow each other "in a cascade" and that lead to the degeneration of muscle tissue.

The experimental approaches, in clinical and preclinical testing, are aimed at acting on the different specific targets of these processes: restoring the synthesis of dystrophin, reducing muscle fragility, counteracting the inflammatory and fibrotic process. Further therapeutic strategies also aim to act directly on cardiac and respiratory function.

Although at present there is no real cure for DMD/BMD, the scenario of therapeutic approaches undergoing clinical trials is extremely rich and versatile: to date, more than 30 clinical trials are underway worldwide assess the safety and effectiveness of these therapeutic strategies, which we will briefly discuss in this chapter. The use of steroids, used in clinical practice for some time, will be discussed in a specific chapter.

Key words: Muscular dystrophy, Therapy, Clinical trials

TERAPIE VOLTE A RIPRISTINARE LA DISTROFINA

Alcune strategie terapeutiche innovative mirano a ripristinare la produzione di distrofina attraverso la correzione mirata della mutazione genetica o veicolando direttamente nelle cellule la versione corretta del gene difettoso.

Exon skipping

Nell'ottica di una terapia genica per la distrofia muscolare di Duchenne, un approccio terapeutico studiato in maniera estensiva sin dagli anni '90, è quello dell'***exon skipping*** ("salto dell'esone"). Tale approccio si basa sull'impiego di oligoribonucleotidi antisenso (**AONs**) per indurre l'esclusione specifica di un esone dal trascritto maturo (*exon skipping*) (Fig. 1) [1]. Potenzialmente nei pazienti DMD l'eliminazione dal trascritto degli esoni contenenti la mutazione o degli esoni adiacenti, è in grado di ripristinare la cornice di lettura e quindi condurre alla produzione di una distrofina mancante di alcuni domini proteici che tuttavia mantiene i due terminali NH2 e

CORRISPONDENZA

Fernanda Fortunato, Genetica Medica, Università di Ferrara - E-mail: frtfnn@unife.it

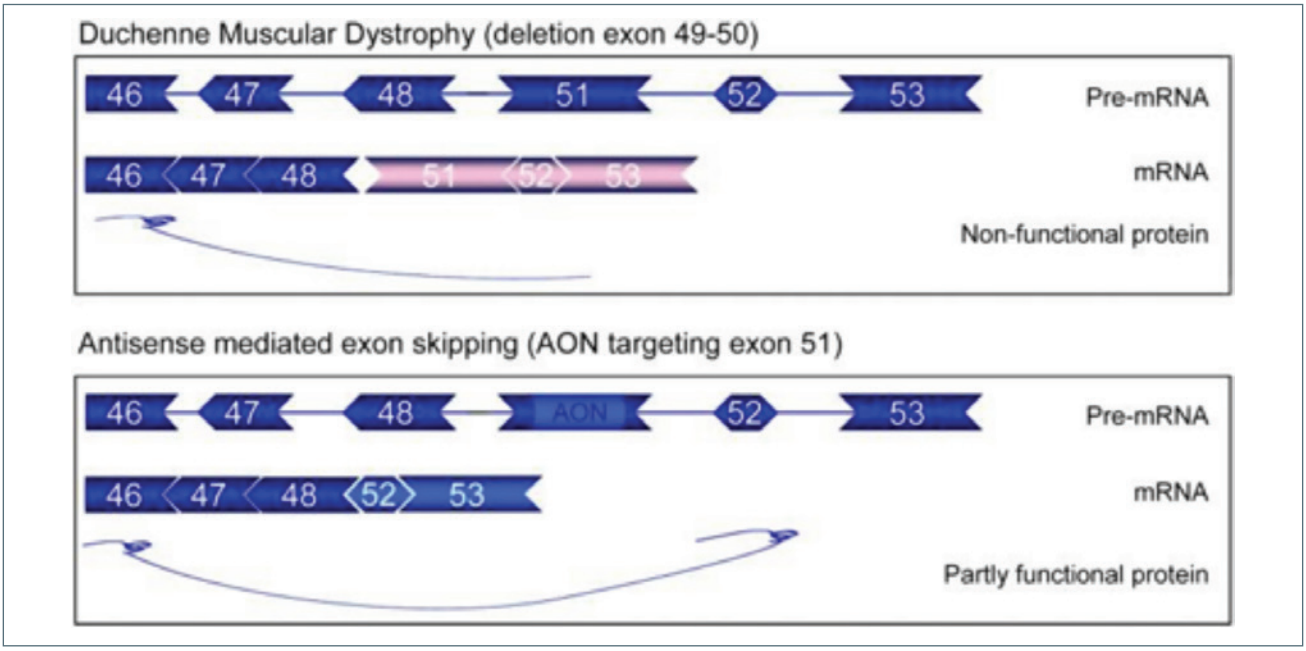


Fig. 1. Exon skipping mediato da AONs per la distrofia muscolare di Duchenne [1].

COOK, quindi funzionale, convertendo il fenotipo Duchenne in uno, clinicamente più lieve, *Becker-like*.
Teoricamente, l'*exon skipping* è un approccio terapeutico applicabile per circa l'80% delle mutazioni nel gene DMD [2]. Per le mutazioni per delezione, che rappresentano circa il 70% dei riarrangiamenti a carico del gene distrofina nei pazienti DMD, lo skipping di uno o più esoni si è dimostrato in grado di trasformare le delezioni da *out of frame* a *in frame* con produzione quindi di distrofina funzionale nella maggior parte delle cellule trattate [1].
Gli oligoribonucleotidi antisenso (AONs) utilizzati per l'induzione dell'*exon skipping* sono molecole sintetiche a RNA, costituite da 20-30 nucleotidi, complementari alle regioni target del pre-mRNA al quale si appaiano. L'appaiamento dell'AON alle regioni target crea un "impedimento sterico", mascherando i siti di riconoscimento ai fattori di *splicing* e, in questo modo, inducendo l'esclusione dell'esone bersaglio dal trascritto maturo.
Gli AONs attualmente principalmente impiegati in trials clinici sono: i **2'-O-metile-fosforotioati** (**2'OMePS**) e i **morfolino fosforodiamidati** (**PMO**), i quali differiscono per caratteristiche chimico-fisiche e biologiche e conseguente profilo di sicurezza e tollerabilità.
Il farmaco **Exondys51** (**Eteplirsen**) è stato il primo oligonucleotide antisenso (della classe PMO) ideato per la strategia dell'*exon skipping* ad aver ricevuto, negli Stati Uniti, una "approvazione accelerata" nel 2016. L'approvazione, che consente l'impiego del farmaco per i pazienti con mutazioni trattabili con lo skipping dell'esone 51, si è basata sia sul riscontro di un aumento di distrofina osservato nel muscolo scheletrico dei pazienti trattati che nel miglioramento clinico misurato dal test dei sei minuti (6MWT). Al fine di correlare l'aumento di produzione di distrofina con il beneficio clinico è in corso un trial clinico *blind* di fase III.
Una nuova classe di oligoribonucleotidi particolarmente promettente è rappresentata dagli **AONs stereopuri**. Gli antisenso stereopuri sono molecole di nuova generazione prodotte attraverso una nuova piattaforma chimica che seleziona le molecole sulla base della loro struttura tridimensionale per ottimizzarne stabilità, specificità ed efficienza. AONs stereopuri in grado di determinare lo skipping dell'esone 51 sono attualmente in fase di sperimentazione clinica.

"Read-through therapy" - Ataluren

Ataluren (**Translarna™**) è un farmaco per uso orale prodotto da PTC Therapeutics per il trattamento della distrofia muscolare di Duchenne causata da mutazioni *non senso* (che si rilevano in circa il 10% dei pazienti DMD). Le mutazioni *non senso* determinano la trasformazione di un codone codificante per un amminoacido in un codone di stop prematuro nell'mRNA, portando alla produzione di una proteina tronca e non funzionale. Ataluren, precedentemente noto come PTC124, presenta un meccanismo d'azione che consiste nel promuovere un processo di *read-through* ribosomiale: i ribosomi vengono resi meno sensibili ai codoni di stop prematuri dell'mRNA ed, in questo modo, indotti a proseguire nel processo di traduzione sino alla sintesi di una proteina completa e funzionale.

Nell'agosto del 2014 la Comunità Europea ha concesso l'approvazione condizionale alla commercializzazione di Translarna per il trattamento dei pazienti DMD con mutazione nonsenso, deambulanti e di età pari o superiore a 5 anni. L'approvazione è stata concessa sulla base dei dati di sicurezza e di efficacia derivanti da due trial randomizzati (controllati verso placebo, entrambi della durata di 48 settimane) ed ha comportato l'obbligo da parte di PTC di condurre uno studio clinico di fase 3 di conferma (Studio ACT DMD). Ad ottobre 2014, l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA) ha fornito parere favorevole all'inserimento di Translarna nell'elenco dei farmaci erogabili a carico del Servizio Sanitario Nazionale (ai sensi della Legge 648/96). Da aprile 2017 il farmaco è entrato in commercio in Italia. A settembre 2018, la Commissione Europea ha espresso, inoltre, parere favorevole sulla prescrizione di Translarna anche in pazienti di età compresa fra i 2 ed i 5 anni, considerando i risultati ottenuti da uno studio clinico ("Studio 030") che hanno mostrato un rapporto rischio-beneficio positivo anche in questa popolazione di pazienti.

Editing genomico

La tecnica di editing genomico nota come **CRISPR/Cas9** ha rappresentato una vera e propria rivoluzione nello scenario terapeutico delle malattie genetiche. Il meccanismo di azione del sistema CRISPR/Cas9 si basa su due elementi: una endonucleasi ovvero un enzima deputato al "taglio del DNA" (Cas9) ed una molecola guida di RNA, chiamata "guida" o sgRNA, che indica il punto preciso dove si vuole effettuare l'editing genomico. Pertanto tutti i sistemi di editing genomico recenti sfruttano il medesimo meccanismo: guidare un enzima che taglia la doppia elica di DNA in un sito specifico del genoma e, dunque, fornire alla cellula la sequenza donatrice per riparare il danno. Per effettuare questa operazione genetica il sistema CRISPR/Cas9 viene veicolato nell'organismo mediante gli stessi vettori virali impiegati per la terapia genica ("AAV" o virus adeno-associati). Tuttavia, mentre nella terapia genica viene veicolato un "gene terapeutico" all'interno della cellula, le tecniche di editing genomico permettono di effettuare correzioni e modifiche (come un vero e proprio "correttore di bozze") direttamente sul DNA in maniera estremamente precisa, rapida e versatile (Fig. 2) [3].
Nell'ambito della distrofia muscolare di Duchenne, l'applicazione di tale tecnica di ingegneria genetica risulta complessa dal momento che le mutazioni nel gene distrofina sono estremamente numerose: si rende, pertanto, necessario un sistema di editing particolarmente flessibile.
Il gruppo di ricerca guidato da Dongsheng Duan, presso la School of Medicine dell'Università del Missouri, ha valutato le potenzialità del sistema CRISPR/Cas9 in ambito di DMD, effettuando esperimenti sui topi *mdx* (modello murino per la DMD). Nello specifico, i ricercatori hanno somministrato CRISPR per via endovenosa in topi di 6 settimane e hanno seguito gli effetti fino all'età di 18 mesi, utilizzando un protocollo standard ovvero somministrando le molecole Cas9 e gRNA in proporzioni uguali. Dall'analisi dei primi dati ottenuti è emerso che il sistema di editing mostra una buona efficienza nel breve periodo successivo alla somministrazione ma scarsi risultati a lungo termine. I ricercatori hanno dunque provato a modificare il protocollo sperimentale, incrementando la quantità di gRNA rispetto a quella di Cas9. Questa nuova strategia ha determinato un aumento significativo del ripristino della distrofina nel muscolo scheletrico e cardiaco ed una riduzione della fibrosi muscolare nei topi a 18 mesi [4].
Tradotto in potenzialità terapeutica, l'editing genomico rappresenta una strategia particolarmente promettente: in teoria basterebbe un singolo trattamento di editing genomico per correggere definitivamente l'errore presente sul DNA, contrariamente ad altri approcci terapeutici, come l'*exon skipping*, che richiedono somministrazioni settimanali. Inoltre, il sistema risulta estremamente versatile per correggere diversi tipi di mutazione o per effettuare *multi-exon skipping*, "operazioni" per le quali le strategie classiche di *exon skipping* presentano ancora molti limiti. Ancora molti sono, tuttavia, gli ostacoli da risolvere: ottimizzare le modalità e l'efficienza di trasporto del "sistema terapeutico" verso le cellule bersaglio e ridurre i rischi di tossicità ed immunogenicità. Ulteriori limiti tecnici sono connessi al sistema CRISPR/Cas9, come, ad esempio, la possibilità da parte di Cas9 di compiere errori sistematici tagliando in altri siti del DNA e causando, in questo modo, effetti inaspettati (i cosiddetti *effetti off target*). Tale metodologia necessita, pertanto, di ulteriori perfezionamenti prima di trovare una possibile applicazione nell'uomo.

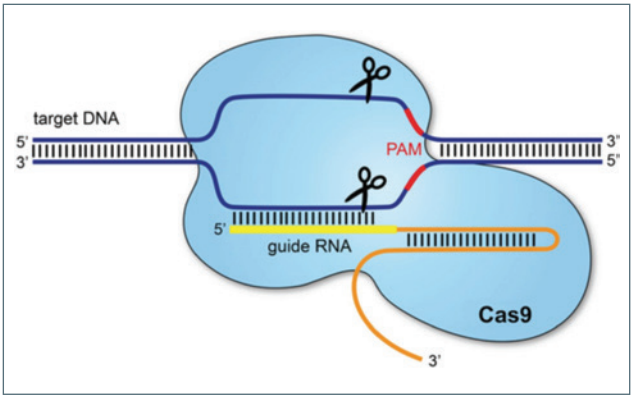


Fig. 2. Il sistema CRISPR/Cas9 [3].

Terapia genica

Una delle più promettenti strategie terapeutiche per la cura delle malattie genetiche è la terapia genica che, mediante l'uso di vettori virali, permette di veicolare nelle cellule dell'organismo la versione corretta del "gene difettoso" e di ripristinare la produzione di distrofina.
Tuttavia, le grandi dimensioni del gene distrofina, che superano la "capacità di caricamento" del vettore virale, rendono questo tipo di approccio particolarmente arduo per la terapia della DMD. Per ovviare a tale problema negli ultimi anni diversi gruppi di ricerca sono riusciti a mettere a punto una strategia di terapia genica *in vivo* basata sull'utilizzo di forme di dimensioni ridotte, ma funzionali, del gene della distrofina, le cosiddette **microdistrofine** e **minidistrofine**.
Sono tre di studi clinici di terapia genica per la DMD avviati nei pazienti a partire dal 2017-2018, ed attualmente in corso negli Stati Uniti, i quali differiscono per la tipologia di costrutto genico ed il tipo di vettore virale impiegato.
I risultati preliminari di uno di tali studi clinici hanno mostrato un aumento dell'espressione di microdistrofina nelle fibre muscolari, una riduzione della CK sierica rispetto al livello basale, un miglioramento delle performances motorie associati ad un profilo di sicurezza favorevole.

Terapia cellulare

La recente identificazione di diversi tipi di cellule staminali multipotenti ha aperto nuovi possibili scenari per la cura delle malattie genetiche.
Uno degli studi più avanzati e promettenti a livello internazionale nel campo della terapia cellulare della DMD è una ricerca italiana basata sull'impiego di **mesangioblasti**. I mesangioblasti sono cellule staminali, normalmente associate ai vasi sanguigni, in grado di rigenerare il tessuto muscolare danneggiato.
I primi risultati di tale studio sono stati ottenuti in esperimenti condotti sui topi *mdx* e successivamente sui ***Golden Retriever Muscular Dystrophy*** (**GRMD**), cani che presentano una mutazione nel gene della distrofina e che rappresentano il modello animale più vicino all'uomo. Una prima fase sperimentale prevedeva l'isolamento di mesangioblasti dai vasi sanguigni di cani sani, la crescita in coltura e la successiva iniezione intra-arteriosa in cani GRMD. Trattandosi di cellule eterologhe i cani venivano sottoposti, preventivamente, a un trattamento di immunosoppressione con ciclosporina per evitare il rigetto delle cellule del donatore. Dopo alcune iniezioni consecutive, i cani distrofici avevano mantenuto e/o migliorato le performances motorie: è stato, infatti, rilevato, dai ricercatori, che i mesangioblasti hanno la capacità di migrare fuori dall'endotelio dei vasi sanguigni, colonizzare e rigenerare il tessuto muscolare [5].
Tali risultati hanno gettato le basi per l'avvio di sperimentazioni cliniche con cellule staminali anche in bambini DMD. Una prima sperimentazione prevedeva il trapianto eterologo di mesangioblasti da donatore immunocompatibile (in genere fratello o sorella) a un paziente DMD. Ha fatto poi seguito un'ulteriore sperimentazione finalizzata a valutare la sicurezza e l'efficacia del trapianto autologo di cellule staminali (ovvero cellule prelevate dai pazienti stessi, "corrette geneticamente" in laboratorio ed iniettate per via intra-arteriosa).
Lo stesso team che ha dato avvio a tali sperimentazioni sta mettendo a punto un **cromosoma artificiale umano** costruito *ad hoc* per veicolare le sequenze codificanti e regolatorie del gene distrofina, al fine di "correggere geneticamente" cellule staminali con mutazioni nel gene della distrofina. Inoltre, il cromosoma artificiale rappresenta un *tool* estremamente versatile per la terapia genica e cellulare potendo contenere, al suo interno, unità geniche atte a regolare finemente la funzione del gene di interesse.

TERAPIE VOLTE A RIDURRE LA FRAGILITÀ MUSCOLARE

Alcune strategie sperimentali mirano a compensare il deficit di distrofina agendo sui meccanismi molecolari a valle che influenzano la resistenza e la funzionalità delle fibre muscolari.

Induzione dell'utrofina

Uno degli approcci sperimentali volti a ridurre la fragilità delle fibre muscolari è rappresentato dall'**induzione dell'utrofina**. L'utrofina è una proteina simile alla distrofina che viene prodotta durante le fasi dello sviluppo fetale per poi diminuire di concentrazione nel muscolo adulto. Durante lo sviluppo fetale, infatti, l'utrofina è parte integrante del complesso proteico adibito alla stabilità e alla funzionalità delle fibre muscolari ma va progressivamente diminuendo fino a scomparire quasi del tutto dopo la nascita per essere sostituita dalla distrofina. È stato dimostrato che aumentare la produzione di utrofina può compensare la mancanza di distrofina e determinare una riduzione della fragilità muscolare.
Pertanto l'utilizzo di specifiche molecole, che riattivino la produzione di utrofina, al fine di compensare la mancanza di distrofina, è alla base di nuove strategie terapeutiche innovative.
Una di queste ha visto l'impiego di **ezutromid**, una piccola molecola per uso orale, progettata per stimolare l'aumento dei livelli di utrofina nelle cellule muscolari dei pazienti DMD. I risultati di un trial di fase II, in aperto, non hanno, tuttavia, evidenziato un beneficio

clinico nei pazienti in trattamento con tale molecola; ciò ha comportato l'interruzione dell'ulteriore sviluppo clinico di ezutromid. La chiusura di questa linea di ricerca non equivale al fallimento della strategia: secondo i ricercatori, infatti, la modulazione dell'utrofina rappresenta un approccio terapeutico dotato di enormi potenzialità, tra cui quello di poter essere utilizzato su tutti i pazienti DMD, indipendentemente dalla mutazione genetica all'origine della condizione. La ricerca nell'ambito della modulazione della distrofina, dunque, proseguirà con ulteriori potenziali strategie terapeutiche.

Aumento della massa muscolare

Un ulteriore approccio sperimentale ha come obiettivo quello di aumentare la massa muscolare. I bersagli di questa strategia sono principalmente due: la **miostatina,** una proteina muscolare coinvolta nel meccanismo di controllo della crescita muscolare, dove agisce come "regolatore negativo", e la **follistatina** che, al contrario, promuove l'aumento della massa muscolare. Le molecole in via di sviluppo per questa strategia sono, pertanto, di due tipi: molecole che regolano positivamente l'azione della follistatina e molecole che inibiscono l'azione della miostatina.

Fra queste, **RG6206**, precedentemente nota come BMS-986089, è una molecola che ha come bersaglio la miostatina: il legame della molecola sperimentale alla miostatina inibisce la funzione di quest'ultima, favorendo un aumento della massa muscolare che potrebbe compensare la perdita progressiva di tessuto che si instaura nei pazienti DMD. È attualmente in fase di reclutamento uno studio randomizzato di fase 2/3, in doppio cieco controllato con placebo, finalizzato a valutare la sicurezza, la tollerabilità e l'efficacia di RG6206 in pazienti DMD.

Fra le molecole che regolano positivamente l'azione della follistatina vi è l'**epicatechina**, uno dei flavonoidi presenti nel cioccolato fondente, in grado di determinare un aumento dei livelli plasmatici della proteina follistatina ed una riduzione di quelli di miostatina, oltre ad avere un ruolo cruciale nella "mitocondriogenesi". È stato, infatti, dimostrato che l'effetto specifico di epicatechina sia un miglioramento della funzione cardiaca e muscolare in modelli animali. Pertanto, è stato condotto un primo studio pilota in pazienti affetti da distrofia muscolare di Becker trattati per 8 settimane con la molecola: i risultati dello studio sono stati incoraggianti tanto da portare al design di un ulteriore trial clinico indirizzato a pazienti DMD non deambulanti.

Intervento sulle vie mitocondriali

Un approccio alternativo volto alla riduzione della fragilità muscolare prevede l'impiego di molecole che intervengono sul **deficit funzionale dei mitocondri**, caratteristico delle cellule muscolari distrofiche. I mitocondri provvedono a fornire le risorse energetiche alle fibre muscolari: un deficit della loro attività contribuisce alla degenerazione delle fibre muscolari.

Appartiene a questa categoria di molecole **raxone**, denominazione farmaceutica dell'**idebenone**. Si tratta di una piccola molecola per uso orale, prodotta da Santhera Pharmaceuticals, che mira al trattamento delle disfunzioni respiratorie nei pazienti DMD, mediante la sua capacità di agire a livello dei mitocondri. Inoltre, è stato rilevato che l'Idebenone possiede marcate capacità anti-ossidanti e può, pertanto, ridurre lo stress ossidativo cellulare peculiare della DMD. Dati emersi dagli studi effettuati con tale molecola hanno evidenziato che Idebenone presenta il potenziale di ritardare le principali tappe della progressione della disfunzione respiratoria, riducendo eventi avversi broncopolmonari e ospedalizzazioni dovute a cause respiratorie. In virtù di tali dati è prevista, per il secondo trimestre di quest'anno, la sottomissione all'Agenzia Europea per i Medicinali (EMA), della richiesta per l'autorizzazione all'immissione in commercio condizionata (*Conditional Marketing Authorization,* CMA) per **Puldysa®**, nuovo nome commerciale di idebenone per l'indicazione nella DMD.

TERAPIE VOLTE A RIDURRE L'INFIAMMAZIONE

Il deficit di distrofina determina un'instabilità della membrana che conduce alla formazione di "microfessure" e di danni a livello della membrana dei miociti con ingresso di calcio all'interno della cellula. L'entrata di calcio nella cellula muscolare stimola tutta una serie di processi, come l'attivazione di enzimi quali fosfolipasi e proteasi, che conducono a necrosi della cellula.Nuovi approcci sperimentali hanno come bersagli terapeutici i vari step di questo processo patogenetico.

Riduzione dell'infiammazione

Fra le strategie volte a ridurre l'infiammazione, un approccio molto promettente è rappresentato dall'impiego di **givinostat**, un inibitore delle istone deacetilasi (HDAC), che agisce riattivando la corretta cascata di eventi cellulari e molecolari che permette al tessuto muscolare di rispondere al danno con un meccanismo rigenerativo. È un farmaco ad uso orale, sviluppato dall'azienda farmaceutica italiana Italfarmaco, che ha ottenuto la designazione di farmaco orfano sia dall'EMA in Europa che dall'FDA negli Stati Uniti. La FDA ha, inoltre, concesso la *Fast Track designation* per givinostat per la DMD.

Ulteriori farmaci, attualmente in fase di sperimentazione clinica, mirano, inoltre, a ridurre l'infiammazione proponendosi come potenziali terapie sostitutive dei corticosteroidi (attuale gold standard della terapia della DMD). Fra questi si annovera il **vamorolone**, analogo dei glucocorticoidi, e **MNK-1411,** formulazione sintetica della corticotropina, che mira a stimolare la produzione endogena di cortisolo agendo attraverso il recettore della melanocortina.

Riduzione dell'accumulo di calcio nelle cellule muscolari

A tale obiettivo ha risposto la designazione di un farmaco, **rimeporide**, inibitore selettivo dello scambiatore sodio/protoni di tipo 1, che agisce sui meccanismi che controllano la quantità di ioni sodio e calcio presenti nella cellula. Tale molecola sperimentale, infatti, inibisce l'attività di un trasportatore del sodio evitando che quantità eccessive di questo ione attivino il funzionamento di un complesso proteico che consente al calcio di entrare nella cellula.
Il primo studio clinico con rimeporide nei bambini con la distrofia muscolare di Duchenne (DMD), denominato RIM4DMD, è stato completato: è stata dimostrata una buona tollerabilità in tutti i sottogruppi di dosaggio, confermando i risultati ottenuti in precedenza in soggetti adulti.

TERAPIE VOLTE A RIDURRE LA FIBROSI

Con la progressione della patologia, la capacità rigenerativa del muscolo si riduce progressivamente ed il tessuto fibrotico si accumula, causando una grave riduzione della funzionalità muscolare. Vi è, pertanto, un grande interesse nell'identificare nuovi bersagli terapeutici per ridurre la fibrosi. Molte delle molecole ideate per combattere l'infiammazione hanno anche un importante effetto sul processo fibrotico. Vi sono, tuttavia, anche una serie di approcci terapeutici, attualmente in fase di sperimentazione clinica, mirati ad inibire specificamente la fibrosi: è il caso di molecole come **pamrevlumab** e **tamoxifen**.
Il **pamrevlumab** è una molecola sperimentale che agisce bloccando l'azione del fattore di crescita del tessuto connettivo (CTGF), proteina che stimola la deposizione di tessuto fibrotico e che determina una riduzione della capacità del muscolo danneggiato di rigenerarsi.
Per quanto riguarda il **tamoxifen**, il potenziale impiego della molecola nella Duchenne, nasce dai risultati degli studi preclinici ottenuti nel topo *mdx*: tali studi hanno mostrato che la somministrazione giornaliera di Tamoxifen risulta in una riduzione dei livelli di CPK e della fibrosi nel cuore e nel diaframma dei topi trattati rispetto a quelli di controllo.

TERAPIE CHE AGISCONO A LIVELLO CARDIACO E RESPIRATORIO

La maggior parte delle strategie terapeutiche in via di sviluppo hanno come obiettivo principale il miglioramento della funzionalità muscolare: tali terapie presentano comunque un beneficio anche sulla funzionalità cardiaca e respiratoria. D'altra parte esistono anche approcci sperimentali che mirano ad agire specificamente su cuore e respirazione. Ne sono un esempio l'**eplerenone** e lo **spironolattone**, molecole che hanno un meccanismo d'azione simile contrastando l'attività dell'aldosterone, ormone prodotto dalle ghiandole surrenali che ha un ruolo cruciale nel rimodellamento ventricolare sinistro, nell'ipertrofia e nella fibrosi osservate nei pazienti Duchenne.
È stato recentemente concluso uno studio clinico di fase 3, randomizzato ed in doppio cieco, per confrontare l'effetto di eplerenone e spironolattone nel preservare la funzionalità cardiaca e polmonare nei pazienti con DMD.
Negli ultimi anni si è osservata una crescita esponenziale delle strategie terapeutiche per la DMD/BMD con più di 30 trials clinici attualmente in corso per valutare la sicurezza e l'efficacia di tali approcci.
Lo scenario attuale suggerisce sempre più che una possibile reale terapia per tali condizioni possa derivare dall'azione sinergica di più approcci innovativi da affiancarsi alla corretta e multidisciplinare presa in carico del paziente.

I trial clinici approvati, in corso e/o conclusi sono tutti registrati e quindi visibili nel sito https://clinicaltrials.gov.

Bibliografia

1. Aartsma-Rus A, van Ommen GJ. *Progress in therapeutic antisense applications for neuromuscular disorders*. Eur J Hum Genet 2010;18:146-53.
2. Aartsma-Rus A, Fokkema I, Verschuuren J, et al. *Theoretic applicability of antisense-mediated exon skipping for Duchenne muscular dystrophy mutations.* Hum Mutat 2009;30:293-9.
3. Redman M, King A, Watson C, et al. *What is CRISPR/Cas9?* Arch Dis Child Educ Pract Ed 2016;101:213-5.
4. Hakim CH, Wasala NB, Nelson CE, et al. *AAV CRISPR editing rescues cardiac and muscle function for 18 months in dystrophic mice.* JCI Insight 2018;3(23).
5. Sampaolesi M, Blot S, D'Antona G, et al. *Mesoangioblast stem cells ameliorate muscle function in dystrophic dogs.* Nature 2006;444:574-9.

Aspetti neuropsicologici della distrofia muscolare di Duchenne

Neurocognitive phenotype in Duchenne muscular dystrophy

M. Filippini[1], S. Lenzi[2], A. Pini[1], E. Briganti[3], G. Astrea[2], M. Pane[4], R. Battini[4 5]

[1] Neuropsichiatria Infantile IRCCS, Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; [2] Dipartimento di Neuroscienze nell'Età Evolutiva, IRCCS Fondazione Stella Maris, Calambrone (PI); [3] Dipartimento di Psicologia, Università di Bologna; [4] Centro Clinico NEMO, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli, IRCCS, Roma; [5] Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università di Pisa

Riassunto

La distrofia muscolare di Duchenne (DMD) è una patologia che comporta non solo debolezza muscolare, ma anche difficoltà cognitive e alterazioni neuropsicologiche, tra cui una compromissione del linguaggio e deficit nelle funzioni esecutive, con un possibile impatto negativo sulle relazioni socio comunicative e scolastiche. Queste alterazioni possono essere dovute alla mancanza di specifiche isoforme distrofiniche nel cervello, tenendo conto del possibile coinvolgimento della rete cerebro-cerebellare. Così come i ragazzi Duchenne con disabilità intellettiva, anche quelli senza disabilità intellettiva sono una popolazione particolarmente vulnerabile perché i deficit neuropsicologici minori potrebbero non essere rilevati ma avere un forte impatto negativo sia sul rendimento scolastico che adattivo nella vita quotidiana. In un'epoca in cui l'aspettativa di vita di questi pazienti è aumentata, un rapido riconoscimento delle loro alterazioni neuropsicologiche può evitare un insuccesso educativo e sociale, attraverso uno specifico approccio terapeutico basato anche su nuovi dispositivi tecnologici come la tele-riabilitazione.

Parole chiave: Distrofia muscolare di Duchenne, Profilo neuropsicologico, Funzioni esecutive

Summary

Duchenne muscular dystrophy (DMD) is not only a disorder leading to muscle wasting, but several studies have reported cognitive difficulties and neuropsychological alterations in these patients, including a language impairment and deficits in executive functions with a possible negative impact on academic skills. These alterations may be due to the lack of specific dystrophin isoforms in the brain, taking account of the involvement of cerebro-cerebellar network. DMD children may present or not intellectual disability. Recently, a specific neuropsychological profile characterized by an impairment of multitasking, problem solving, inhibition and working memory has been also reported in a cohort of DMD children without intellectual disability at school age. DMD boys without intellectual disability may also represent, such as those with intellectual disability, a particularly vulnerable population because subtle neuropsychological deficits may have a high impact on daily living, with academic and adaptive functioning impairment. In the era in which the life expectancy of these patients has increased, a prompt recognition of neuropsychological impairments can avoid educational and social failure, through the planning of specific treatments also based on new technological devices as tele-rehabilitation.

Key words: Duchenne muscular dystrophy, Neuropsychological profile, Executive functions

INTRODUZIONE

Sin dalla prima descrizione clinica della distrofia muscolare di Duchenne (DMD), in associazione alla compromissione muscolare veniva riportata la presenza di difficoltà cognitive. Negli anni successivi la presenza di un coinvolgimento del sistema nervoso centrale, sia a livello cellulare sia dal punto di vista clinico, è stata sempre più studiata e ha portato a considerare la DMD come un disturbo del cervello e del muscolo, in opposizione alla primaria concezione di un disturbo esclusivamente muscolare [1].

Il dato di un funzionamento intellettivo inferiore alla norma di 1-1,5 deviazioni standard è stato confermato in diversi studi [2 3], con una maggiore compromissione delle competenze verbali rispetto a quelle non verbali, sia nei pazienti più grandi che nei piccoli prescolari. Il deficit cognitivo mostra un'incidenza variabile tra il 30 e il 50%, pur nell'ambito di una grande variabilità dei profili di funzionamento: alcuni soggetti affetti da DMD, infatti, possono

CORRISPONDENZA

Melissa Filippini, Neuropsichiatria Infantile IRCCS, Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna - E-mail: melissa.filippini@isnb.it

anche non presentare nessun deficit cognitivo, oppure manifestare lievi deficit specifici, fino a quadri compatibili con una disabilità intellettiva con compromissione globale. Il funzionamento cognitivo non risulta correlato con la compromissione motoria, né mostra un aggravamento con l'età. Alcuni autori hanno riscontrato un differente andamento negli anni del quoziente intellettivo verbale (QIV) e del quoziente intellettivo di performance (QIP), misurato con le scale Wechsler, pur con risultati controversi: alcuni articoli, infatti, riportano un decremento nelle performance dovuto a un peggioramento delle abilità motorie, mentre altri studi affermano che il peggioramento delle performance è indipendente dal decadimento della funzionalità motoria. Inoltre, sono presenti evidenze che il QIV migliora con l'età. L'eterogeneità dei risultati riguarda anche il profilo neuropsicologico [2 4]. Rispetto al linguaggio, ad esempio, le difficoltà possono riguardare il vocabolario espressivo, la comprensione sintattica, il processing fonologico, la fluenza verbale, le capacità narrative e, in maniera più ampia, gli aspetti inerenti il linguaggio sia recettivo che espressivo. Sono inoltre descritti possibili deficit a carico delle funzioni esecutive, quali l'inibizione, la memoria di lavoro, il controllo attentivo e della memoria [5 6].

Oltre ai deficit neuropsicologici, la DMD può presentarsi in comorbilità con altri disturbi del neurosviluppo. Infatti, è stata descritta un'incidenza fino al 50% di ADHD e fino al 33% di disturbi dello spettro autistico [1 2]. Sono state inoltre riportate problematiche emotive e comportamentali sul versante internalizzante ed esternalizzante e difficoltà in ambito sociale e relazionale, seppur con dati contrastanti [2]. Gli studi che hanno richiesto ai genitori la compilazione di questionari di descrizione del funzionamento sociale non hanno rilevato differenze significative rispetto ai coetanei [1], ma rispetto a fratelli e sorelle i soggetti con DMD possono avere maggiori difficoltà a intraprendere relazioni sociali e a rispondere ai cambiamenti ambientali.

IL PROFILO NEUROPSICOLOGICO NEI BAMBINI CON DMD IN ETÀ PRE-SCOLARE

È frequente che bambini per cui non è stata ancora fatta la diagnosi della malattia per assenza di sintomi muscolari si rivolgano ai sanitari per la presenza di ritardo del linguaggio e, allo stesso tempo, non è raro documentare anamnesticamente la presenza di un ritardo del linguaggio in pazienti affetti da DMD.

Gli studi riguardo alle abilità cognitive nei primi anni di vita o, in maniera più generica, sugli aspetti dello sviluppo neurocognitivo, sono rappresentati prevalentemente da popolazioni limitate e di età superiore ai 6 anni. Nei bambini più piccoli, soprattutto in quelli di età inferiore ai due anni, gli aspetti cognitivi, motori ed emotivi sono strettamente correlati e possono essere approfonditi grazie all'utilizzo di scale di valutazione. Inoltre, la possibile correlazione con il sito e il tipo della mutazione in questa fascia di età non viene esplorata. Il numero limitato di studi prospettici è dovuto principalmente al fatto che l'età al momento della diagnosi è ancora, in media, superiore ai 4 anni, nonostante i primi segni di preoccupazione risalgano spesso al secondo anno di età, quando i bambini DMD mostrano alcuni segni di ritardo nello sviluppo e sono incapaci di sviluppare nuove abilità motorie (correre velocemente, saltare) [7].

In un recente studio prospettico multicentrico che ha coinvolto 5 centri di terzo livello delle patologie neuromuscolari in Italia (Università Cattolica e Ospedale Bambino Gesù di Roma, Istituto Mondino di Pavia, Istituto Neurologico Besta e Fondazione Bosisio Parini di Milano) e 2 nel Regno Unito (*Dubowitz Neuromuscular Centre* di Londra e *Wales University Hospital* di Cardiff), è stata analizzata una coorte di giovani pazienti affetti da DMD mediante una valutazione strutturata dello sviluppo cognitivo (*Griffiths Scale of Mental Development*), al fine di esplorare le abilità nelle varie aree dello sviluppo neuro cognitivo e un'eventuale correlazione con il tipo e il sito delle mutazioni (come osservato in ragazzi Duchenne più grandi) [3]. Sono stati inclusi bambini di età fino ai 4 anni con diagnosi di DMD basata sulla indagine genetica o sul riscontro di assenza di distrofina alla biopsia muscolare. L'analisi genetica per la ricerca di delezioni e duplicazioni, è stata condotta utilizzando la tecnica MLPA. Nei pazienti in cui non erano state individuate delezioni o duplicazioni, i 79 esoni e gli introni adiacenti sono stati analizzati tramite PCR e sequenziamento diretto. Lo sviluppo neurocognitivo è stato valutato attraverso le *Griffiths Mental Development Scales* (GMDS) poiché i soggetti valutati avevano tutti età inferiore ai 4 anni ed è un test appositamente strutturato per valutare le competenze cognitive, le abilità grossomotorie, la motricità fine e gli aspetti emotivi in questo specifico range di età. Inoltre questa scala è già stata adoperata in precedenti studi sulla DMD [8]. Tutti i bambini avevano raggiunto la deambulazione autonoma a un'età compresa tra 10 e 36 mesi (media 16,7; SD 4,5). Di 81 pazienti inclusi nello studio, quarantacinque (55%) avevano un QS nella norma, ventisei (32%) un QS borderline e 10 (12,3%) un QS inferiore a 70, ossia due deviazioni standard al di sotto della norma, con una media dei QS totale di 87 (SD 15,3). Alle subscale A e C (locomotoria e comprensione e produzione verbale) corrispondeva il più basso tasso di QS nel range di normalità. Gli item che esplorano la capacità di correre veloce, saltare, alzarsi da terra senza mani non erano soddisfatti da nessun bambino e soltanto uno era in grado di stare su una gamba sola per più di 6 secondi.

Tra i gruppi suddivisi in base dell'età di valutazione (da 12 a 24 mesi, da 25 a 36, e da 37 a 48 mesi) non si è riscontrata alcuna differenza né per quanto concerne il QS totale, né rispetto al QS nelle singole subscale, con l'eccezione della scala locomotoria e della scala personale e sociale. Questi risultati sono in linea con i dati riportati in letteratura sui bambini più grandi: anche per questi, infatti, è presente il rischio che il QI si attesti su valori inferiori di una DS rispetto alla media della popolazione generale.

Per ciò che riguarda una possibile relazione tra le difficoltà dello sviluppo neurocognitivo e il sito di mutazione genetica, dallo studio è emersa una differenza significativa tra i gruppi di pazienti distinti in base al sito della mutazione. È stata rilevata una percentuale maggiore di bambini con QS normale nei sottogruppi con mutazione a monte dell'esone 44 e un progressivo decremento negli altri sottogruppi. Questo dato si è riscontrato non solo per il QS totale, ma anche per il QS relativo alle singole subscale (personale e sociale, coordinazione oculo-manuale, performance e linguaggio). Rispetto alle altre, la scala locomotoria ha presentato un profilo differente, in quanto se da un lato i gruppi con mutazione oltre l'esone 44 presentano i punteggi più bassi, in questo caso il QS della scala motoria è risultata inferiore alla norma in tutti i gruppi, incluso quello con mutazioni a monte dell'esone 44. Questo è probabilmente dovuto al fatto che, indipendentemente dall'età e dal sito della mutazione, nessun bambino, con l'eccezione di uno soltanto, era in grado di compiere alcuni item, come la capacità di correre velocemente, di saltare, alzarsi dal pavimento senza mani e mantenersi su una gamba sola per più di 6 secondi.

Questi risultati suggeriscono i possibili meccanismi alla base delle varie sfaccettature del ritardo dello sviluppo neurocognitivo. Le difficoltà nella motricità fine, nelle competenze visuo-percettive, nel linguaggio, e presumibilmente in alcuni aspetti della scala locomotoria, più frequenti nei pazienti con mutazioni a valle dell'esone 44, suggeriscono in maniera incisiva il ruolo delle isoforme della distrofina cerebrale nella maturazione della coordinazione motoria e della manualità. In relazione a queste funzioni, il fatto che alcuni item venivano falliti dai pazienti più piccoli ma superati dai bambini di età maggiore suggerisce la presenza di un ritardo piuttosto che di un danno progressivo. Al contrario, alcune delle abilità motorie della scala A, come la corsa veloce o l'alzarsi da terra senza mani, non sono stati superati da nessuno dei nei nostri pazienti, a eccezione di uno, indipendentemente dal tipo di mutazione o delle isoforme colpite. Queste attività sono chiaramente correlate ai primi segni di debolezza muscolare e non migliorano con l'età.

Lo studio conferma che una alta percentuale di pazienti DMD presenta segni precoci di difficoltà a carico dello sviluppo psicomotorio, sollevando il problema della diagnosi e dell'intervento abilitativo precoce. È stato recentemente riportato che l'applicazione di *Standard of Care* ottimali viene ritardata di circa 2,5 anni, tempo che corrisponde all'intervallo che intercorre dalla prima visita medica all'inizio del trattamento [7]. Anche se nessuno studio è stato finora eseguito sui giovani pazienti DMD, diversi lavori, condotti per altri disordini associati a un modello simile di ritardo dello sviluppo, hanno riportato l'efficacia di un intervento precoce nell'accelerare il raggiungimento di tappe e di competenze più mature [9]. Effettuare quanto prima una valutazione dettagliata permetterebbe di individuare il profilo delle difficoltà di ogni bambino e di fornire suggerimenti per l'intervento più appropriato e tempestivo. Dimostrare, attraverso uno studio sistematico, l'efficacia di un intervento precoce, giocherebbe un ruolo determinante a sostegno dello screening neonatale, che è ancora un argomento controverso in molti paesi. Vi è inoltre la necessità di grandi studi longitudinali sulla storia naturale dei bambini piccoli con DMD.

IL PROFILO NEUROPSICOLOGICO NEI BAMBINI CON DMD IN ETÀ SCOLARE

Per quanto riguarda l'età scolare, è noto che i deficit neuropsicologici selettivi descritti nei bambini con DMD possono aumentare il rischio di compromissione degli apprendimenti scolastici, con il riscontro di prevalenti problematiche in compiti di lettura [2]. Tali difficoltà di apprendimento sembrano essere indipendenti dal profilo comportamentale [1] e sono state associate a difficoltà a carico del processamento fonologico, pur con risultati contrastanti: in uno studio prospettico con il potenziale evocato cognitivo Mismatch Negativity di misurazione delle capacità di discriminazione fonologica, infatti, i pazienti con DMD non mostravano differenze significative rispetto ai soggetti di controllo, mentre differivano per il funzionamento della memoria verbale a breve termine [4]. Astrea et al. [10] hanno effettuato uno studio attraverso il confronto dei risultati ottenuti alla somministrazione di prove di apprendimento e di test neuropsicologici da un campione di 13 bambini DMD in età scolare (range di età: 7 anni e 7 mesi-11 anni e 2 mesi) rispetto a quelli ottenuti da un gruppo di bambini con sviluppo tipico e da un altro di bambini affetti da DE. Sono emerse cadute significative in compiti di lettura e scrittura in quasi il 42% dei soggetti DMD, in presenza di un profilo che, seppure meno severo, è risultato qualitativamente simile a quello dei bambini dislessici [10]. Anche i bambini DMD, infatti, hanno mostrato difficoltà nella lettura e nella scrittura di parole e una significativa riduzione della

velocità di denominazione rapida automatizzata (RAN), che è considerata uno dei principali indicatori clinici delle difficoltà di lettura nei soggetti dislessici. Inoltre, i soggetti DMD hanno mostrato, come il sottogruppo di bambini dislessici che presentavano una storia di ritardo del linguaggio, difficoltà in compiti di processamento fonologico.

Un altro studio del gruppo neuromuscolare dell'IRCCS Stella Maris, volto a indagare le competenze linguistiche di un campione di 22 soggetti con distrofinopatia, di età compresa tra i 6,6 e i 22 anni, di cui 11 DMD, ha mostrato punteggi globalmente inferiori nei soggetti DMD rispetto ai soggetti con distrofia muscolare di Becker (DMB) nelle prove somministrate, ovvero nella batteria per la valutazione del linguaggio nei bambini dai 4 ai 12 anni (BVL_4-12) nel Test di Abilità Pragmatiche nel Linguaggio Medea (APL Medea). In particolare, è stata confermata una compromissione delle abilità linguistiche generali [11], sia in comprensione che in produzione e ripetizione, con una prevalente caduta nelle performance legate alla memoria di lavoro fonologica verbale. È emerso inoltre un interessamento delle competenze narrative, con sinteticità dei racconti, presenza di numerose aposiopesis e di errori di coesione e di coerenza, come pure delle abilità pragmatiche, specialmente per quanto riguarda le prove che implicano abilità narrative e comunicazione referenziale. Tali difficoltà sono risultate imputabili non solo alla compromissione della memoria di lavoro tipica di questi soggetti, ma anche a fattori ambientali e sociali come un assetto esperienziale globalmente ridotto, secondario alla patologia di base.

Possibili debolezze sul piano neuropsicologico e, in particolare, eventuali alterazioni del funzionamento esecutivo, possono rimanere misconosciute in soggetti DMD privi di disabilità intellettiva, in quanto una buona tenuta cognitiva può mascherare le debolezze neuropsicologiche sottostanti che, tuttavia, se non opportunamente indagate e riconosciute, possono inficiare le prestazioni scolastiche e l'adattamento più globale di questi soggetti.

In quest'ottica, un recente lavoro multicentrico condotto in quattro Centri facenti parte nel Network italiano per le malattie neuromuscolari (IRCCS Fondazione Stella Maris, Policlinico Gemelli, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Istituto Besta) come studio pilota, ha evidenziato un'altra similitudine nel funzionamento neuropsicologico tra i soggetti DMD e quelli con DE attraverso lo studio di 31 bambini DMD senza disabilità intellettiva in età scolare (range di età: 6 anni-11 anni e 6 mesi) [12]. Come già precedentemente descritto in soggetti dislessici, anche dal confronto dei risultati ottenuti nei bambini DMD con quelli di un gruppo di controllo alla somministrazione di una versione modificata del *Serial Reaction Time Task* (SRTT) [13], è emerso infatti un deficit di apprendimento implicito delle sequenze temporali, sia a presentazione casuale che a presentazione sequenziale ripetuta, nel gruppo dei bambini DMD rispetto ai controlli di pari età. L'apprendimento implicito, che gioca un ruolo nello sviluppo di competenze cognitive e linguistiche, quali il processamento fonologico e gli apprendimenti scolastici, contribuendo all'automatizzazione dei processi di lettura e scrittura, se compromesso può inficiare il funzionamento scolastico.

In questi stessi Centri è stato effettuato anche uno studio su un campione di 40 soggetti DMD in età scolare (range di età: 6 anni-11 anni e 6 mesi) [12]. L'aver applicato precisi criteri di selezione del campione che escludessero i soggetti con disabilità intellettiva e con disturbi psichiatrici in comorbidità ha permesso oltremodo di delineare le caratteristiche neuropsicologiche tipiche della patologia, scevre da potenziali fattori di influenza esercitati dal deficit cognitivo o dalla comorbidità psichiatrica. Il campione analizzato è stato studiato mediante la somministrazione della scala WISC-IV e di un'ampia batteria di test neuropsicologici. La valutazione con scala WISC-IV ha permesso di selezionare il campione, escludendo i soggetti con QI < 70, e ha evidenziato punteggi più spesso inferiori alla media nei subtest "Memoria di cifre" e "Lettere e numeri", con punteggi medi deficitari nel relativo Indice Memoria di Lavoro (IML). La successiva somministrazione di un protocollo neuropsicologico specifico e dedicato ha reso inoltre possibile l'approfondimento del funzionamento esecutivo di questi soggetti. Il test Torre di Londra (TOL) valuta le capacità del soggetto di mettere in atto processi di decisione strategica e di pianificazione, che sono apparse compromesse nel campione analizzato. Difficoltà di pianificazione sono emerse anche dalla somministrazione del test *Modified Card Sorting Test* (MCST), che prevede una valutazione specifica della capacità di rappresentare e classificare elementi organizzati in categoria e conseguentemente di passare da uno schema operativo all'altro. La prova di inibizione selezionata dalla Batteria NEPSY II valuta la capacità di inibire risposte automatiche in favore di nuove; il campione analizzato ha mostrato punteggi totali ridotti relativamente al compito di Switching, evidenziando quindi difficoltà nella flessibilità cognitiva e nell'inibizione. I risultati dello studio suggeriscono la presenza di un profilo neuropsicologico nei soggetti DMD caratterizzato da un chiaro deficit in specifici aspetti del funzionamento esecutivo, come la memoria di lavoro e l'inibizione, associati a difficoltà in compiti che richiedono la pianificazione e la capacità di orientare il comportamento verso un obiettivo [6].

Una migliore definizione degli aspetti neuropsicologici nella DMD assume significativa rilevanza clinica e

abilitativa, anche mediante l'applicazione di nuovi strumenti, quali ad esempio programmi di teleriabilitazione. Tali interventi permettono, in un contesto non medicalizzato ma domestico, seppure monitorato in maniera continua dal clinico, di esercitare gli apprendimenti scolastici e processi cognitivi quali la memoria e l'attenzione e hanno già mostrato risultati promettenti in alcuni disordini del neurosviluppo, quali la DE [14].

IPOTESI ESPLICATIVE DEI DISTURBI NEUROPSICOLOGICI NEI PAZIENTI CON DMD

Le ricerche indicano che i bimbi con DMD hanno difficoltà nei test che richiedono abilità attentive e ripetizione di materiale verbale [2]: per esempio, sono stati riportati deficit nei test di memoria di prosa, ripetizione di frasi e memoria di cifre. Inoltre, i punteggi ai subtest di Digit Span delle scale d'intelligenza Wechsler risultano generalmente deficitari. Alla luce di questi risultati i deficit neuropsicologici dei bambini con DMD sono stati interpretati come un problema a carico della memoria a breve termine verbale o in altre parole una problematica di "span verbale limitato", perché le difficoltà si manifestavano in test che richiedevano la ritenzione a breve termine di informazioni verbali. I bambini con DMD, infatti, hanno costantemente prestazioni peggiori rispetto ai controlli sani nei subtest specificamente collegati alla memoria verbale a breve termine, tra cui Memoria di Cifre, *Token Test for Children* (memoria a breve termine per stimoli uditivi) e Comprensione (memoria per informazioni verbali complesse). Tali deficit peraltro non possono semplicemente essere attribuiti al ritardo del linguaggio, in quanto altre aree del linguaggio e mnestiche sono intatti. Una ridotta abilità nel mantenere informazioni fonologiche nei magazzini della memoria a breve termine e della memoria di lavoro può avere effetti a cascata sul funzionamento intellettivo (in particolare a livello del dominio verbale) e sul rendimento scolastico. Nel loro lavoro del 2004, Hinton et al. [15] ipotizzarono inoltre che le problematiche di immagazzinamento delle informazioni verbali durante la presentazione di istruzioni in classe potesse avere un impatto negativo su tutti gli apprendimenti scolastici: tale proposta ha trovato sostegno nella loro scoperta che la performance alla Memoria di Cifre prediceva significativamente i punteggi in tutte e tre le misure di rendimento scolastico (lettura, scrittura e matematica), mentre non correlava con la disabilità motoria, né col livello di problemi comportamentali valutato dai genitori.

L'ipotesi di un profilo neuropsicologico specifico della DMD caratterizzato da un limitato span verbale non è sostenuta universalmente. Mento et al. [5], infatti, hanno argomentato che l'ipotesi del limitato span verbale sia insufficiente per spiegare la varietà di deficit a carico delle funzioni esecutive riportati in letteratura. Mento et al., infatti, hanno suggerito che gli individui con DMD possano presentare un deficit più ampio a carico delle funzioni cognitive di alto livello, tra cui le funzioni esecutive. Il deficit disesecutivo nei soggetti con DMD potrebbe essere coerente con l'assenza di distrofina nelle regioni cerebrali implicate nei processi di alto livello e nelle funzioni esecutive, come la corteccia cerebrale, in particolare nelle regioni prefrontali.

L'eterogeneità del profilo neuropsicologico risulta complessivamente interpretabile sulla base dell'ipotesi che l'assenza di distrofina durante lo sviluppo cerebrale disturbi in maniera specifica l'efficienza delle vie cerebro-cerebellari, con conseguenti deficit neuro comportamentali [15], in quanto le funzioni risultate compromesse sono normalmente supportate dal cervelletto e da complessi circuiti che collegano il cervelletto stesso ad altre strutture corticali e sottocorticali, in particolare la corteccia prefrontale, il talamo, il nucleo pontino e dentato. Come è noto da tempo, il cervelletto non svolge esclusivamente un compito di controllo motorio, ma diversi studi in letteratura hanno evidenziato un coinvolgimento dei circuiti cerebro-cerebellari, comprendenti aree corticali e strutture sottocorticali come i gangli della base, in compiti linguistici e visuo-spaziali e nel funzionamento esecutivo [16]. Specifiche isoforme della distrofina (in particolare la Dp140 e la Dp71) sono normalmente rappresentate a livello cerebrale, in particolare nella corteccia cerebrale, nell'ippocampo e, soprattutto, nelle cellule di Purkinje del cervelletto e un loro deficit è stato associato ad alterazioni sia strutturali che funzionali e metaboliche sia nel cervello dei topi mdx, modelli murini della DMD, sia in studi di neuroimaging condotti sull'uomo [17 18]. Nel loro studio Cyrulnik e Hinton [19] mostrano tra l'altro che i deficit cognitivi presentati dai soggetti con DMD ricalcano il tipo e la qualità di deficit cognitivi che presentano anche i pazienti con lesioni cerebellari. Inoltre affermano che il cervelletto serve a coordinare la cognizione nello stesso modo in cui coordina i movimenti e l'apprendimento implicito; il cervelletto contribuisce inoltre all'automatizzazione e all'ottimizzazione delle performance in determinati domini cognitivi. Dunque, una lesione cerebellare può facilmente esitare in performance sub-ottimali, e questo decremento può passare inosservato, se non studiato attentamente.

Dunque, alla luce di questi dati strutturali e funzionali e dei disturbi neuropsicologici più facilmente riscontrati nella DMD (tra cui limitato span verbale, difficoltà nel processamento fonologico e nella lettura), Cyrulnik e Hinton [19] hanno formulato l'ipotesi che la DMD sia un disturbo "cerebellare". L'ipotesi del deficit dei circuiti cerebro-cerebellari ben si accorda anche con l'opinione

ampiamente condivisa che sviluppo motorio e cognitivo siano strettamente interconnessi. Per ciò che riguarda le difficoltà di acquisizione della letto-scrittura. Il cervelletto gioca un ruolo fondamentale nel controllo motorio e, di conseguenza, anche nell'articolazione del linguaggio: s'ipotizza dunque che un ritardo o un deficit articolatorio porti a una difficoltà nella rappresentazione fonologica. Secondariamente, il cervelletto esplica una funzione fondamentale nell'automatizzazione dei compiti iper-appresi (come guidare, leggere, scrivere ecc.): una debole capacità nell'automatizzare potrebbe quindi rendere difficoltoso l'apprendimento della corrispondenza grafema-fonema. A sostegno di tale ipotesi emergono inoltre delle evidenze relativamente alla cattiva performance dei dislessici in un alto numero di compiti motori, in doppi compiti che coinvolgono il mantenimento dell'equilibrio posturale e in compiti di stima temporale, ritenuto un compito di tipo non motorio. Vicari et al. [11] hanno rilevato tramite la somministrazione del *Serial Reaction Time* (SRT) un deficit significativo dell'apprendimento implicito in un campione di soggetti con DMD senza disabilità intellettivo, argomentando che tale deficit può essere interpretato come l'espressione di una disfunzione delle regioni laterali del cervelletto e delle loro connessioni.

RELAZIONE GENOTIPO-FENOTIPO

Si pensa che l'assenza di distrofina alla base dell'instabilità della membrana muscolare possa avere un ruolo anche nello sviluppo del sistema nervoso centrale, come ipotizzato da diversi studi sulle isoforme cerebrali della distrofina Dp71-Dp140 [20]. La distrofina, infatti, è presente in regioni deputate a funzioni cognitive e neuropsicologiche quali la corteccia cerebrale, l'ippocampo e il cervelletto. Le mutazioni che sono spesso associate al coinvolgimento cognitivo sono preferenzialmente collocate nella parte più distale del gene, includendo la porzione che va dall'esone 45 al 54. Molti autori suggeriscono una stretta associazione tra la delezione dell'esone 52 e QI basso.
Nella prospettiva di individuare una possibile correlazione genotipo-fenotipo, recentemente maggiore attenzione è stata volta alle diverse isoforme di distrofina cerebrale e alla loro specifica localizzazione nel SNC. Difatti, oltre la forma completa di distrofina cerebrale esistono altre isoforme tronche a livello COOH terminale. L'espressione trascrizionale del gene della distrofina è molto complessa, in quanto al suo interno sono presenti sette promoters che codificano per isoforme diverse di distrofina. Di questi promoters, tre codificano per la forma completa di distrofina, indipendenti tra di loro:

1. M promoter codifica per l'isoforma, che si esprime nel tessuto muscolare liscio e striato, cellule endoteliali vascolari e glia del SNC;
2. B promoter codifica per l'isoforma, che si esprime nella corteccia e nell'ippocampo (regione CA 1-3), nei neuroni piramidali;
3. P promoter codifica per l'isoforma, che si esprime nella corteccia cerebrale fetale e nelle cellule cerebellari del Purkinje mature.

Vi sono inoltre i promoter che codificano per le forme tronche di distrofina:

- Dp260 promoter che codifica per una isoforma che è localizzata nelle sinapsi tra fotorecettori e cellule bipolari della retina;
- Dp140 promoter che codifica per una isoforma che si trova nei processi astrogliari attraverso il neuropilo durante lo sviluppo, nella superficie leptomeningea e attorno i vasi sanguigni penetranti, nel nervo olfattivo e nella neuroipofisi;
- Dp116 promoter che codifica per una isoforma che si trova nel cervello umano fetale e nel diencefalo postnatale (caudato/putamen);
- Dp71 promoter che codifica per l'isoforma maggiormente espressa a livello del SNC e che ha un ruolo sia nel periodo di sviluppo (distribuendosi nelle cellule staminali primitive embrioniche, nelle aree d'interazione mesenchima-epitelio, nella porzione mediana e posteriore del cervello embrionale, nel cervello perinatale allo stadio di differenziazione finale e preferenzialmente nella porzione anteriore del cervello embrionale) che nel cervello maturo, distribuendosi in particolare a livello della corteccia cerebrale, neuroni granulari del giro dentato dell'ippocampo, bulbo olfattivo, ghiandola pituitaria, retina, nelle regioni neocorticali associate con la plasticità sinaptica; a livello subcellulare i trascritti sono presenti in associazione con le vescicole sinaptiche e mitocondri. L'isoforma Dp71 è anche nota come apo-distrofina-1.

Tali osservazioni suggeriscono che:

- la distrofina cerebrale è implicata in diverse funzioni di sviluppo e maturazione cellulare;
- nello stadio maturo le funzioni della distrofina sono limitate a popolazioni cellulari ristrette e distribuite anatomicamente in specifiche aree;
- queste particolari sottopopolazioni possono mediare specifiche funzioni cognitive e fare parte integrante di specifici circuiti nervosi che sono alterati in alcuni bambini affetti DMD;
- la distrofina può essere coinvolta nella migrazione e maturazione neuronale, nella sinaptogenesi e nelle dinamiche sinaptiche;
- la distrofina può dirigere l'organizzazione dinamica di microdomini neuronali regolandone l'orientamento,

la disposizione spaziale e la cooperazione con molte proteine cellulari;

- esistono dati in letteratura che dimostrano come molti pazienti affetti da DMD, come documentato dall'elettroretinogramma, mancano della seconda onda lenta dell'onda B scotopica. I primi studi focalizzati sulla correlazione fenotipo/isoforma affetta hanno evidenziato che i pazienti che presentavano delle mutazioni puntiformi nella parte distale del gene con un mancato trascritto della Dp 71 presentavano un ritardo mentale marcato con un QIV < 50 e mancata acquisizione degli apprendimenti. In altri studi più recenti, difficoltà relative al funzionamento cognitivo sono state riscontrate in circa un terzo delle persone affette dalla patologia di Duchenne DMD, con una maggiore incidenza nei pazienti [2 3] con mutazioni a valle dell'esone 44, con un mancato trascritto della Dp 140, l'isoforma corta della distrofina, espressa nel cervello, e in quelli con mutazioni prossime all'estremità 3' terminale del gene (dopo l'esone 63), interessanti l'isoforma più corta, la Dp 71, anch'essa espressa nel tessuto cerebrale.

CONCLUSIONI E POSSIBILI RICADUTE PRATICHE

La migliore comprensione del ruolo della distrofina a livello cerebrale non ha un valore puramente descrittivo, se consideriamo l'impatto che le funzioni neuropsicologiche e neurocomportamentali descritte possono avere sul funzionamento globale dei bambini con DMD. L'indagine e la conoscenza delle comorbilità neurocomportamentali associata alla DMD è giustificata e fondata dato il loro impatto sulla qualità di vita. Fin dall'età pre-scolare, pur in associazione con un funzionamento intellettivo nella norma, le difficoltà neuropsicologiche possono interferire con i processi di relazione sociale e di acquisizione di abilità, riducendo il livello di autostima. Le difficoltà linguistiche in epoche precoci, ad esempio, possono avere ricadute sullo sviluppo delle abilità comunicative e relazionali e interferire successivamente con le acquisizioni scolastiche. Il peggioramento delle abilità motorie in età scolare, in associazione con ricadute sulle acquisizioni degli apprendimenti, può ulteriormente compromettere lo sviluppo di un'immagine di sé positiva, con effetti sul tono dell'umore. Inoltre, è noto che le funzioni esecutive permettono all'individuo di attivare strategie adeguate di fronte a situazioni nuove, svolgendo un importante ruolo nell'apprendimento di nuovi compiti e nell'auto-regolazione comportamentale ed emotiva, influenzando le capacità adattive nei contesti di vita. Le comorbilità possono pregiudicare la comprensione e la compliance rispetto alle terapie farmacologiche, ad esempio steroidee. Gli effetti collaterali in termini di umore e comportamento, infatti, rappresentano la ragione più frequente di sospensione della terapia farmacologica steroidea [21].

Tali considerazioni e l'eterogeneità del funzionamento neuropsicologico e comportamentale nei bambini con DMD rendono raccomandabile una precoce ed esaustiva valutazione in questi bambini subito dopo la diagnosi clinico-molecolare, in quanto una precoce individuazione di eventuali difficoltà garantisce una tempestiva possibilità di attuare un trattamento neuropsicologico mirato e individualizzato, e può prevenire l'insorgere di problematiche derivanti da scarsa integrazione in ambito scolastico-sociale del bambino. L'importanza di una diagnosi e di valutazioni nei primi anni di vita è sempre più indispensabile alla luce delle nuove prospettive in ambito terapeutico. Diversi approcci terapeutici si stanno dimpostrando promettenti nel determinare miglioramenti della malattia ed è opinione comune che tali miglioramenti possano essere maggiori tanto più precocemente la terapia venga iniziata [22].

Bibliografia

1 Hendriksen JG, Vles JS. *Neuropsychiatric disorders in males with duchenne muscular dystrophy: frequency rate of attention-deficit hyperactivity disorder (ADHD), autism spectrum disorder, and obsessive - compulsive disorder.* J Child Neurol 2008;23:477-81.

2 Snow WM, Anderson JE, Jakobson LS. *Neuropsychological and neurobehavioral functioning in Duchenne muscular dystrophy: a review.* Neurosci Biobehav Rev 2013;37:743-52.

3 Pane M, Scalise R, Berardinelli A, et al. *Early neurodevelopmental assessment in Duchenne muscular dystrophy*. Neuromuscul Disord 2013;23:451-5.

4 Filippini M, Guerra A, Negosanti A, et al. *Mismatch negativity recording in children with Duchenne muscular dystrophy: a preliminary study integrating neurophysiological and neuropsychological results.* J Child Neurol 2016;31:1468-74.

5 Mento G, Tarantino V, Bisiacchi PS. *The neuropsychological profile of infantile Duchenne muscular dystrophy.* Clin Neuropsychol 2011;25:1359-77.

6 Battini R, Chieffo D, Bulgheroni S, et al. *Cognitive profile in Duchenne muscular dystrophy boys without intellectual disability: the role of executive functions*. Neuromuscul Disord 2018;28:122-8.

7 Ciafaloni E, Fox DJ, Pandya S, et al. *Delayed diagnosis in Duchenne muscular dystrophy: data from the Muscular Dystrophy Surveillance, Tracking, and Research Network (MD STARnet).* J Pediatr 2009;155:380-5.

8 Smith RA, Sibert JR, Harper PS, et al. *Early development of boys with Duchenne muscular dystrophy*. Dev Med Child Neurol 1990;32:519-27.

9 Spittle AJ, Orton J, Anderson PJ, et al. *Early developmental intervention programs post hospital discharge to prevent*

motor and cognitive impairments in preterm infants. Cochrane Database Syst Rev 2007:CD005495.

10 Astrea G, Pecini C, Gasperini F, et al. *Reading impairment in Duchenne muscular dystrophy: a pilot study to investigate similarities and differences with developmental dyslexia*. Res Dev Disabil 2015;45-46:168-77.

11 Lenzi S, Cravero A, Moretti E, et al. *Language abilities and oral muscle strenght in DMD and BMD boys*. Acta Myol 2018;37:74 (*Proceedings of the XVIII Congress of The Italian Society of Myology*, Genova, 6-9 giugno 2018).

12 Vicari S, Piccini G, Mercuri E, et al. *Implicit learning deficit in children with Duchenne muscular dystrophy: evidence for a cerebellar cognitive impairment?* PLoS One 2018;13:e0191164.

13 Nissen MJ, Bullemer P. *Attentional requirements of learning: evidence from performance measures.* Cog Psychol 1987;19:1-32.

14 Pecini C, Spoglianti S, Michetti S, et al. *Telerehabilitation in developmental dyslexia: methods of implementation and expected results*. Minerva Pediatr 2018;70:529-38.

15 Hinton VJ, De Vivo DC, Fee R, et al. *Investigation of poor academic achievement in children with Duchenne muscular dystrophy*. Learn Disabil Res Pract 2004;19:146-54.

16 Riva D, Giorgi C. *The contribution of the cerebellum to mental and social functions in developmental age.* Fiziol Cheloveka 2000;26:27-31.

17 Lee JS, Pfund Z, Juhasz C, et al. *Altered regional brain glucose metabolism in Duchenne muscular dystrophy: a pet study.* Muscle Nerve 2002;26:506-12.

18 Doorenweerd N, Straathof CS, Dumas EM, et al. *Reduced cerebral gray matter and altered white matter in boys with Duchenne muscular dystrophy.* Ann Neurol 2014;76:403-11.

19 Cyrulnik SE, Hinton VJ. *Duchenne muscular dystrophy: a cerebellar disorder?* Neurosci Biobehav Rev 2008;32:486-96.

20 Muntoni F, Torelli S, Ferlini A. *Dystrophin and mutations: one gene, several proteins, multiple phenotypes*. Lancet Neurol 2003;2:731-40.

21 Poysky J; the Behavior in DMD Study Group. *Behavior patterns in Duchenne muscular dystrophy: report on the Parent Project Muscular Dystrophy behavior workshop 8-9 of December 2006 Philadelphia USA.* Neuromuscul Disord 2007;17:986-94.

22 Muntoni F. *The development of antisense oligonucleotide therapies for Duchenne muscular dystrophy: report on a TREAT-NMD workshop hosted by the European Medicines Agency (EMA), on September 25th 2009*. Neuromuscul Disord 2009;20:355-62.

L'atrofia muscolare spinale

Spinal muscular atrophy

M.C. Pera, M. Pane, E. Mercuri

Neuropsichiatria Infantile e Centro Clinico Nemo, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Roma

Riassunto

Negli ultimi anni ci sono stati significativi progressi nella ricerca e nella presa in carico delle malattie neuromuscolari pediatriche. Un più attento monitoraggio, una migliore prevenzione delle complicanze e l'introduzione di strategie riabilitative hanno fortemente modificato la storia naturale di una delle malattie più frequenti in ambito pediatrico: l'atrofia muscolare spinale (SMA).

Questi aspetti sono stati codificati in delle vere e proprie raccomandazioni che, nell'ultimo decennio sono diventate disponibili sia su pubblicazioni scientifiche che come opuscoli per le famiglie e per gli operatori. Queste raccomandazioni sono state recentemente aggiornate includendo nuovi aspetti pratici, relativi al setting di cura a casa del paziente ed alla preparazione per eventuali urgenze in ambito territoriale. In parallelo a questi aspetti di "care" si è assistito a una vera e propria esplosione di approcci terapeutici mirati a trovare una terapia risolutiva ("cure"). Questi approcci, fino a pochi anni fa limitati a studi preclinici, hanno raggiunto la fase clinica di sperimentazione ed in alcuni casi hanno già portato alla commercializzazione del farmaco.

Parole chiave: SMA, Storia naturale, Trattamento

Summary

In recent years there has been significant progress in the research and management of pediatric neuromuscular diseases. Accurate clinical follow-up, better prevention of complications and the introduction of rehabilitative strategies have greatly changed the natural history of one of the most frequent pediatric diseases: spinal muscular atrophy (SMA).

These aspects have been codified in real recommendations that, over the last decade, have become available both in scientific publications and as brochures for families and operators. These recommendations have recently been updated including new practical aspects, related to the patient's home care setting and preparation for possible territorial emergencies. In parallel to these aspects of "care" there has been a veritable explosion of therapeutic approaches aimed at finding a definitive therapy ("cure"). These approaches, until a few years ago were limited to preclinical studies, have reached the clinical trial phase and in some cases have already led to the commercialization of the drug.

Key words: SMA, Natural history, Treatment

DEFINIZIONE

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una malattia genetica neuromuscolare caratterizzata dalla degenerazione degli α-motoneuroni delle corna anteriori del midollo spinale con conseguente progressiva debolezza muscolare dei muscoli prossimali degli arti e del tronco.

La malattia fu descritta per la prima volta nel 1890 da Werdnig [1] e da Hoffmann [2]. Il difetto genetico responsabile della patologia è stato identificato sul cromosoma 5 (5q13) nel 1995 [3] con l'individuazione di mutazioni nel gene SMN (*survival motor neuron*).

EPIDEMIOLOGIA

Questa condizione costituisce la prima causa genetica di morte infantile; la sua incidenza è di 1/6.000-1/10.000 e la frequenza dei portatori è di circa 1/36-1/50.

PRESENTAZIONE CLINICA E CLASSIFICAZIONE

Sono state identificate tre forme infantili (SMA I-III) e una forma dell'adulto (SMA IV) in base all'età di esordio dei sintomi e alla massima acquisizione motoria (Tab. I); operare questa distinzione agevola la gestione del paziente e la valutazione della prognosi.

CORRISPONDENZA

Eugenio Maria Mercuri, Neuropsichiatria Infantile e Centro Clinico Nemo, Fondazione Policlinico Universitario Agostino Gemelli IRCCS, Roma - E-mail: eugeniomaria.mercuri@policlinicogemelli.it

Tab. I.

Tipo di SMA	Età esordio	Massima attività motoria
0	Neonatale	Nessuna acquisizione
1	0-6 m	Non acquisisce stazione seduta autonoma
2	< 18 m	Non acquisisce deambulazione autonoma
3	> 18 m	Deambulazione autonoma
3a	18 m - 3 anni	Deambulazione autonoma
3b	> 3 anni	Deambulazione autonoma
4	> 21	Deambulazione autonoma

Dubowitz, partendo dall'esempio di alcuni pazienti con SMA di tipo I sopravvissuti fino alla tarda infanzia o all'adolescenza, ha sottolineato l'eccessiva rigidità della classica suddivisione in gruppi, che non consente di mettere in luce la notevole variabilità esistente in ogni classe, importante da un punto di vista prognostico e terapeutico [4].
Egli propone come valida soluzione una classificazione decimale che suddivida le tre forme della SMA in sottoclassi, avendo come punti di riferimento i fenotipi estremi e quello di media gravità per ogni classe, e che si propone di descrivere in maniera meno rigida l'ampia gamma di fenotipi esistenti [5].

SMA tipo I

La SMA di tipo I, o malattia di Werdnig-Hoffman, è la forma più grave di atrofia muscolare spinale. È caratterizzata dall'esordio della malattia prima dei 6 mesi e da una aspettativa di vita ridotta rispetto alla popolazione generale. I pazienti con SMA di tipo I presentano una profonda ipotonia, una paralisi flaccida simmetrica (*floppy infant*) e la mancata acquisizione delle normali tappe di sviluppo quali il controllo del capo o il mantenimento della posizione seduta. Già dai primi mesi di vita mostrano un pianto flebile, difficoltà nella suzione e un respiro addominale, dovuto alla debolezza dei muscoli intercostali. I casi in assoluto più gravi di atrofia muscolare spinale si manifestano già in epoca prenatale con riduzione dei movimenti fetali: alla nascita questi bambini si mostrano estremamente deboli, con ipotonia, artrogriposi nel 50% dei casi e con gravi difficoltà respiratorie che richiedono la ventilazione meccanica; in alcuni studi è stata proposta la denominazione di questa forma precoce come SMA 0.
All'interno della forma I si possono distinguere almeno 3 sottogruppi clinici in base alla gravità e al momento di esordio dei segni clinici: a) grave debolezza dal momento della nascita, il controllo della testa non è mai raggiunto; b) insorgenza della debolezza dopo il periodo neonatale, ma generalmente entro i 2 mesi, il controllo della testa non viene mai raggiunto; c) insorgenza della debolezza dopo il periodo neonatale ma acquisizione del controllo della testa. Alcuni di questi bambini possono essere in grado di raggiungere la posizione seduta con supporto.
Clinicamente, tutti i bambini con SMA di tipo I mostrano una combinazione di ipotonia grave e debolezza, con risparmio dei muscoli facciali, invariabilmente associato a un tipico pattern respiratorio. La debolezza è solitamente simmetrica e più prossimale rispetto alla distale, con arti inferiori generalmente più deboli degli arti superiori. I riflessi tendinei profondi sono assenti o diminuiti, ma la sensibilità è preservata.
Il diaframma risparmiato associato a un indebolimento dei muscoli intercostali provoca una respirazione addominale (respiro paradosso) e una progressiva deformità del torace che viene detto "a campana". Il coinvolgimento dei motoneuroni bulbari spesso provoca fascicolazioni della lingua, scarsa aspirazione e deglutizione con difficoltà di alimentazione nel tempo. La polmonite ab ingestis è una causa importante di morbilità e mortalità [6-8].

SMA tipo II

La SMA di tipo II presenta un fenotipo intermedio ed è caratterizzata dall'esordio della malattia tra i 6 e i 18 mesi di età. I pazienti sono in grado di mantenere autonomamente la posizione seduta; alcuni sono anche capaci di mantenere la posizione eretta con sostegno, ma non acquisiscono mai la deambulazione autonoma. Le complicanze più frequenti sono una scoliosi ingravescente e lo sviluppo di retrazioni tendinee multilevel. La deglutizione può raramente presentarsi difficile mentre la debolezza dei muscoli masticatori è più frequente e influisce sulla capacità di masticare. Esiste uno spettro di gravità che va da bambini deboli che sono in grado di stare seduti senza supporto ma sono più inclini a sviluppare sintomi respiratori e scoliosi precoci a bambini relativamente meno compromessi che hanno muscoli del tronco, degli arti e respiratori molto più forti. I pazienti più deboli possono sviluppare insufficienza respiratoria che richiede la ventilazione meccanica non invasiva (NIV) [9 10].

SMA tipo III

La SMA di tipo III, o malattia di Kugelberg-Welander, è la forma più lieve e mostra una grande eterogeneità clinica. Insorge a età variabile, generalmente dopo i 18 mesi; i pazienti raggiungono tutte le normali tappe di sviluppo motorio, compresa la deambulazione. Alcuni perdono questa capacità durante l'adolescenza mentre altri la mantengono indefinitamente, mostrando solo una leggera debolezza muscolare. I pazienti che perdono la deambulazione spesso sviluppano scoliosi e altri problemi medici legati alla scarsa mobilità quali l'obesità e l'osteoporosi. Per quanto riguarda i dati di storia naturale, sono stati suggeriti 2 sottogruppi di

gravità in relazione alla comparsa della debolezza prima (SMA III a) e dopo i 3 anni di età (SMA III b) [9 10].

SMA tipo IV

La SMA di tipo IV ha un'età di insorgenza piuttosto variabile, con una media di 35 anni [11]. Generalmente si è soliti classificare come SMA IV i pazienti in cui la malattia è insorta dopo i 18 anni. La SMA IV è una condizione alquanto rara, con una prevalenza di 1/100.000. I pazienti manifestano una leggera disabilità motoria in assenza di problemi respiratori e nutrizionali.

GESTIONE

Un approccio multidisciplinare è l'elemento chiave nella gestione dei pazienti SMA. La patologia infatti è un disturbo complesso che coinvolge diversi aspetti di cura e vari professionisti, e ciascuno degli aspetti non dovrebbe essere trattato in isolamento ma come parte di un approccio multidisciplinare.
In passato le famiglie dovevano coordinare tutte le valutazioni e le visite, ora invece si raccomanda che tale lavoro venga coordinato da uno dei medici, generalmente neurologo o neuropsichiatra infantile, che è a conoscenza del decorso della malattia e dei potenziali problemi. Questo approccio permette di monitorare i vari aspetti della progressione della malattia e, quando possibile, di fornire cure preventive. La sopravvivenza e la qualità di vita dei pazienti SMA possono essere migliorate grazie a una terapia di supporto multidisciplinare; nel 2018 un gruppo di esperti ha stabilito una serie di linee guida per il trattamento dei pazienti SMA [12 13].

Terapia riabilitativa

Un approccio proattivo, con regolari sessioni di fisioterapia è stato dimostrato influenzare le traiettorie di progressione della patologia. In un recente studio su pazienti deambulanti e non deambulanti, i cambiamenti funzionali nell'arco di 12 mesi sono stati minimi nell'intera coorte e i pochi valori anomali hanno mostrato una perdita di funzionalità più sostanziale in pazienti con un aumento delle retrazioni articolari, un improvviso deterioramento della scoliosi o un aumento di peso eccessivo [14]. Nelle ultime linee guida l'approccio riabilitativo viene personalizzato in base alla massima capacità motoria del soggetto e vengono quindi identificati tre gruppi: pazienti che non hanno acquisito il controllo del tronco, pazienti in grado di stare seduti da soli e pazienti deambulanti. Nel primo gruppo l'intervento riabilitativo deve interessare soprattutto il posizionamento del paziente e quindi adeguati sistemi posturali che tengano conto del possibile sviluppo di deformità scoliotiche e toraciche. Inoltre, viene raccomandato lo stretching e la mobilizzazione passiva. Nel secondo gruppo di pazienti si pone maggiore attenzione sullo stretching per contrastare l'instaurarsi di retrazioni tendinee *multilevel* e sull'uso di corsetti per la progressiva scoliosi. Nel gruppo dei pazienti deambulanti oltre allo stretching intensivo e al controllo posturale viene posto l'accento sull'importanza del movimento attivo tramite tutte le attività motorie accettate dal paziente.

Aspetti ortopedici

Il primo aspetto da tenere in considerazione è la gestione della scoliosi. Nelle ultime linee guida si suddividono i pazienti in base all'angolo di Cobb valutato mediante Rx della colonna. Nei pazienti in cui tale angolo è tra i 15 e i 20 gradi viene consigliato un monitoraggio semestrale/annuale. Nei pazienti tra i 20 e i 50 gradi oltre a un più stretto monitoraggio viene prescritto l'uso regolare del corsetto. Infine ai pazienti con un angolo di Cobb oltre i 50 gradi viene valutata la possibilità di correzione chirurgica. Quest'ultima varia a seconda dell'età del paziente: nei pazienti che non hanno ancora finito lo sviluppo puberale si consiglia l'impianto di barre allungabili/magnetiche, mentre nei restanti è possibile eseguire un'artrodesi definitiva.

Aspetti nutrizionali

Per quanto riguarda la nutrizione le linee guida dividono nuovamente i pazienti in tre categorie: pazienti che non hanno acquisito il controllo del tronco, pazienti in grado di stare seduti da soli e pazienti deambulanti. Il primo gruppo è maggiormente interessato a problematiche masticatorie e deglutitorie per tale motivo è necessario eseguire subito dopo la diagnosi una videofluoroscopia. Se da questo esame risulta un'alterazione dei meccanismi della deglutizione e conseguentemente un quadro di disfagia associato a una mancata crescita ponderale deve essere presa in considerazione un'alimentazione tramite sondino naso-gastrico e successivamente il posizionamento di una gastrostomia endoscopica percutanea (PEG). Anche nel secondo gruppo di pazienti può rendersi necessario uno studio della deglutizione se sono presenti sintomi di aspirazione e/o disfagia. In questi pazienti inoltre è necessario controllare regolarmente la densità minerale ossea tramite esame DEXA integrando, se necessario, l'apporto calcico tramite farmaci. Nel gruppo dei pazienti deambulanti le indicazioni suddette devono essere prese in considerazioni nei singoli soggetti anche se la percentuale dei casi di disfagia risulta molto inferiore. Al contrario una problematica spesso presente in questi pazienti è il sovrappeso poiché il movimento attivo, e quindi il consumo calorico, resta comunque minimo.

Aspetti respiratori

Le ultime linee guida internazionali suddividono anche in questo caso i pazienti in soggetti non in grado di stare seduti, soggetti in grado di stare seduti e soggetti deambulanti. Il primo gruppo è quello che presenta più frequentemente problematiche respiratorie. Per tale motivo è necessario associare a un accurato esame obbiettivo uno studio della ventilazione notturna (ossimetria e polisonnografia notturne). In base agli episodi di ipossiemia registrati si deciderà di introdurre l'utilizzo della ventilazione non invasiva (NIV). Anche nel gruppo dei pazienti con controllo del tronco può essere necessario uno studio della ventilazione notturna e un conseguente supporto respiratorio. Nella maggior parte dei casi tuttavia un esame spirometrico semestrale può essere sufficiente nel monitoraggio di questi pazienti ai quali si suggerisce una fisioterapia respiratoria regolare. Nel terzo gruppo di pazienti si evidenziano raramente segni di ipoventilazione notturna. Nei pazienti dei tre gruppi è presente una debolezza muscolare che non permette di ottenere una tosse efficace per tale motivo viene utilizzata la macchina della tosse: in alcuni pazienti questo ausilio diventa salva vita in altri un buon esercizio di ginnastica respiratoria. Sempre alla totalità dei pazienti si consiglia di eseguire tutte le vaccinazioni secondo calendario vaccinale e il vaccino antiinfluenzale annuale.

TERAPIE

In seguito alla scoperta del gene responsabile e del meccanismo patogenetico, negli ultimi anni ci sono stati diversi tentativi di intervenire a diversi livelli, dalla sostituzione del gene affetto fino ad approcci mirati a intervenire a livello più periferico, ovvero a livello del muscolo o della giunzione neuromuscolare.

Gli approcci a livello molecolare sono orientati a tentare di correggere il deficit della proteina SMN. Gli studi più completi riguardano approcci che hanno come target lo *splicing* dell'esone 7 del gene *SMN2*. Tutti i pazienti affetti da SMA hanno mutazioni nel gene *SMN1* ma hanno almeno una copia (ma spesso 2 o un numero ancora maggiore) di *SMN2*. *SMN2* origina da una duplicazione di una porzione del crosomoma 5q, che differisce dal gene *SMN1* per un singolo nucleotide nell'esone 7, con conseguente riduzione della produzione di proteina SMN stabile. Un miglioramento dello splicing dell'esone 7 del gene *SMN2* porta a una maggiore produzione di proteina SMN stabile e maggiormente funzionale. Tre composti mirati a migliorare lo splicing sono attualmente in fase di sperimentazione clinica, e uno di essi ha già completato il percorso regolatorio ed è disponibile commercialmente. Due di questi composti sono molecole piccole, somministrabili per via orale, attraversano la barriera emato-encefalica e hanno una alta specificità nel regolare l'inclusione dell'esone 7 del gene *SMN2* e migliorare lo splicing. Uno di questi composti, risdiplam [15 16], dopo ottimi risultati preclinici nel modello animale, è attualmente in fase di sperimentazione con diversi studi di fase tre, randomizzati con placebo, sia in bambini con SMA1, la forma a esordio precoce, più grave con sopravvivenza ridotta, che in bambini più grandi con le forme meno gravi di SMA (NCT02908685; NCT02913482; NCT03032172). L'altra molecola, branaplam [17], è al momento studiata in uno studio *open label* di fase 1 (NCT02268552). Entrambi i composti stanno dimostrando risultati promettenti, come riportato recentemente in congressi internazionali.

L'evidenza più completa è quella riguardante il terzo composto, nusinersen, un oligonucleotide antisenso disegnato per aumentare l'inclusione dell'esone 7 del gene *SMN2*. Questa molecola non attraversa la barriera ematoencefalica e viene somministrato per via intratecale. Dopo aver completato studi di fase 1 e fase 2 [18], il farmaco è stato utilizzato in due studi di fase 3, randomizzati doppio cieco: ENDEAR, in bambini con SMA1 sotto i 7 mesi di età [19]; CHERISH, con la forma a comparsa più tardiva [20]. Entrambi gli studi sono stati interrotti i seguito a una analisi *ad interim* che dimostrava il raggiungimento degli obiettivi degli studi.

Dall'analisi ad interim dei risultati dello studio sui bambini SMA di tipo I e successivamente SMA di tipo II la *Food and Drug Administration* (FDA) tramite un processo detto "fast track" ha approvato il farmaco in studio con il nome di Spinraza. In questo modo nel dicembre 2016 Spinraza è diventato ufficialmente il primo trattamento disponibile per persone affette da atrofia muscolare spinale. Tramite un processo altrettanto veloce l'*European Medicines Agency* (EMA) ha approvato il trattamento con Spinraza nel giugno 2017. Per quel che riguarda il nostro paese nel settembre 2017, l'Agenzia Italiana del Farmaco (AIFA), ha autorizzato la commercializzazione di Spinraza come medicinale per tutti i pazienti affetti da SMA.

Nello studio CHERISH si osservava un miglioramento nel 57% dei bambini trattati contro il 26% osservato nel gruppo di controllo. Nello studio ENDEAR 51% dei bambini raggiungeva delle nuove tappe sviluppo a differenza del gruppo non trattato che, in accordo con gli studi di storia naturale non mostrava mai alcun miglioramento; ancora più importante, nello studio ENDEAR c'era una riduzione del 47% del rischio di morte o di passaggio a un regime di ventilazione ≥ 16 ore/giorno per più di 21 giorni. I bambini trattai più precocemente, con una durata inferiore della durata di malattia (13,1 settimane) avevano risultati migliori, sia in termini di sopravvivenza che di acquisizioni di tappe funzionali, rispetto a quelli trattai più tardivamente. L'importanza di

trattare il più precocemente possibile viene confermata e ulteriormente sottolineata dai risultati preliminari di uno studio di fase 2, open label, Nurture, che ha studiato l'effetto di questa molecola in 25 bambini presintomatici, identificati o attraverso screening neonatali o per pregressi casi nella stessa famiglia. A una recente analisi ad interim, in cui la mediana dell'età era attorno ai 26 mesi (range 14-34) i risultati mostravano non solo che tutti i bambini sopravvivevano senza necessitare di un aumento di ventilazione, ma anche che tutti raggiungevano le tappe dello sviluppo in epoche fisiologiche.
Un approccio diverso, mirato a rimpiazzare il gene *SMN1*, viene dalla terapia genica che permette il trasporto del gene *SMN1* ai motoneuroni tramite un vettore virale. Le dimensioni del gene *SMN1* sono compatibili con l'uso di un vettore virale adeno-associato (AAV9) che, in seguito a somministrazione intravenosa sistemica, può raggiungere e attraversare la barriera ematoencefalica. Questo studio è importante perché per la prima volta sono state somministrate dosi elevate di AAV9 senza effetti collaterali, tranne un modico aumento di transaminasi transitorio e regredibile con trattamento con prednisolone. I dati della prima sperimentazione clinica con terapia genica per l'Atrofia Muscolare Spinale (SMA) sono stati pubblicati nel numero di novembre 2017 del *New England Journal of Medicine* (NEJM) [21]. L'articolo illustra i risultati dettagliati dello studio di Fase 1 del prodotto AVXS-101 in 15 neonati (età < 6 mesi) con SMA tipo I. I dati pubblicati dimostrano che tutti i pazienti che hanno ricevuto una dose di AVXS-101 sono viventi (con età di almeno 20 mesi o maggiore) e senza eventi (decesso o ventilazione permanente). Il disegno sperimentale ha visto il reclutamento di 15 neonati con SMA1 che hanno ricevuto AVXS-101. Lo studio è stato in aperto senza placebo. Tre dei pazienti hanno ricevuto una dose ridotta (6,7 x 1013 genomi virali (vg) per chilogrammo di peso corporeo) e 12 hanno ricevuto un'elevata dose (2,0 x 1014 vg per chilogrammo). L'obbiettivo primario dello studio era la valutazione di sicurezza. Il risultato secondario stabilito era il tempo fino alla morte o la necessità di un'assistenza permanente ventilatoria. Nelle ulteriori analisi condotte sono stati valutati i punteggi sulla scala della funzione motoria (da 0 a 64, con punteggi più alti che indicavano una migliore funzione) alla scala CHOP INTEND (*Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders*) nei 2 gruppi di trattamento e l'acquisizione delle tappe motorie nella coorte che ha ricevuto la dose più alta confrontando i punteggi con quelli ottenuti in studi sulla storia naturale della malattia (coorti storiche). I risultati raccolti fino al 7 agosto 2017 indicano che tutti e 15 i pazienti erano vivi e privi di eventi a 20 mesi di età, rispetto a un tasso di sopravvivenza di solo l'8% in una coorte storica. Nella coorte ad alto dosaggio, è stato osservato un aumento rapido dalla linea di base nel punteggio sulla scala CHOP INTEND a seguito dell'introduzione del gene sano, con un aumento di 9,8 punti a 1 mese e 15,4 punti a 3 mesi, rispetto a una diminuzione di questo punteggio in una coorte storica. Dei 12 pazienti che avevano ricevuto la dose più alta, 11 erano in grado di stare seduti senza aiuto, 9 erano in grado di rotolare su sé stessi, 11 in grado di nutrirsi per bocca e di parlare, e 2 erano in grado di camminare in modo indipendente. Livelli elevati di transaminasi (enzimi epatici) sono stati osservati in 4 pazienti e sono stati attenuati dalla somministrazione di prednisolone. Questa terapia è stata recentemente approvata negli Stati Uniti ed è in corso di discussione in Europa.
Due studi open-label multicentrici di fase 3 sono attualmente in corso, utilizzando la stessa molecola, AVXS-101, negli Stati Uniti [NCT03306277] e in Europa (NCT03461289).
La possibilità di accedere a questi trattamenti sta cambiando radicalmente l'attitudine delle famiglie e ha aumentato sensibilmente la loro compliance agli standard di cura soprattutto nel caso dei bambini SMA1, con un aumento della scelta di un intervento più attivo con ventilazione non invasiva e gastrostomie rispetto a un atteggiamento più orientato verso le cure palliative.
La disponibilità commerciale del farmaco o come parte di un iniziale *Expanded open access* in tutti i pazienti con SMA di tipo 1, compresi quindi pazienti con età o segni clinici non compresi negli studi registrativi, ha anche permesso di evidenziare l'efficacia del farmaco in un setting più ampio.
I primi risultati ottenuti in diversi paesi europei mostrano in maniera consistente l'evidenza di efficacia anche in bambini di età superiore ai 7 mesi, e ben oltre i due anni di età [22]. I miglioramenti clinici sono chiaramente di un'entità minore ma sono presenti in oltre metà dei casi, suggerendo che contrariamente a quanto ritenuto sulla base di studi elettrofisiologici che mostravano una perdita pressoché totale delle attività e del numero di motoneuroni nei primi mesi di vita nei bambini SMA1 [23] esiste una possibile finestra temporale allargata che permette il recupero di alcuni motoneuroni.

Bibliografia

1 Werdnig G. *Zwei frühinfantile hereditäre fälle von progressive muskelatrophie unter dem bilde der dystrophie, aber auf neurotischer grundlage*. [*Two early infantile hereditary cases of progressive muscular atrophy simulating dystrophy, but on a neural basis;* in German]. Arch Psychiatr Nervenkr 1891;22:437-80.

2 Hoffmann J. *Uber chronische spinale Muskelatrophie im Kindesalter, auf familiärer basis*. [*On chronic spinal*

muscular atrophy in childhood, with a familial basis; in German]. Dtsch Z Nervenheilkd 1893;3:427-70.

3 Brzustowicz LM, Lehner T, Castilla LH, et al. *Genetic mapping of chronic childhood-onset spinal muscular atrophy to chromosome 5q11.2-13.3*. Nature 1990;344:540-41.

4 Dubowitz V. *Recent advances in neuromuscular disorders in childhood*. Acta Paediatr Jpn 1991;33:198-205.

5 Dubowitz V. *Chaos in the classification of SMA: a possible resolution*. Neuromuscul Disord 1995;5:3-5.

6 Finkel RS, McDermott MP, Kaufmann P, et al. *Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials*. Neurology 2014;83:810-7.

7 Mercuri E, Bertini E, Iannaccone ST. *Childhood spinal muscular atrophy: controversies and challenges*. Lancet Neurol 2012;11:443-52.

8 Oskoui M, Levy G, Garland CJ, et al. *The changing natural history of spinal muscular atrophy type 1*. Neurology 2007;69:1931-6.

9 Zerres K, Rudnik-Schoneborn S, Forrest E, et al. *A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients*. J Neurol Sci 1997;146:67-72.

10 Kaufmann P, McDermott MP, Darras BT, et al.; Muscle Study Group; Pediatric Neuromuscular Clinical Research Network for Spinal Muscular Atrophy. *Observational study of spinal muscular atrophy type 2 and 3: functional outcomes over 1 year*. Arch Neurol 2011;68:779-86.

11 Pearn JH, Hudgson P, Walton JN. *A clinical and genetic study of spinal muscular atrophy of adult onset*. Brain 1997;101:591-606.

12 Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, et al. *Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care*. Neuromusc Disord 2018;28:103-15.

13 Finkel RS, Mercuri E, Meyer OH, et al. *Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: part 2: pulmonary and acute care; medications, supplements and immunizations; other organ systems; and ethics*. Neuromusc Disord 2018;28:197-207.

14 Mercuri E, Finkel R, Montes J, et al. *Patterns of disease progression in type 2 and 3 SMA: implications for clinical trials*. Neuromuscul Disord 2016;26:126-31.

15 Ratni H, Ebeling M, Baird J, et al. *Discovery of risdiplam, a Selective Survival of Motor Neuron-2 (SMN2) gene splicing modifier for the treatment of Spinal Muscular Atrophy (SMA)*. J Med Chem 2018;61:6501-17.

16 Sturm S, Gunther A, Jaber B, et al. *A Phase 1 healthy male volunteer single escalating dose study of the pharmacokinetics and pharmacodynamics of risdiplam (RG7916, RO7034067), a SMN2 splicing modifier*. Br J Clin Pharmacol 2019;85:181-93.

17 Palacino J, Swalley SE, Song C, et al. *SMN2 splice modulators enhance U1-pre-mRNA association and rescue SMA mice*. Nat Chem Biol 2015;11:511-7.

18 Chiriboga CA, Swoboda KJ, Darras BT, et al. *Results from a phase 1 study of nusinersen (ISIS-SMN(Rx)) in children with spinal muscular atrophy*. Neurology. 2016;86(10):890-7.

19 Finkel RS, Mercuri E, Darras BT, et al. *Nusinersen versus sham control in infantile-onset spinal muscular atrophy.* N Engl J Med 2017;377:1723-32.

20 Mercuri E, Darras BT, Chiriboga CA, et al. *Nusinersen versus sham control in later-onset spinal muscular atrophy*. N Engl J Med 2018;378:625-35.

21 Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, et al. *Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy.* N Engl J Med 2017;377:1713-22.

22 Pane M, Palermo C, Messina S, et al. *Nusinersen in type 1 SMA infants, children and young adults: preliminary results on motor function*. Neuromuscul Disord NMD 2018;28:582-5.

23 Swoboda KJ, Prior TW, Scott CB, et al. *Natural history of denervation in SMA: relation to age, SMN2 copy number, and function*. Annals Neurol 2005;57:704-12.

Atrofia muscolare spinale: aspetti genetici e patogenetici

Spinal muscular atrophy: genetic and pathogenetic aspects

E. Abiusi, A. Vaisfeld, F.D.Tiziano

Istituto di Medicina Genomica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma

Riassunto

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una delle patologie rare più comuni, dovuta probabilmente alla costituzione genomica del locus *SMN1/SMN2*. Il gene responsabile di tutte le forme di SMA è *SMN1*, che è assente in circa il 97% dei pazienti. Le piccole mutazioni sono piuttosto rare e si trovano in circa il 2-3% dei casi. Il principale modulatore della gravità fenotipica è il numero di copie di un gene ipomorfo di *SMN1*, denominato *SMN2*, che produce livelli insufficienti di proteina SMN. Probabilmente a causa di eventi ancestrali di duplicazione, il numero di copie *SMN2* è variabile nei pazienti (comunemente da 1 a 4) ed è inversamente correlato alla gravità fenotipica. Tuttavia, il numero di copie *SMN2* da solo non giustifica l'intero spettro fenotipico della SMA. Gli altri geni modificatori identificati finora non sono di utilità clinica. I meccanismi molecolari correlati al difetto *SMN1* e che portano alla SMA, sono in gran parte sconosciuti. Tuttavia, il primo trattamento efficace è stato registrato un paio d'anni fa e alcuni altri sono in arrivo. La disponibilità di una terapia, l'omogeneità del difetto genetico, la consapevolezza della storia naturale della condizione sono tra i criteri che hanno reso la SMA un candidato ideale per l'inclusione nei programmi di screening neonatale. Alcuni studi pilota volti a valutare l'estensione universale del test pre-sintomatico per SMA sono in corso in tutto il mondo.

Parole chiave: SMA, Genetica molecolare, Screening neonatale

Summary

Spinal muscular atrophy (SMA) is one of the most common rare disorders, likely due to the genomic constitution of the SMN1/SMN2 locus. The gene responsible for all forms of SMA is SMN1, which is absent in about 97% of patients. Small mutations are quite rare and are found in about 2-3% of patients. The main modulator of the phenotypic severity is the number of a hypomorphic copy gene of SMN1, SMN2, which produces insufficient levels of the SMN protein. Likely due to ancestral duplication events, SMN2 copy number is variable in patients (commonly 1-4) and is inversely related with the phenotypic severity. However, SMN2 copy number alone does not account for the whole phenotypic spectrum of SMA. The other modifier genes identified so far are not of clinical utility.

The molecular mechanisms related to the SMN1 defect and leading to SMA, are largely unknown. Nonetheless, the first effective treatment has been registered couple of years ago and some others are in the pipeline. The availability of a therapy, the homogeneity of the genetic defect, the awareness of the natural history of the condition are among the criteria that have made SMA an ideal candidate for the inclusion in newborn screening programs. Some pilot studies aimed at evaluating the universal extension of the pre-symptomatic test for SMA are underway worldwide.

Key words: SMA, Molecular genetic, Newborn screening

L'incidenza relativamente elevata della SMA, una delle più comuni tra le malattie rare, è verosimilmente dovuta alla struttura del locus genomico in cui mappa il gene responsabile. Indipendentemente dalla gravità clinica, tutte le SMA sono dovute a difetti del gene *SMN1*, localizzato in 5q13 [1]. Il 97% circa dei pazienti presenta l'assenza omozigote del gene, per meccanismi di delezione o conversione genica (v. oltre). Le piccole varianti sono rare, circa il 2-3% dei pazienti che sono usualmente eterozigoti composti per la delezione di un allele e piccole mutazioni dell'altro (Fig. 1A, B).

IL LOCUS SMA E I GENI *SMN1/SMN2*

Il locus SMA ha una costituzione abbastanza peculiare, sebbene non unica nel genoma umano, per via

CORRISPONDENZA

Francesco Danilo Tiziano, Istituto di Medicina Genomica, Università Cattolica del Sacro Cuore, Roma - E-mail: FrancescoDanilo.Tiziano@unicatt.it

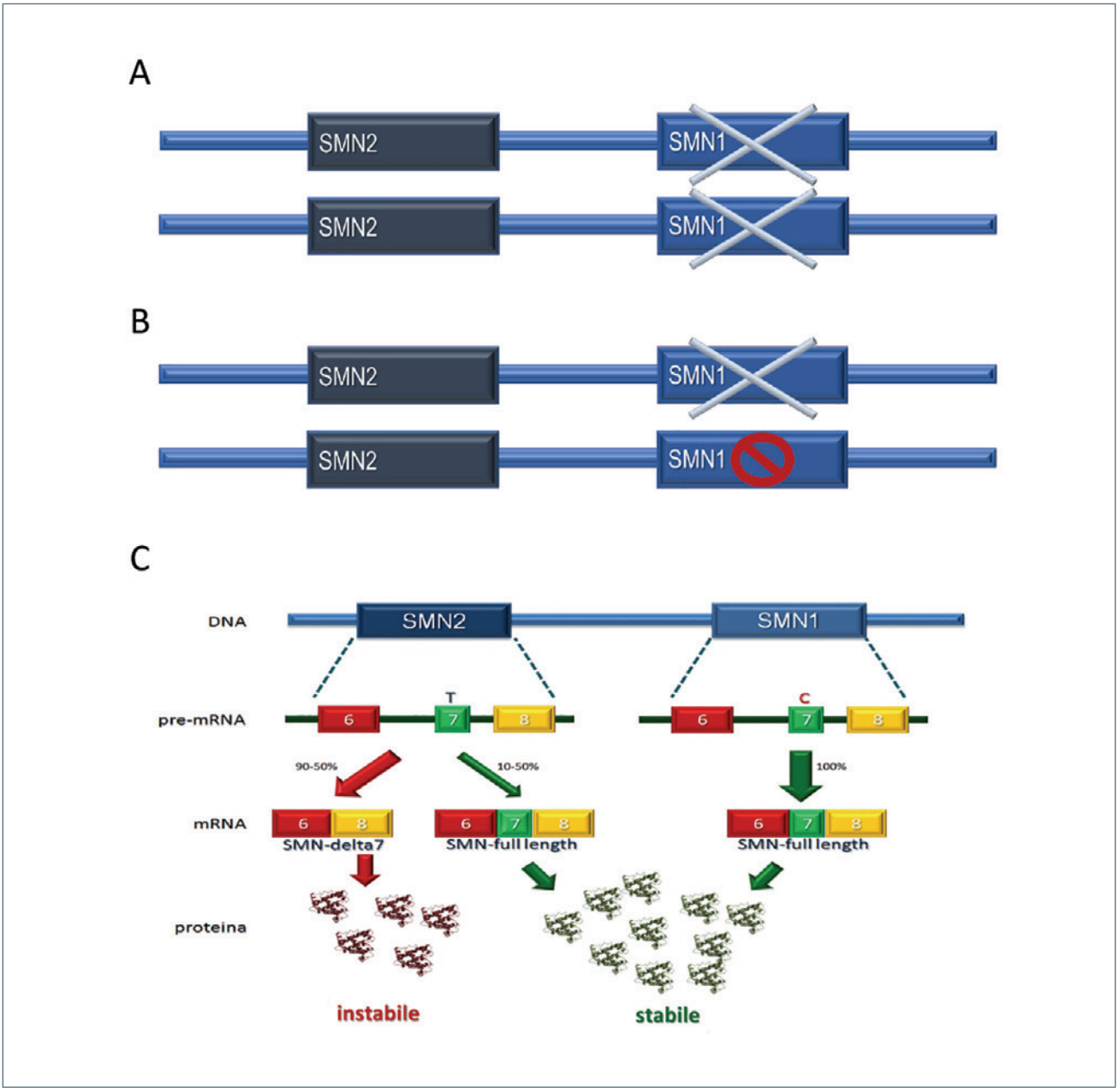


Fig. 1. Il difetto genetico dei pazienti SMA. Il 97-98% dei soggetti è omozigote per la delezione del gene *SMN1* (A); solo il 2-3% è eterozigote composto per la delezione di un allele e piccole mutazioni dell'altro (B). I geni *SMN2*, a causa dello splicing alternativo dell'esone 7 producono una quota variabile di trascritti privi dell'esone 7, mentre i geni *SMN1* producono esclusivamente trascritti full-length. La proteina priva dell'esone 7 è instabile e viene rapidamente degradata.

della presenza di un secondo gene (*SMN2*), altamente omologo di *SMN1*, che può essere considerato un vero e proprio allele ipomorfo di quest'ultimo. I geni *SMN1* e *SMN2* codificano entrambi per la proteina SMN. Al livello della sequenza nucleotidica, i due geni presentano poche differenze: tra queste, solo una è funzionalmente rilevante, una transizione C-T in posizione +6 dell'esone 7 di *SMN1*. Questa sostituzione determina un'alterata regolazione dello *splicing* dell'esone 7 che negli mRNA dei geni *SMN2* viene incorporato con efficienza minore: mentre tutti i trascritti che derivano dai geni *SMN1* comprendono l'esone 7, una quota variabile dei trascritti *SMN2* (in genere dal 50 al 90%) ne è privo (isoforma SMN-del7), dando origine a una proteina instabile che viene rapidamente degradata [2] (Fig. 1C).

In base alle nostre conoscenze attuali, *Smn* è un gene

molto antico e altamente conservato, presenta già nel lievito: escluso l'uomo, in tutte le specie vi è unicamente un gene *Smn* funzionalmente simile ad *SMN1* umano. I geni *SMN2* sono verosimilmente originati dalla duplicazione di una regione cromosomica di circa 500 kb che comprende pochi altri geni oltre a *SMN1/SMN2*, verificatasi per la prima volta nei Primati: tuttavia, sebbene nello scimpanzé vi siano 6-8 copie di *Smn*, tutte presentano caratteristiche simili a *SMN1*. Oltre che in *Homo sapiens* il gene *SMN2* era verosimilmente già presente in *Homo neanderthalensis* (dati personali non pubblicati), ma non è noto se vi fosse anche in altri ominidi. Il significato evolutivo e il ruolo dei geni *SMN2* non sono noti sebbene sia verosimile che costituiscano un meccanismo di regolazione negativa dei livelli di SMN. In sintesi, l'assenza totale dei geni Smn è letale nel corso dello sviluppo embrionale in tutte le specie e questo fa sì che non vi siano modelli spontanei di SMA; l'assenza omozigote dei geni *SMN1* nell'uomo determina il fenotipo SMA, dovuto alla produzione di livelli insufficienti di SMN dai soli geni *SMN2*; l'assenza omozigote dei geni *SMN2* si osserva nel 5-10% della popolazione generale e non si associa a fenotipi patologici.

L'APPROCCIO DIAGNOSTICO GENETICO-MOLECOLARE

L'omogeneità del difetto genetico riscontrato nei pazienti, fa sì che la ricerca della delezione omozigote del gene *SMN1* sia un test con una sensibilità elevatissima (97-98% circa) e una specificità assoluta (chi ha la delezione, manifesterà i segni clinici della SMA, sebbene a età variabile). Trattandosi inoltre di un test dai costi piuttosto contenuti, è ragionevole farne uso come *first tier* anche in casi non tipici di SMA, dal momento che la negatività dell'analisi esclude ragionevolmente il sospetto diagnostico. Sarebbe opportuno riservare i test di secondo livello (identificazione della delezione in eterozigosi ed eventuale ricerca di piccole mutazioni) ai pazienti che risultino negativi al primo test, per i quali vi sia un sospetto clinico e/o strumentale di SMA consistente. In questi casi, poiché i pazienti con piccole mutazioni sono in genere eterozigoti composti per la delezione di un allele, l'approccio oggi utilizzato si basa su test semiquantitativi (*Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification*, MLPA o PCR *real time*) per la determinazione del numero di copie di *SMN1*. In alcuni laboratori questi test vengono utilizzati come *first tier*: sebbene questo approccio presenti il vantaggio di effettuare un unico test per identificare delezioni in omo- o eterozigosi, i test semiquantitativi presentano costi maggiori sia in termini di materiali di laboratorio che di ore/uomo. Bisogna anche tenere presente che le piccole mutazioni di *SMN1* sono piuttosto rare.
Se *SMN1* è presente in due copie, il sospetto diagnostico di SMA è escluso con una probabilità superiore al 99%. Sono stati descritti rarissimi pazienti omozigoti per due piccole mutazioni: essi derivavano da genitori consanguinei o da isolati genetici. Per i pazienti che invece presentino *SMN1* in singola copia, si procede alla ricerca delle piccole mutazioni. I geni *SMN1/SMN2* non sono particolarmente grandi (sono solo 8 gli esoni codificanti), per cui non presentano grosse difficoltà di esecuzione tecnica. Tuttavia, la presenza dei geni *SMN2* riduce la *detection rate* delle varianti di *SMN1*, per cui all'incirca nei 2/3 dei pazienti con fenotipo tipico, eterozigoti per la delezione di *SMN1*, non viene identificata la seconda variante. Oltre all'effetto confondente legato ai geni *SMN2*, potrebbero esservi mutazioni introniche o delezioni parziali del gene *SMN1* che con le metodiche oggi disponibili non vengono identificate. La disponibilità di trattamenti efficaci ha fatto emergere un altro aspetto rilevante nella diagnostica molecolare della SMA: poiché quanto più precocemente viene instaurato il trattamento, tanto migliore è *l'outcome*, nel caso delle sospette SMA I la conferma molecolare è diventata una vera e propria urgenza diagnostica. Pertanto, in questi pazienti i risultati del test genetico dovrebbero essere resi disponibili entro pochi giorni dal prelievo, a differenza di quanto accada nella routine, in cui i tempi medi di attesa sono nell'ordine di alcune settimane.

LA PATOGENESI MOLECOLARE

I geni *SMN1/SMN2* codificano per una proteina ubiquitaria coinvolta nella regolazione dello *splicing* [3]. Negli anni sono state descritte diverse altre funzioni di SMN, alcune delle quali prevalentemente o esclusivamente neuronali. Tuttavia, l'esatto meccanismo patogenetico in base al quale una proteina ubiquitaria determini un fenotipo ristretto a uno o pochi tipi cellulari non è stato ancora chiarito. Sono state formulate diverse ipotesi che possono essere sintetizzate in due filoni principali: 1) la funzione prevalente di SMN sarebbe legata alla regolazione dello *splicing* del mRNA. I motoneuroni spinali, a differenza di altri tipi cellulari, sarebbero particolarmente sensibili alla riduzione dei livelli di SMN, verosimilmente in relazione alla compromissione dello *splicing* di un ristretto numero di geni con una funzione rilevante in questo tipo cellulare; 2) potrebbe esistere una funzione specifica di SMN, esclusivamente o prevalentemente motoneuronale. Tra quelle descritte, la meglio caratterizzata è il trasporto di mRNA lungo gli assoni; ve ne sono diverse altre, schematizzate nella

Figura 2A il cui significato patogenetico non è stato ancora chiarito [4]. Inoltre non è chiaro se, come tradizionalmente si riteneva, i motoneuroni spinali siano le uniche cellule coinvolte nella SMA: vi sono sempre più dati a sostegno di un ruolo attivo del muscolo scheletrico nei meccanismi patogenetici, così come vi sono numerosi studi a supporto del ruolo della componente afferente dell'arco spinale (Fig. 2B). Inoltre, alcuni studi supportano il coinvolgimento anche di altri organi e sistemi nella condizione, diversi da quello neuromuscolare [5 6].

LA VARIABILITÀ FENOTIPICA

Indipendentemente dalla gravità della condizione, i pazienti SMA presentano mutazioni con perdita di funzione di entrambe le copie di *SMN1*. Ciò nonostante, il fenotipo SMA è estremamente variabile, da forme gravissime con esordio prenatale a forme lievi con compromissione minima della funzione motoria. Nella realtà, la classificazione in forme (da 0 a IV) è chiaramente insufficiente a descrivere l'ampia variabilità fenotipica, meglio rappresentata da uno spettro continuo di

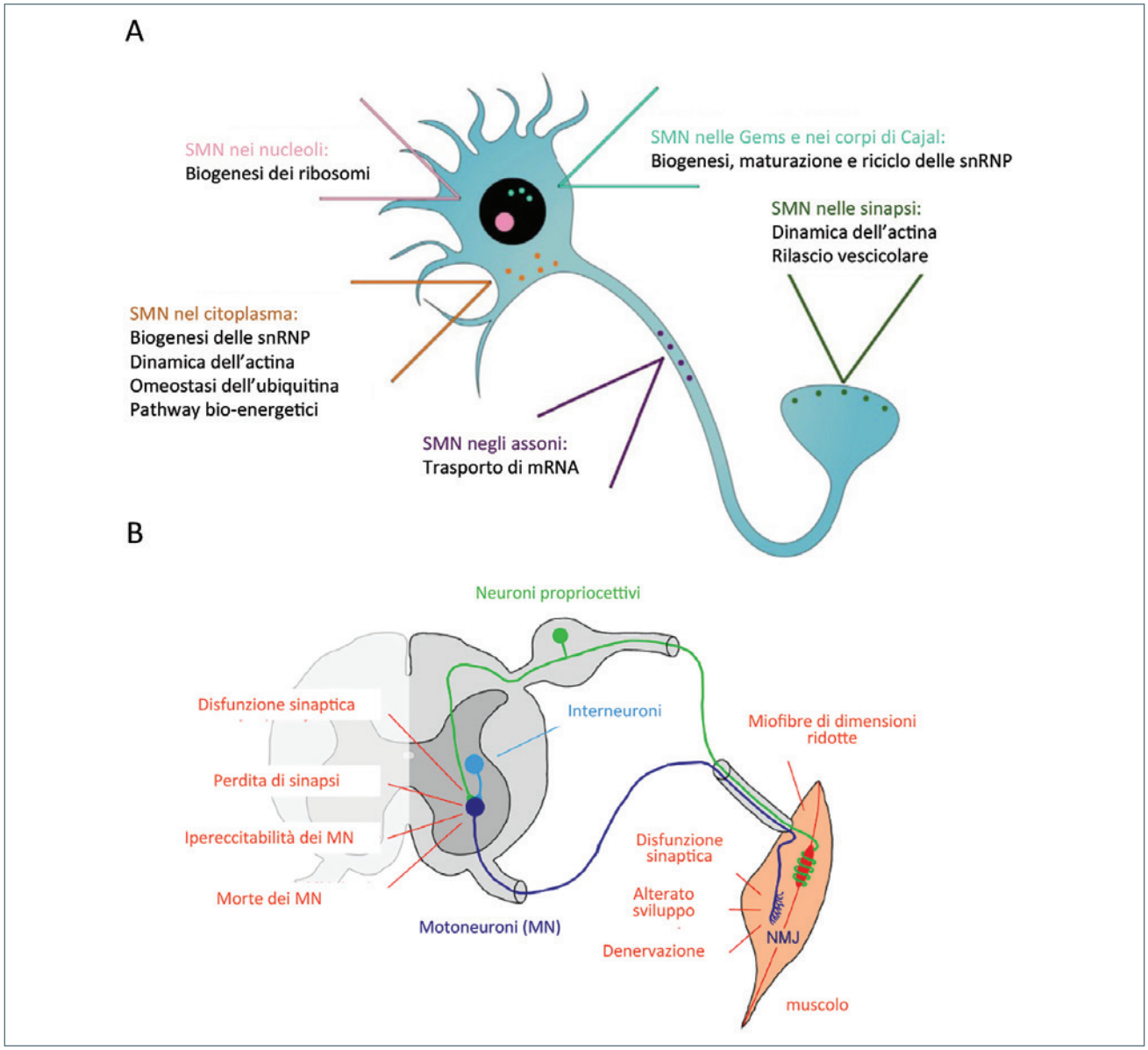


Fig. 2. La patogenesi molecolare della SMA. Sono state descritte una pletora di funzioni per la proteina SMN nei diversi compartimenti cellulari ed in tipi cellulari diversi (A). Non è tutt'oggi noto quale/quali di queste siano patogeneticamente rilevanti per la condizione (da Bowerman et al., 2017 [4], mod.). I motoneuroni (MN) non sono le uniche cellule coinvolte nella SMA (B). Tutte le componenti dell'arco spinale presentano un grado variabile di disfunzione (da Tisdale, Pellizzoni, 2015 [6], mod.).

gravità. Dall'identificazione di *SMN1* come responsabile della SMA, sono stati effettuati numerosissimi studi volti all'identificazione dei fattori genetici che possano modulare la gravità fenotipica, essenzialmente con due implicazioni di rilevanza fondamentale: una di tipo predittivo-prognostico, oggi di particolare importanza dopo la registrazione dei primi trattamenti per la SMA, e una di tipo terapeutico. L'identificazione dei modulatori fenotipici potrebbe portare alla scoperta di nuovi potenziali bersagli terapeutici, anche indipendenti dalla modulazione dei livelli di SMN.
Possiamo suddividere i geni modificatori della SMA in due categorie, quelli interni al locus *SMN1/SMN2* e quelli esterni. Per quel che riguarda i modificatori interni al locus, dati ormai estremamente robusti indicano che il maggior modulatore della gravità fenotipica è il numero di copie dei geni *SMN2*. Esso è variabile nei pazienti, da 1 a 4 nella maggior parte dei casi, ed è inversamente correlato con la gravità: pazienti con un numero maggiore di copie presentano generalmente fenotipi più lievi (Fig. 3A). Il limite principale dei dati oggi disponibili di correlazione genotipo-fenotipo è che questi derivano da studi retrospettivi e non prospettici. Inoltre, la correlazione tra numero di *SMN2* e gravità della SMA non è assoluta poiché fenotipi molto diversi possono presentare lo stesso numero di copie di *SMN2* (si veda ref. 7 per una recente meta-analisi; Fig. 3B); inoltre, è evento frequente che coppie di fratelli con lo stesso genotipo al locus *SMN1/SMN2* presentino quadri clinici discordanti. Per spiegare le differenze fenotipiche a parità di numero di *SMN2* sono state formulate diverse ipotesi, confermate successivamente in alcuni pazienti: alcuni geni *SMN2* sono parzialmente deleti e quindi non trascrizionalmente attivi; vi sono diversi meccanismi epigenetici di regolazione dell'espressione (quali ad esempio la metilazione del promotore); possono esservi differenze di efficienza nell'inclusione dell'esone 7 negli mRNA, anche in relazione alla presenza di varianti nucleotidiche. Quest'ultimo meccanismo è quello più comune e meglio caratterizzato: sono state a oggi descritte due varianti (la c.859C > G e c.-44A > G) [8 9] che modulano positivamente l'inclusione dell'esone 7 negli mRNA di *SMN2*. In ogni caso si tratta di meccanismi relativamente rari che da soli non spiegano l'intera variabilità fenotipica della condizione.
Nel contesto della pratica clinica, si può assumere come criterio generale che pazienti con 2 copie di *SMN2* presentino con buona probabilità un fenotipo grave, quelli con 4 copie un fenotipo lieve. È più difficile fare previsioni in pazienti con 3 *SMN2*. Bisogna comunque sottolineare che i dati di correlazione col numero di *SMN2* hanno prevalentemente significato come dato di coorte: il valore predittivo nel singolo paziente è piuttosto limitato e non andrebbe, a nostro parere, particolarmente stressato, soprattutto nella comunicazione con le famiglie. Diverso è il caso nelle diagnosi pre-sintomatiche, effettuate in corso di screening pre- o post-natale; per questi pazienti, la determinazione del numero di copie di *SMN2* è l'unico biomarcatore oggi disponibile per decidere l'opportunità e il *timing* di avvio del trattamento (v. oltre).
Per quel che riguarda geni modificatori esterni al locus *SMN1/SMN2*, a nostra conoscenza sono stati identificati a oggi 3 geni: *PLS3* [10], *CORO1C* [11] e *NCALD* [12]. Sebbene la loro efficacia nella modulazione del fenotipo SMA sia stata dimostrata in modelli animali, tuttavia la loro rilevanza clinica rimane piuttosto limitata (Abiusi et al., manoscritto in preparazione).

LA SMA AL TEMPO DEGLI SCREENING DI POPOLAZIONE

L'omogeneità mutazionale e l'elevata frequenza dei portatori sani rendono la SMA un candidato ideale per screening di popolazione. Tra quelli possibili vi sono gli screening pre-concezionali, pre-natali o neonatali.
Gli screening pre-concenzionali sono spesso considerati il gold standard, poiché costituiscono un vero e proprio approccio di prevenzione primaria. A oggi gli screening dei portatori di SMA vengono suggeriti a soggetti selezionati, in particolare ai familiari di pazienti ed eventuali partner, a coppie di consanguinei o provenienti da isolati genetici, o a persone che effettuino il test su base volontaria, magari nell'ambito di screening di portatori di malattie recessive in senso lato. Vi è in letteratura ampia discussione sull'opportunità di rendere universale lo screening dei portatori di SMA. Il vantaggio principale sarebbe quello per le coppie di effettuare scelte riproduttive informate e consapevoli. I limiti sarebbero: 1) la copertura dei costi di uno screening universale; 2) i falsi negativi del test di ricerca delle delezioni di *SMN1* in eterozigosi. Questi sono circa il 7% e sono dovuti alla presenza di due copie di *SMN1* in *cis* sullo stesso cromosoma nel 5% dei soggetti o alla presenza di piccole mutazioni nel 2-3% degli alleli; 3) la mancanza di fattori prognostici predittivi della gravità fenotipica di un eventuale figlio affetto. Il numero di *SMN2* parentale non fornisce informazioni in tal senso, poiché i test oggi disponibili non consentono di stabilire la fase cromosomica di *SMN1* e *SMN2* nei genitori: questo dato potrebbe essere ottenuto solo in corso di gravidanza, sul feto.
La diagnosi prenatale di SMA viene solitamente effettuata nel caso in cui entrambi i partner siano portatori sani o nell'ambito di pannelli diagnostici estesi a diverse decine di malattie rare, inclusa la SMA. Questo approccio offre la possibilità alle coppie di decidere il destino

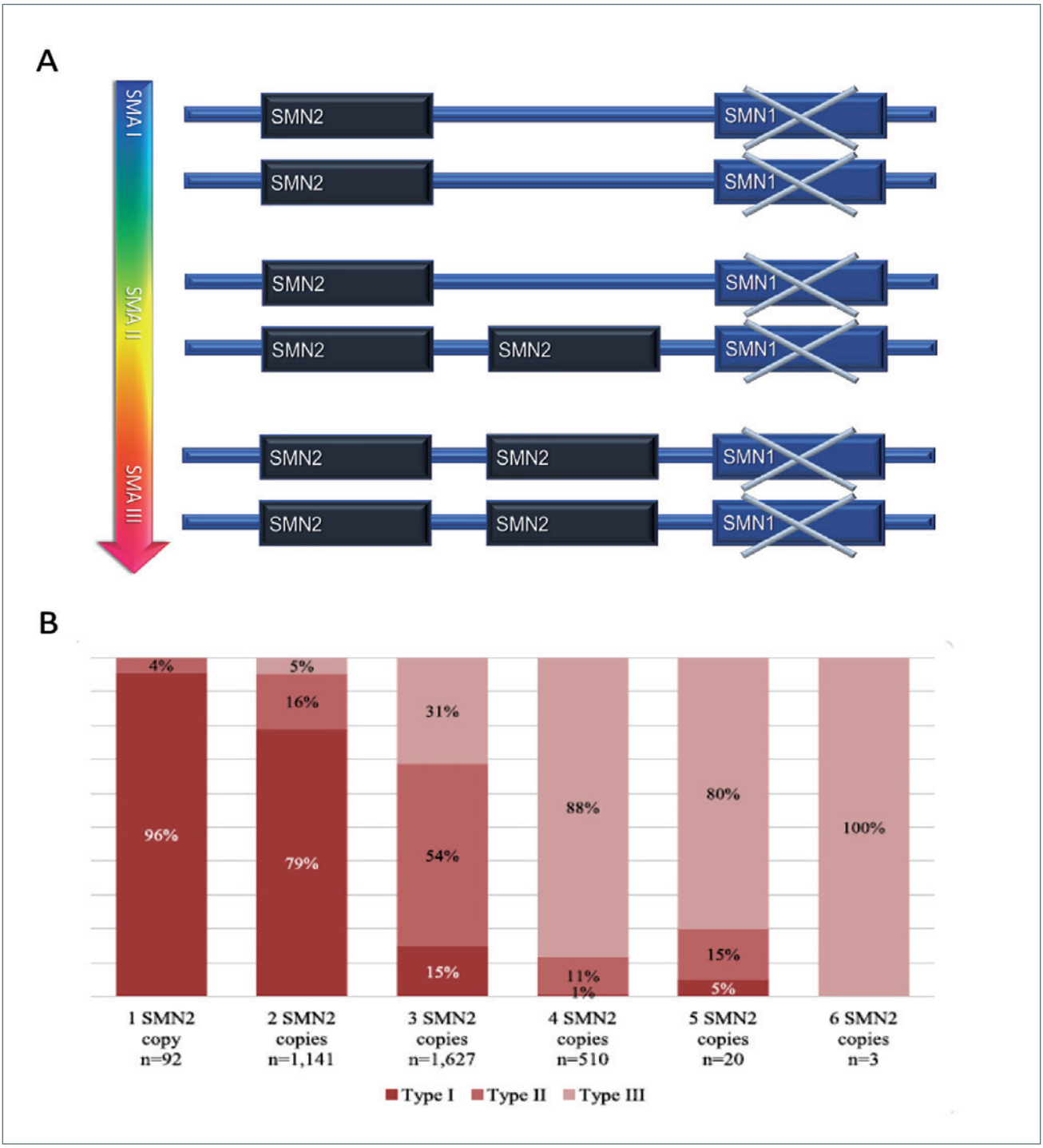


Fig. 3. Il numero di copie di *SMN2* modula la gravità fenotipica. Il numero di *SMN2* è variabile nei pazienti ed è inversamente correlato con la gravità della condizione (A). Tuttavia, tale correlazione non è assoluta e il numero di copie non consente di stabilire una prognosi nei singoli pazienti (B) (da Calucho et al., 2018 [7], mod.).

della gravidanza. Esso presenta alcuni *caveat*: 1) è difficilmente concepibile come screening universale mirato, al di fuori delle situazioni sopraindicate, dal momento che il rischio di aborto di qualsiasi metodica di diagnosi prenatale è superiore all'incidenza della SMA; 2) è fondamentale fornire un'informazione adeguata sulla SMA alle famiglie, difficilmente attuabile nel contesto emotivo di una diagnosi prenatale.

Nell'ambito della diagnostica prenatale, vengono effettuati con sempre maggior frequenza i test prenatali non-invasivi su DNA fetale circolante (NIPT). Validata per la ricerca delle aneuploidie fetali più comuni, viene utilizzata con sempre maggior frequenza per la ricerca di piccoli riarrangiamenti cromosomici e di malattie monogeniche, inclusa la SMA. Tuttavia, soprattutto nel caso della SMA per la peculiare costituzione del locus *SMN1/SMN2*, la NIPT presenta affidabilità limitata sia per l'elevato rischio di falsi positivi che di falsi negativi. Essa non è al momento applicabile per finalità di screening.

La disponibilità di un trattamento efficace ha reso proponibile l'inclusione della SMA tra gli screening neonatali universali. Di fatto essa soddisfa la maggior parte dei criteri dell'OMS di Wilson e Jungner [13], su cui si basa oggi tale scelta. Tuttavia, prima di rendere universale lo screening neonatale di SMA, che richiederà uno sforzo notevole sia economico che formativo per i centri screening, vi è la necessità di dati preliminari ancora oggi non disponibili. Gli studi pilota, in corso in alcune parti del mondo, forniranno informazioni relative ai punti oggi discussi, quali l'esatta incidenza della SMA, l'outcome terapeutico a lungo termine, la possibile comparsa di nuovi fenotipi relati al difetto di *SMN1* nei pazienti trattati, la definizione di procedure operative standard per la determinazione del numero di copie di *SMN2*, l'individuazione dei criteri per decidere l'avvio del trattamento, soprattutto nel caso dei pazienti con *SMN2* > 3, la validazione di biomarcatori molecolari prognostici in soggetti pre-sintomatici. Questi ultimi sono ormai indispensabili poiché a oggi la decisione d'inizio del trattamento si basa esclusivamente sul numero di *SMN2*, che presenta i limiti sopraesposti [14].

Bibliografia

1. Lefebvre S, Bürglen L, Reboullet S, et al. *Identification and characterization of a spinal muscular atrophy-determining gene*. Cell 1995;80:155-65.
2. Cho S, Dreyfuss G. *A degron created by SMN2 exon 7 skipping is a principal contributor to spinal muscular atrophy severity.* Genes Dev 2010;24:438-42.
3. Pellizzoni L, Yong J, Dreyfuss G. *Essential role for the SMN complex in the specificity of snRNP assembly.* Science 2002;298:1775-9.
4. Bowerman M, Becker CG, Yáñez-Muñoz RJ, et al.; UK SMA Research Consortium. *Therapeutic strategies for spinal muscular atrophy: SMN and beyond.* Dis Model Mech 2017;10:943-54.
5. Faravelli I, Nizzardo M, Comi GP, et al. *Spinal muscular atrophy - recent therapeutic advances for an old challenge.* Nat Rev Neurol 2015;11:351-9.
6. Tisdale S, Pellizzoni L. *Disease mechanisms and therapeutic approaches in spinal muscular atrophy.* J Neurosci 2015;35:8691-700.
7. Calucho M, Bernal S, Alias L, et al. *Correlation between SMA type and SMN2 copy number revisited: an analysis of 625 unrelated Spanish patients and a compilation of 2834 reported cases*. Neuromuscular Disord 2018;28:208-15.
8. Vezain M, Saugier-Veber P, Goina E, et al. *A rare SMN2 variant in a previously unrecognized composite splicing regulatory element induces exon 7 inclusion and reduces the clinical severity of spinal muscular atrophy.* Hum Mutat 2010;31:E1110-25.
9. Wu X, Wang SH, Sun J, et al. *A-44G transition in SMN2 intron 6 protects patients with spinal muscular atrophy.* Hum Mol Genet 2017;26:2768-80.
10. Oprea GE, Kröber S, McWhorter ML, et al. *Plastin 3 is a protective modifier of autosomal recessive spinal muscular atrophy.* Science 2008;320:524-7.
11. Riessland M, Kaczmarek A, Schneider S, et al. *Neurocalcin delta suppression protects against spinal muscular atrophy in humans and across species by restoring impaired endocytosis.* Am J Hum Genet 2017;100:297-315.
12. Hosseinibarkooie S, Peters M, Torres-Benito L, et al. *The power of human protective modifiers: PLS3 and CORO1C unravel impaired endocytosis in spinal muscular atrophy and rescue SMA phenotype.* Am J Hum Genet 2016;99:647-65.
13. Andermann A, Blancquaert I, Beauchamp S, et al. *Revisiting Wilson and Jungner in the genomic age: a review of screening criteria over the past 40 years.* Bull World Health Organ 2008;86:317-9.
14. Glascock J, Sampson J, Haidet-Phillips A, et al. *Treatment algorithm for infants diagnosed with spinal muscular atrophy through newborn screening.* J Neuromuscul Dis 2018;5:145-58.

Giornale di **NEUROPSICHIATRIA** dell'**ETÀ EVOLUTIVA** 2019;39:86-89

Psicologia e SMA

Psychology and SMA

J.L. Casiraghi

Centro Clinico NEMO, UOC di Neuroriabilitazione, Università degli Studi di Milano

Riassunto

La letteratura non ha ancora esplorato i correlati psicologici e le caratteristiche dei pazienti affetti da atrofia muscolare spinale (SMA). Pertanto, il presente articolo ha lo scopo di analizzare e discutere questi problemi, offrendo una causa di riflessione ai medici e ai clinici che operano in questo campo. Le persone con SMA provano emozioni e sentimenti come altre persone; ma è anche vero che la patologia potrebbe svolgere un ruolo nell'accrescere caratteristiche e reazioni specifiche.

Innanzitutto, l'articolo analizzerà gli aspetti psicologici nei bambini affetti da SMA e dai loro caregiver, sottolineando i fattori protettivi, i punti di forza e di debolezza di questa popolazione.

Esploreremo quindi brevemente il processo di definizione del significato che coinvolge i pazienti e le loro famiglie dalla diagnosi: instabilità, sensazione di "perdere il controllo" e disorientamento seguono il momento critico della diagnosi e le famiglie sono tenute ad attivare le loro strategie di coping e le risorse interpersonali da affrontare la malattia e le sue conseguenze fisiche ed emotive.

Contrariamente a quanto riportano di solito genitori e medici, i bambini affetti da SMA in giovane età non mostrano differenze significative nelle prestazioni cognitive (testate con matrici proiettive colorate, Raven) rispetto alla popolazione della stessa età. Tuttavia, un QI più elevato viene mostrato negli anni seguenti (durante l'adolescenza e l'età adulta), come se le loro prestazioni cognitive cambiassero in base a una profezia che si autoavvera.

In conclusione, i pazienti con SMA sembrano vivere e incarnare dicotomie opposte di onnipotenza e impotenza, forza e debolezza, competenza e dipendenza. L'autodeterminazione e l'autonomia sono le chiavi per superare l'atrofia muscolare spinale e diventare adulti dentro e oltre le loro condizioni.

Parole chiave: SMA, Aspetti psicologici, Famiglie, Caregiver

Summary

Literature has not yet explored the psychological correlates and features of patients affected by Spinal Muscular Atrophy (SMA). Thus, the present article aims to analyze and discuss these issues, offering a cause for reflection to doctors and clinicians operating in this field.

People with SMA experience emotions and feelings as other people do; but, it is also true that the pathology could play a role in heightening specific features and reactions.

First of all, the article will analyze psychological aspects in children affected by SMA and their caregivers, pointing out protective factors, strengths and weaknesses of this population.

We will then briefly explore the meaning making process involving patients and their families since the diagnosis: instability, feeling of "losing control" and disorientation follow the critical moment of the diagnosis, and families are required to activate their coping strategies and interpersonal resources to face the illness and its physical and emotional consequences.

Contrary to what parents and doctors usually report, children affected by SMA in their young age don't show significant differences in cognitive performance (tested with Colored Projective Matrices, Raven) compared to same-age population. However, higher IQ is shown in the following years (during adolescence and adulthood), as if their cognitive performance changes based on a self-fulfilling prophecy.

In conclusion, patients with SMA appear to live and embody opposite dichotomies of omnipotence and impotence, strength and weakness, competence and dependency. Self-determination and autonomy are the keys to outgrow the Spinal Muscular Atrophy and become adults within and beyond their condition.

Key words: SMA, Psychological aspects, Family, Caregivers

CORRISPONDENZA

Jacopo Luca Casiraghi, Centro Clinico NEMO, UOC di Neuroriabilitazione, Università degli Studi di Milano - E-mail: jacopo.casiraghi@gmail.com

INTRODUZIONE

Discutere riguardo gli aspetti psicologici nelle persone con SMA è una sfida per qualsiasi ricercatore o professionista, non solo per la varietà delle forme e gravità della patologia ma anche per l'ancora ridotta letteratura disponibile. Va da sé che la varietà del vivere e del sentire umano, non ascrivibile ad una statistica a priori, trascende gli aspetti della patologia (SMA) e ci offre la possibilità di osservare persone che gioiscono e combattono, soffrono e si innamorano *esattamente* come nel resto della popolazione. Pure, alcune caratteristiche della patologia possono esacerbare determinati tratti caratteriali, piuttosto che specifiche problematiche emotive o cognitive. Ragionare su questi aspetti è un utile spunto di riflessione per i medici e i colleghi che lavorano da un punto di vista clinico e riabilitativo con persone con la SMA. La chiave di lettura delle dinamiche psicologiche qui proposta è inserita in una precisa cornice epistemologica: il post-costruzionismo, l'approccio della psicoterapia sistemico-relazionale di Bateson e della Scuola di Palo Alto, le riflessioni sulla soggettività di Kelly e Guidano e la teoria delle polarità semantiche di Ugazio [1].

LE PROBLEMATICHE PSICOLOGICHE NEI BAMBINI CON LA SMA E NELLE LORO FAMIGLIE

La letteratura sottolinea come i bambini con una patologia cronica abbiano un rischio tre volte più alto di sviluppare un disturbo di tipo psichiatrico rispetto alla popolazione sana [2]. Questa caratteristica non sembra invece essere presente nei bambini SMA che alla luce di quanto rilevato non si discostano dal campione normativo [3]. Un altro studio [4] concorda con questa lettura ma rivela come il disturbo d'ansia da separazione sembrerebbe leggermente più comune nei bambini con la SMA. Questo è coerente con quanto narrato dalle famiglie e con l'intensa richiesta assistenziale richiesta dalla patologia. Si ipotizza che le problematiche psicologiche siano così basse per merito di alcuni fattori protettivi quali l'intelligenza medio alta dei bambini affetti e le buone capacità di coping della famiglia [5].
All'opposto è segnalato un elevato stress parentale nel campione di riferimento [4] tanto più elevato tanto più il bambino è grave (SMA1 e alcune forme di SMA2). Si ipotizza che uno scarso supporto sociale e familiare alla coppia genitoriale e comportamenti anomali o disturbati dei figli possano peggiorare il livello di stress percepito. Uno dei momenti di stress più elevati che la coppia genitoriale deve affrontare è ovviamente quello della diagnosi [6]. Si tratta di un processo penoso, emotivamente intenso e doloroso che fa da preludio all'accettazione della patologia e che anche dopo molto anni rientra nelle narrazioni fatte dalla famiglia.
Le capacità di coping della famiglia invece non diminuiscono e sono simili a quelle rilevate in genitori di bambini sani. Questo aspetto è molto sentito nei *verbatim* dei genitori che, al di là della stanchezza e della fatica esperita spesso riferiscono di essere in grado di gestire la situazione e di fronteggiare la patologia [7]. Le famiglie riferiscono di ricevere poco aiuto dal punto di vista sociale, persino più basso di quello che normalmente segnalano i genitori di bambini con altre patologie croniche [8]. Questa percezione è probabilmente connessa al fatto che i bisogni concreti e fisici di un bambino con la SMA sono molto importanti e richiedono spesso una costante presenza di almeno uno dei due genitori.
I fratelli e le sorelle dei bambini con la SMA possono avere problematiche comportamentali: i dati indicano problematiche due o tre volte maggiori rispetto alla popolazione di controllo [3] con sintomi clinicamente significativi sia internalizzanti che esternalizzanti. I fratelli di bambini con una patologia cronica sono stati definiti "negletti", a rischio di problemi comportamentali, bassa autostima e isolamento sociale [9]. Nell'*Ontario Child Health Study* si sottolinea anche un incremento statistico per quanto riguarda ansia e depressione [2]. Come mai i fratelli sono tanto a rischio? Si ipotizza a causa di una somma di fattori: la scarsa attenzione da parte dei genitori rivolta ai figli sani, l'eccessiva richiesta di responsabilizzazione e le modalità di funzionamento familiare più in generale [9].

SIGNIFICARE LA PATOLOGIA: QUALE VALORE ASSUME LA SMA NELLA VITA DELLE PERSONE AFFETTE?

Dal momento della comunicazione diagnostica la famiglia è costretta a fare i conti con una patologia cronica, degenerativa, fisicamente molto invalidante, rara e inaspettata. In che modo il sistema familiare affronta tale patologia? La SMA è una condanna o una occasione di redenzione, per diventare "migliori"? Una vergogna da tenere nascosta o un nemico da sconfiggere? Un'ingiustizia o un avvenimento casuale? Il significato attribuito alla patologia è coerente alle polarità semantiche familiari [10], cioè ai valori salienti e attrattivi con cui i membri della famiglia decodificano gli avvenimenti e traggono le proprie risorse per fronteggiare gli eventi avversi.
Negli ultimi due anni l'arrivo anche in Italia di un farmaco per la SMA (*Nusinersen*) ha modificato il contenuto della comunicazione diagnostica: dalla descrizione di una patologia "incurabile" si è passati ad una comunicazione

diagnostica più morbida che prevede molti condizionali e aumenta la speranza per il futuro delle famiglie. Ciò nonostante le famiglie sperimentano una forte sensazione di "perdita di controllo" e necessitano di trovare la forza interiore per gestire l'inaspettato e potenziare, come descritto, le proprie strategie di coping. In alcune forme di SMA molto gravi i *verbatim* delle famiglie sottolineano con grandi speranze la possibilità di scegliere quali terapie intraprendere per provare a fronteggiare la patologia ma anche il disorientamento emotivo rispetto alle diverse scelte (seguire la storia naturale, iniziare la terapia con *Nusinersen* o entrare in uno dei nuovi studi sperimentali).

LA VARIABILE COGNITIVA: UNA PROFEZIA CHE SI AUTO-AVVERA?

I genitori spesso sottolineano le ottime risorse cognitive possedute dai figli con la SMA e molti medici rilevano nei bambini con SMA il vivo interesse per l'ambiente circostante, le capacità osservazionali e l'acutezza mentale.
Una analisi della letteratura però ci mostra degli elementi interessanti da valutare quando si parla di intelligenza e SMA. Il QI dei bambini affetti testati tramite le matrici di Raven (CPM/SPM) ad esempio non è significativamente diverso da quello dei bambini sani [4]. Anche in successivi articoli l'intelligenza dei bambini testati è medio-alta, ma non superiore alla media. La differenza nel QI invece diventa rilevante quando il bambino affetto cresce e diventa adolescente o adulto. Nei bambini più grandi e negli adolescenti (SPM) il QI medio è significativamente più alto per i pazienti affetti da atrofia muscolare spinale rispetto al campione di controllo. Di norma un adolescente con la SMA ha un QI verbale più alto nella scala Wechsler e questo a prescindere dalla tipologia di SMA. È importante sottolineare che i bambini con forme di esordio precoce (tipo I) non sono meno intelligenti delle altre forme di SMA.
Si può concludere quindi che i bambini con la SMA hanno sì un QI nella media, ma che la debolezza muscolare li spinge a sviluppare in modo selettivo le competenze scolastiche e delle funzioni verbali facendoli prima apparire e poi diventare più intelligenti. Il bambino con la SMA è obbligato a causa della sua stessa patologia a esercitare il proprio problem-solving e pensiero laterale: muovendosi poco o affatto dovrà inventare e proporre nuove strategie per raggiungere i medesimi obiettivi dei coetanei. A sua volta il contesto sociale e scolastico favorisce il potenziamento delle capacità cognitive. L'équipe educativa che nel corso degli anni incontrerà il bambino valorizzerà gli aspetti connessi al pensiero anche in contrapposizione a quelli visivamente manchevoli dal punto di vista fisico.
Nella tarda adolescenza, gli aspetti dell'intelligenza mediati dall'ambiente saranno perciò più elevati nei pazienti con atrofia muscolare spinale: probabilmente lo sviluppo delle capacità cognitive e delle conoscenze è un modo creativo per compensare le molte restrizioni fisiche [4]. Per le persone con SMA il dominio del pensiero e dell'apprendimento diventa la principale area di investimento. Questo investimento è davvero un grande vantaggio, poiché l'intelligenza è nota per essere un fattore protettivo nel trattare con le avversità in generale e nel far fronte agli effetti della malattia cronica in particolare [5].
La genesi degli aspetti cognitivi di un bambino con la SMA di tipo 1 invece è molto meno studiata dalla letteratura, probabilmente per la gravità della patologia e la prognosi infausta. Le informazioni sono rarefatte e si basano sul confronto fra i clinici e quanti lavorano nei centri di terzo livello. Può essere presente un ritardo psico-affettivo negli adolescenti con la SMA di tipo 1 coerente con le ridotte esperienze relazionali e sociali che potranno affrontare che nulla ha a che vedere con gli aspetti cognitivi di base e potenziali.

L'ATTRIBUZIONE DI SENSO ALLA VITA: UNA SFIDA DA VINCERE

Un bambino con la SMA impara presto che deve chiedere supporto e aiuto a chi gli sta vicino per eseguire le azioni necessarie alla vita quotidiana. Che sia farsi dare un gioco o sollevare una posata il comportamento ben presto appreso è quello di fare una richiesta per ottenere qualcosa. In alcune circostanze il sistema familiare è tanto dolorosamente conscio delle necessità da anticipare la richiesta. Soprattutto nella forma di tipo 1 il desiderio è anticipato, sia dal senso di colpa dei genitori che dal loro tentativo di evitare qualsivoglia frustrazione al figlio malato. Il risultato è che in bambini potenzialmente intelligenti e immobili il senso di onnipotenza cresce con la consapevolezza di non poter fare nulla da soli. Impotenza e onnipotenza convivono determinando l'atteggiamento spesso incomprensibile, adulto, distante tenuto da questi bambini. Si assiste pertanto ad una genesi del comportamentale molto peculiare. Molti bambini con SMA vengono descritti dai genitori come intelligenti, volitivi, sicuri di sé, a volte persino tirannici. Potranno diventare degli adulti centrati, capaci, con spiccate doti di leadership e un ego molto sviluppato [11]. L'autostima e il senso di autoefficacia in queste persone è molto buona, seppure si debba scontrare con le limitazioni imposte da un corpo che nel tempo "tradisce" sempre di più il proprietario [12]. Così in alcuni individui si potrà osservare un dualismo paradossale fra la percezione di un sé vincente, capace, destinato a

grandi successi ed una parte di sé maggiormente ferita, incapace, destinata per colpa della degenerazione muscolare a fallire e a venire sconfitta.
La capacità di autodeterminazione e di vivere la vita in modo autonomo diventa quindi una vera e propria sfida non soltanto sociale ma anche psicologica per gli adulti con SMA. Nel già citato studio qualitativo [11] tutti i partecipanti raccontano che la SMA è percepita come qualcosa che potrebbe compromettere la loro indipendenza economica, sociale e psicologica e che spesso emergono conflitti interiori tra dipendenza e indipendenza con la famiglia d'origine. Questo li porta a scegliere e cercare compagni di vita che oltre ad accettare la loro diversa abilità siano anche affascinati dalle loro capacità mentali. Per un adulto con la SMA affrontare le sfide in modo indipendente, possedere autocontrollo, sviluppare un senso del sé ed un egocentrismo vincente sono fattori fondamentali per rompere le catene imposta dalla debolezza muscolare. Superare il limite imposto dalla SMA diventa imperativo e questo porta a volte ad una autarchia rispetto alle cure suggerite e alle opinioni altrui. Spesso gli adulti con SMA dichiarano di amare la vita in modo incondizionato anche e soprattutto alla luce delle sfide che sentono di aver dovuto superare per sopravvivere, ma poi non si prendono cura di loro stessi nel modo più efficace.
Alla luce di queste riflessioni una delle semantiche dominanti negli adolescenti e adulti con la SMA è quella del potere [1]: la vita è una sfida in cui il soggetto deve superare i limiti imposti dalla malattia per autodeterminarsi. La semantica prevede anche l'opposto polare della sconfitta, sottilmente connesso agli aspetti degenerativi e peggiorativi della patologia. Il dover adottare la NIV o il rischio della PEG sono tematiche spesso significate come "sconfitte" alla voglia di vivere e fare delle persone con la SMA.
La semantica del potere caratterizza anche i disturbi alimentari psicogeni: nelle persone con la SMA il tema dell'alimentazione è sicuramente saliente sia rispetto alle consistenze che rispetto alle quantità o alla tipologia di cibo consumato. Estrema magrezza o al contrario l'obesità clinica dovranno essere osservate non solo dal punto di vista funzionale e logopedico ma anche da quello psicologico.

Il sottile gioco fra il superare i limiti fisici della patologia e accettarne i limiti intrinsechi (seguendo ad esempio i suggerimenti medici) è per le persone con la SMA una sfida psicologica fondamentale affinché il senso del sé ne emerga rafforzato ma anche coerente alla situazione fisica reale.

Bibliografia

1 Ugazio V. *Storie permesse, storie proibite (nuova edizione).* Torino: Bollati Boringhieri 1998.

2 Cadman D, Offord D, Szatmari P, et al. *Chronic illness, disability, and mental and social well-being: findings of the Ontario Child Health Study.* Pediatrics 1987;79:805-13.

3 Laufersweiler-Plass C, Rudnik-Schöneborn S, Zerres K, et al. *Behavioural problems in children and adolescents with spinal muscular atrophy and their siblings.* Dev Med Child Neurol 2003;45:44-9.

4 Von Gontard A, Backes M, Laufersweiler-Plass C, et al. *Psychopathology and familial stress. A comparison of boys with Fragile X syndrome and spinal muscular atrophy.* J Child Psychol Psychiatry 2002;43:949-57.

5 Wallander JL, Varni JW. *Effects of pediatric chronic physical disorders on child and family adjustment.* J Child Psychol Psychiatry 1998;39:29-46.

6 Lanzi G, Zambrino CA, Balottin U, et al. *Periodic syndrome and migraine in children and adolescents.* Ital J Neurol Sci 1997;18:283-8.

7 Pocaterra R. *Oltre il naufragio*. Firenze: Giunti 2008.

8 LeBlanc LA, Goldsmith T, Patel DR. *Behavioral aspects of chronic illness in children and adolescents.* Pediatr Clin North Am 2003;50:859-78.

9 Eiser C. *Psychological effects of chronic disease.* J Child Psychol Psychiatry 1990;31:85-96.

10 Ugazio V, Defilippi P, Schepisi L, et al. *Famiglie, gruppi e individui. Le molteplici forme della psicoterapia sistemico-relazionale.* Milano: Franco Angeli 2006.

11 Ho HM, Tseng YH, Hsin YM, et al. *Living with illness and self-transcendence: the lived experience of patients with spinal muscular atrophy.* J Adv Nurs 2016;72:2695-705.

12 Reed PG. *Towards a nursing theory of self-transcendence: deductive reformation using developmental theories.* ANS Adv Nurs Sci 1991;13:64-77.

Giornale di NEUROPSICHIATRIA dell'ETÀ EVOLUTIVA 2019;39:90-96

La distrofia miotonica congenita

Congenital myotonic dystrophy

V.A. Sansone[1 2], E. Brigonzi[1 2], E. Albamonte[2]

[1] UOC di Neuroriabilitazione, Università degli Studi di Milano; [2] Centro Clinico NEMO, Milano

Riassunto

La distrofia miotonica congenita (CDM) viene diagnosticata quando un neonato presenta difficoltà alla nascita o entro i primi 30 giorni di vita. Di solito ciò si verifica in madri con Distrofia Miotonica di tipo 1 ad insorgenza in età adulta che possono avere sintomi molto lievi o non essere consapevoli della loro malattia che danno alla luce un bambino con CDM. L'ipotonia grave con conseguente floppy infant, la difficoltà respiratoria, le difficoltà di suzione e deglutizione con insufficienza accrescimento e ledeformità scheletriche dei piedi e delle mani sono presentazioni tipiche. Il ritardo dello sviluppo e il ritardo mentale sono comuni e i fenotipi cognitivi e comportamentali (disturbi dell'attenzione e iperattività, caratteristiche autistiche, ritardo mentale) dominano il quadro clinico se viene raggiunta la stabilità clinica dopo il superamento delle gravi condizioni cliniche iniziali. Durante l'infanzia il quadro clinico è caratterizzato da problemi gastrointestinali mentre il quadro generale, specialmente per quanto riguarda la forza e la faticabilità, tende a migliorare con l'adolescenza. Le fasi successive sono più simili al fenotipo del giovane adulto. La miotonia, assente alla nascita, è di solito presente nella maggior parte dei pazienti all'età di 10 anni. Il difetto genetico alla base della CDM è l'espansione tripletta del CTG sul gene DMPK, come nelle forme dell'infanzia, dell'adulto e dell'esordio tardivo. L'intervallo di espansione varia tra 200 e oltre 1000 e, come per le altre presentazioni, le correlazioni genotipo-fenotipo sono variabili e imprevedibili. Il carico della CDM sull'affetto bambino e le loro famiglie è ben noto e va a sottolineare la variabilità della distrofia miotonica e il coinvolgimento multiorgano. L'assistenza multidisciplinare è obbligatoria per questi bambini. L'implementazione delle raccomandazioni terapeutiche per la malattia è garantita tra gli specialisti non neurologi.

Parole chiave: Distrofia miotonica, Lattante ipotonico, Ritardo di sviluppo

Summary

Congenital Myotonic Dystrophy (CDM) is diagnosed when a neonate presents difficulties at birth or within the first 30 days from birth. It is usually affected mothers with adult-onset Myotonic Dystrophy type 1 who may have very little symptoms or are unaware of their disease who give birth to a child with CDM. Severe hypotonia resulting in a floppy baby, respiratory distress, difficulties with sucking and swallowing with failure to thrive and skeletal deformities usually of the feet and hands are typical presentations. Developmental delay and mental retardation are common and the cognitive and behavioral phenotypes (attention-hyperactive disorders, autistic features, mental delay) dominate the clinical picutre if clinical stability of vital functions is reached after the initial severe presentation. During childhood the clinical picture gastrointestinal problems arise while the general picture, especially regarding strength and fatigue tend to improve with adolescence. The later phases are more similar to the young adult phenotype. Myotonia, absent at birth is usually present in most patients by the age of 10. The genetic defect underlying CDM is the triplet expansion of CTG on the DMPK gene, like in the childhood, adult and late-onset forms. The range of expansion varies between 200 to over 1000 and like for the other presentations, genotype-phenotype correlations are variable and unpredictable. The burden of CDM on the affect child and their families is well-known and emphasizes the variability of myotonic dystrophy and the multi-organ involvement. Multidisciplinary care is mandatory for these children. Implementation of the care recommendations for the disease is warranted among non-neurologist specialists.

Key words: Myotonicdystrophy, Floppy infant, Developmental delay

La Distrofia Miotonica Congenita (CDM) è la presentazione alla nascita o entro il primo mese di vita della malattia con sintomi, moderati o severi tra cui: ipotonia, distress respiratorio, disturbi di suzione o deglutizione, deformità scheletriche. È la forma più grave e a esordio più precoce della DM1. Studi derivati in particolare dal registro DM1 franco-canadese, stimano un'incidenza pari a 2.1/100.000 nati vivi [1].

CORRISPONDENZA

Valentina A. Sansone, UOC di Neuroriabilitazione, Università degli Studi di Milano - E-mail: valesans65@gmail.com

La CDM venne descritta per la prima volta da Vanier et al. nel 1960 [2-4], che analizzò alcuni casi di bambini nati da madri affette da DM1, che presentavano un esordio neonatale della sintomatologia e la presenza di alcuni segni particolari condivisi dalle donne durante la gravidanza come il polidramnios e ridotti movimenti fetali. I neonati si mostravano generalmente ipotonici, con gravi problemi di alimentazione e di adattamento respiratorio e morte prematura; in caso di sopravvivenza, i bambini presentavano quadri di grave ritardo cognitivo oltre che motorio. Fino al 1992, con la scoperta del gene responsabile della patologia, la diagnosi veniva effettuata in base ai sintomi di presentazione clinica, ai reperti EMG e/o mediante la biopsia muscolare.
Dal 1992 a oggi, sono stati fatti numerosi sforzi per cercare di descrivere l'andamento clinico della patologia, dall'epoca prenatale in poi, per ottenere dati precisi riguardanti la storia naturale di malattia.
La CDM infatti differisce dalla DM1 a esordio in età adulta, in quanto clinicamente si manifesta con ipotonia e ipostenia diffuse, assenza di fenomeno miotonico, almeno inizialmente; a differenza dalla forma adulta inoltre è presente un ritardo cognitivo, particolarmente evidente in questa forma. La CDM mostra inoltre un particolare andamento clinico, inizialmente descritto da Hageman et al. nel 1993 [5], con un'analisi di 13 casi di bambini affetti da CDM e una revisione della letteratura, in cui emerge come la patologia abbia un andamento "bifasico": al superamento del periodo post-natale più critico, i bambini mostrano un progressivo miglioramento dei sintomi neonatali fino a una stabilizzazione clinica, prima di sviluppare, col tempo, i sintomi più tipici della DM1 a esordio nell'adulto.
Più recentemente Echenne e Bassez hanno osservato un andamento che può essere descritto come un "continuum", in cui i pazienti CDM che sopravvivono al periodo neonatale e quelli affetti da forma a esordio infantile/giovanile di DM1, sviluppano gli stessi segni e sintomi clinici di malattia prima di presentare quelli più tipici della forma a esordio in età adulta [6].
Tale visione dimostra quindi l'importanza di avere un quadro definito dall'andamento di malattia soprattutto in epoca neonatale e infantile, per poter sviluppare degli standard di cura condivisi, che arrivino fino all'età adulta (Fig. 1).

GENETICA ED EREDITARIETÀ

Nella maggior parte delle famiglie di pazienti DM1, si dimostra un esordio più precoce di malattia e una maggiore gravità dei sintomi nel corso delle generazioni (fenomeno dell'anticipazione), come risultato della trasmissione della sequenza nucleotidica CTG instabile, che diventa più espansa con la gametogenesi, in particolare materna. Infatti, nella maggior parte dei casi, la CDM è trasmessa per via materna e mostra un'espansione della tripletta CTG linfocitaria che va oltre le 1500 ripetizioni.
Un recente studio ha dimostrato come questo possa essere correlato a un pattern specifico di metilazione degli oociti (a monte o a valle di *DMPK*), non riscontrato a livello degli spermatozoi di pazienti affetti da DM1 [7]. Tale pattern di metilazione indurrebbe un'espansione abnorme della sequenza CTG dando quindi origine al fenotipo CDM. Nell'uomo invece, la presenza della metilazione a livello spermatico indurrebbe una riduzione dell'espressione del gene *SIX5* (adiacente a *DMPK*) causando un arresto nella gametogenesi e quindi a quadri di azoospermia o oligospermia con conseguente impossibilità o riduzione della probabilità di trasmettere la patologia.
In letteratura sono stati segnalati alcuni casi di CDM a trasmissione paterna [8-12], con quadri clinici del tutto sovrapponibili ai casi a ereditarietà materna.

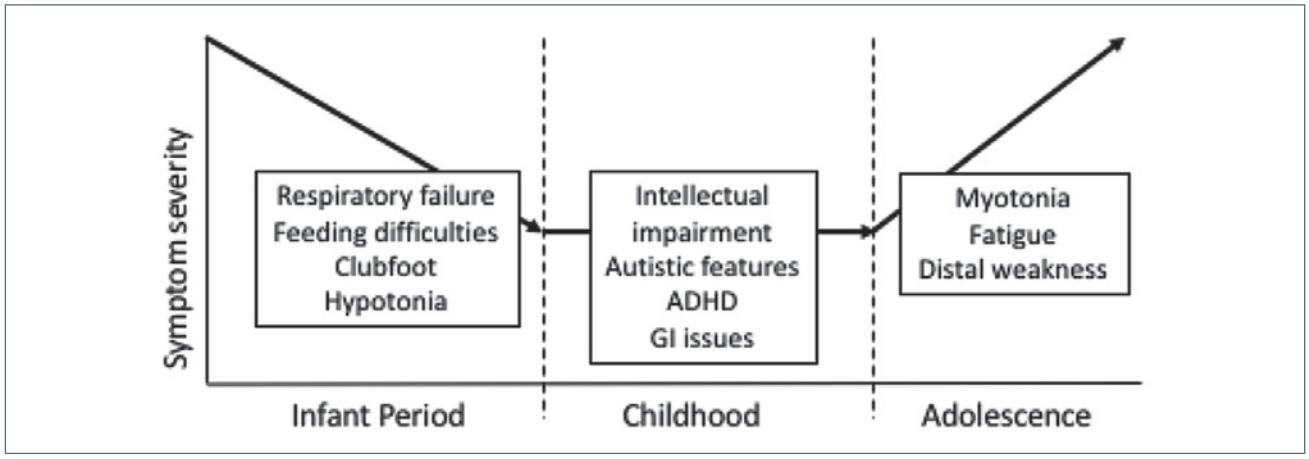


Fig. 1. Andamento clinico dei pazienti CDM.

Esiste circa un 25% di casi in cui si ha un fenotipo CDM con un'espansione CTG ridotta rispetto a quella normalmente considerata come associata a tale fenotipo e casi invece di espansioni CTG molto estese senza avere un esordio clinico di malattia in epoca neonatale, suggerendo quindi che la CDM non sia dovuta unicamente alla presenza di un'ampia espansione CTG, ma che all'espressione fenotipica concorrano anche altri fattori quali appunto lo stato di metilazione a monte e/o a valle di DMPK, l'età della madre e fattori ambientali (Fig. 2).

La nascita di un bambino affetto da CDM costituisce molto spesso il caso indice all'interno della famiglia che porta all'estensione dell'esecuzione dell'indagine genetica negli altri membri (dal 48 al 58% dei casi) [1]; la causa principale è dovuta al fatto che spesso le madri portatrici della mutazione sono asintomatiche o mostrano sintomi lievi che non vengono adeguatamente valorizzati.

Secondo uno studio pubblicato nel 1995 in cui si prendevano in esame 124 coppie di madri affette da DM1 con bambini affetti da CDM, un'espansione trinucleotidica maggiore di 300 nelle madri è associato a un rischio del 59% di generare bambini affetti dalla forma congenita, contro un 10% del rischio nelle madri con espansione sotto le 300 ripetizioni [13].

Altri studi hanno evidenziato come esista in realtà una grande variabilità in quanto madri con un'espansione molto piccola possono avere bambini affetti da forma congenita [14] e bambini affetti da forma congenita possono avere un'espansione CTG inferiore a quella considerata come causativa la patologia stessa [14-17].

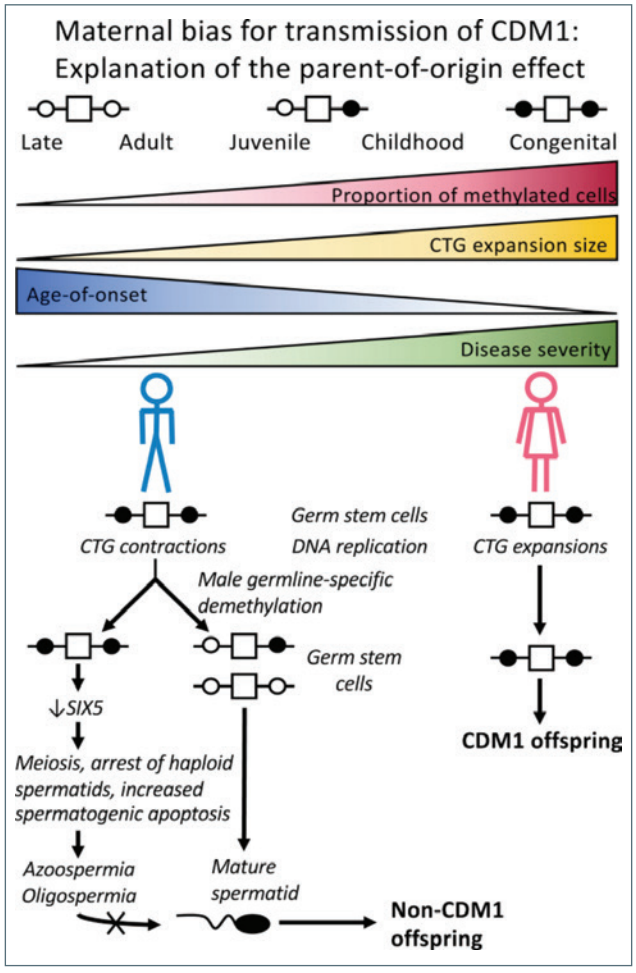


Fig. 2. L'immagine mostra mediante i quadrati la regione DMPK con l'espansione CTG, i punti vuoti indicano i siti non metilati mentre quelli neri quelli metilati (da Barbé et al., 2017 [7], mod.).

GRAVIDANZA E PARTO

Un recente studio canadese ha analizzato i dati di 38 pazienti CDM afferenti presso il loro Centro Neuromuscolare e 80 ulteriori casi descritti in letteratura, per un totale di una coorte di 118 pazienti di cui sono state descritte le caratteristiche prenatali fino alla prima infanzia [17].

Sin dai primi casi descritti in letteratura, uno dei segni più frequentemente associati a CDM in epoca prenatale è il polidramnios; tale condizione si sviluppa a causa di una riduzione o assenza di deglutizione da parte del feto. È una complicanza molto frequente e condivisa con altre patologie neuromuscolari, che si presenta nelle gravidanze di bambini CDM dal 47 al 82% dei casi [17 18], in particolare tra la 28° e la 34° settimana di gestazione.

Un'altra caratteristica è la riduzione o l'assenza di percezione dei movimenti attivi fetali (MAF) dovuti per lo più all'ipotonia e ipostenia del feto, in associazione alla presenza di polidramnios. Tale condizione può essere dimostrata ecograficamente, così come la presenza, in alcuni casi, di ventricolomegalia.

Secondo lo studio canadese nella maggior parte dei casi i bambini CDM nascono a termine (57% dei casi), con normale peso alla nascita (53% dei casi); i parti prematuri avvengono con una frequenza del 32% circa e sono associati a maggiori complicanze neonatali. Più frequentemente il parto non è naturale ma con taglio cesareo, probabilmente a causa della comparsa di sofferenza fetale dovuta spesso a parti prolungati (complicanza nota delle gravidanze in pazienti affette da DM1).

PERIODO NEONATALE

Alla nascita l'indice di Apgar è di solito basso, ≤ 6 al 1' nel 54% dei casi e al 5' nel 51% dei casi. La mortalità nel periodo neonatale è molto elevata e va dal 16 al 41% ed è più frequentemente dovuta a insufficienza respiratoria o all'insorgenza di aritmie cardiache fatali [3 5 15 19-21].

In generale all'esame obiettivo motorio i neonati appaiono ipotonici, iporeflessici e ipostenici per marcata riduzione o assenza dei movimenti antigravitari spontanei. L'esame del sistema sensitivo risulta invece normale, anche se le risposte possono essere ridotte o assenti a causa del deficit stenico.
In base alle caratteristiche cliniche evidenziate alla nascita, si possono distinguere due forme cliniche di CDM [6]:

- **Forma grave:** associata a segni prenatali di polidramnios, riduzione dei movimenti fetali e parto pretermine; alla nascita i neonati mostrano gravi ipotonia e ipostenia generalizzate, distress respiratorio che necessita di intubazione/ventilazione e mancata suzione con necessità di nutrizione parenterale e/o enterale con posizionamento di SNG. La maggior parte dei neonati presenta inoltre ipostenia facciale marcata con labbro superiore "a tenda" e bocca a carpa. Possono presentare artrogriposi e/o piede equino.
- **Forma lieve:** in questi pazienti nella maggior parte dei casi l'epoca gestazionale è normale e il polidramnios è meno frequente. Clinicamente mostrano ipotonia generalizzata, alterazioni di deglutizione con difficoltà di nutrizione e artrogriposi ma non distress respiratorio.

La maggior parte dei pazienti necessita di intubazione e ventilazione subito dopo la nascita (58% dei casi secondo lo studio canadese) e di questi il 28% per un tempo superiore ai 30 giorni.
In media i tempi di ospedalizzazione sono di circa 60 giorni, con necessità di un approccio di cura di tipo multidisciplinare, in particolare per quanto riguarda l'aspetto respiratorio e nutrizionale.
Complicanze frequenti:

a. *Respiratorie*: derivano da più fattori, tra cui: ipostenia della muscolatura diaframmatica e intercostale, ipoplasia polmonare attribuibile agli scarsi movimenti respiratori durante la vita fetale, disfunzione dei centri di controllo respiratorio e polmoniti da aspirazione causate da incoordinazione e ipostenia della muscolatura deglutitoria [22]. Per tali ragioni i neonati hanno spesso bisogno di un supporto respiratorio invasivo o non-invasivo e per un periodo più o meno lungo di tempo.
b. *Gastrointestinali*: i disturbi della suzione sono presenti con un'elevata frequenza nei bambini con CDM (78%circa) e sono attribuibili dall'ipotonia e dall'ipostenia severa della muscolatura facciale e orofaringea. Altre problematiche gastrointestinali che si possono presentare in epoca neonatale, ma con minor frequenza, sono un ritardo nello svuotamento gastrico (14%), reflusso gastroesofageo (11%) e stipsi (11%).
   Circa il 77% dei neonati con CDM necessita di supporto nutrizionale che, nella maggior parte dei casi, supera i 14 giorni. Questo può avvenire inizialmente il posizionamento di un sondino naso-gastrico, ma nei casi in cui vi sia un grave reflusso gastroesofageo e un ritardo dello svuotamento gastrico associati, si predilige la nutrizione parenterale.
c. *Deformità muscolo-scheletriche*: la più frequente è il piede equinovaro (37%) con necessità di correzione chirurgica, spesso multipla. Altre complicanze muscoloscheletriche sono: artrogriposi, scoliosi, piede piatto e displasia congenita dell'anca.
   Anche se sono stati descritti alcuni casi di scoliosi e contratture articolari in epoca neonatale, anche se tali condizioni si presentano più frequentemente con la crescita, in particolare dopo i 10 anni di età.
d. *Ventricolomegalia*: una dilatazione del sistema ventricolare diagnosticato sin dall'epoca prenatale e confermato mediante ecografia trans-cranica, è stata dimostrata nei bambini con CDM. Essendo il disturbo associato anche a un'atrofia corticale e sottotentoriale, solo raramente si sviluppa idrocefalo che necessita di intervento di derivazione ventricolare.
e. *Criptorchidismo*: condizione che si presenta di frequente anche in altre malattie neuromuscolari. Nella coorte di pazienti CDM presa in esame dal gruppo canadese, si presentava con una frequenza del 42% circa.

SVILUPPO SOMATO-PSICHICO

L'acquisizione delle tappe motorie e linguistiche è ritardato nei bambini affetti da CDM rispetto alla popolazione generale, con un ritardo ancora maggiore nelle femmine rispetto ai maschi [23].
I bambini iniziano a deambulare raramente prima dei 18 mesi, ma diventano autonomi tra i 2 e i 5 anni; sono sporadici i casi di pazienti non deambulanti e quindi dipendenti dalla carrozzina [3 19 23]. Tale ritardo è il risultato anche delle complicanze di tipo ortopedico associate alla patologia quali il piede torto, che rende ancora più difficoltoso il raggiungimento di una deambulazione autonoma valida. Quando raggiunta, questa risulta comunque impacciata e incerta, con un elevato rischio di cadute; i bambini riescono a raggiungere una marcia più rapida ma raramente sono in grado di correre.
Anche l'acquisizione delle competenze linguistiche è ritardata, sia per quanto riguarda la produzione che la comprensione verbale, in parte dovute all'ipostenia del distretto oro-facciale e in parte al ritardo cognitivo, di cui si discuterà più avanti.
Per quanto riguarda il controllo degli sfinteri questo viene raggiunto in media verso i 4-5 anni, anche se una

completa continenza urinaria in alcuni casi può essere raggiunta verso i 9 anni [3].
Secondo un recente studio sembra esserci una correlazione diretta tra la gravità della sintomatologia presentata in epoca neonatale e il grado di ritardo nell'acquisizione delle tappe dello sviluppo [23].
Nonostante il ritardo nell'acquisizione delle diverse tappe dello sviluppo, dal punto di vista motorio si osserva un miglioramento della forza muscolare nella prima infanzia, pur persistendo un certo grado di ipotonia e ipostenia armoniche, prossimo-distali.
Con la crescita e fino all'adolescenza i pazienti raggiungono una fase di stabilità, in cui non sono evidenziabili ulteriori miglioramenti, per poi presentare gli altri sintomi tipici della DM1 a esordio in età adulta quali miotonia, atrofia muscolare e cataratta [24].
A essere compromessi sono in particolare i muscoli flessori del collo e del tronco, e quelli deputati al controllo dei movimenti fini delle mani.
Una particolare menzione va fatta per la muscolatura del distretto oro-facciale che spesso risulta essere quello più compromesso e che difficilmente tende a migliorare nel tempo. Tale interessamento determina il tipico aspetto dismorfico di questi bambini con bocca "a carpa", mantenuta spesso aperta e condizionante una compromissione dell'eloquio, della masticazione e della deglutizione [25].
Per quanto riguarda invece il fenomeno miotonico, questo si manifesta clinicamente in genere intorno ai 10 anni, mentre si può evidenziare in epoca più precoce elettromiograficamente [2 24 26].

COINVOLGIMENTO COGNITIVO

Il ritardo cognitivo è una delle manifestazioni più comuni e tipiche dei bambini affetti da CDM e sembra essere dovuto a una encefalopatia "statica" con correlati di imaging cerebrale che evidenziano dilatazione del sistema ventricolare, atrofia corticale, ipoplasia del corpo calloso e alterazioni iperintense corticali [27].
Clinicamente i bambini dimostrano un QI al di sotto della norma che va da 40 a 80, con una media di 70 [28]; per tale ragione nella quasi totalità dei casi i bambini necessitano di un supporto scolastico. I deficit sono globali e interessano sia le abilità verbali che non verbali; secondo alcuni autori tuttavia i deficit più evidenti sono quelli di attenzione, memoria, abilità visuospaziali e visuo-costruttive e la disprassia [29].
Più della metà dei bambini con CDM sviluppa almeno un disturbo psichiatrico codificato dal DSM-IV [30] e tra i più comuni ci sono quelli da deficit di attenzione e iperattività e disturbi d'ansia e depressione che interferiscono con il corretto funzionamento sociale; rispetto a una popolazione di bambini non affetti di pari età e sesso, i bambini con CDM evidenziano maggiori problematiche di motivazione, insicurezza e disobbedienza [31].
Anche i disturbi dello spettro autistico sono spesso associati alla CDM (ca 50% dei casi), con una correlazione tra numero di ripetizioni CTG e grado di autismo [32].

ESPERIENZA PERSONALE

L'esperienza multidisciplinare e multiprofessionale maturata presso il Centro Clinico NEMO, dedicato alla presa in carico delle persone e loro famiglie con malattie neuromuscolari, tra cui le Distrofie Miotoniche e la forma congenita, permette di avanzare alcune considerazioni:

- L'avvento di nuove prospettive terapeutiche nel campo neuromuscolare ha reso ancor più evidente l'importanza di dati di storia naturale per potere confrontare l'andamento dei vari aspetti della patologia con e senza intervento terapeutico. La mancanza di questi dati costituisce un limite cruciale per il disegno di uno studio e per l'interpretazione dei risultati. In tale senso diversi centri italiani di NPI che prendono in carico questi pazienti si stanno allineando in una rete collaborativa per la raccolta dei dati di storia naturale.
- La multisistemicità della patologia evidenzia la complessità del quadro e la necessità di avere diverse misure di outcome e di endpoints in un contesto multidimensionale.
- La diagnosi di CDM avviene ancora in una elevata percentuale di donne affette al momento del parto contestualmente alla diagnosi di Distrofia Miotonica nella madre con ovvi risvolti familiari e impatto emotivo e clinico. Le madri dei bambini CDM nella maggior parte dei casi non sono a conoscenza di essere portatrici della patologia per la presenza di sintomi lievi che spesso vengono sottovalutati, così come la presenza di sintomi prenatali quali polidramnios e ridotti movimenti fetali, comuni a diverse patologie della gravidanza. La sottostima dei sintomi può far parte del quadro di ipocriticità che è noto nei pazienti affetti da DM1, ma può anche dipendere dal fatto che non vi sia una conoscenza sufficientemente approfondita anche da parte dei ginecologi ostetrici.
- Un ulteriore elemento che vale la pena di sottolineare è che, contrariamente a quanto ritenuto comunemente, la diagnosi di congenita non si fonda sul numero di triplette. Nella nostra popolazione il range di valori CTG varia da un minimo di 200 a un massimo di 1.100 ripetizioni, nella maggior parte dei casi rimanendo all'interno di una media di ca 600 ripetizioni, a sostegno del fatto che il fenotipo CDM non sia strettamente legato a un numero molto elevato

di ripetizioni CTG ma come sia invece da valorizzare la presenza della mutazione genetica associata ai sintomi tipici di questa forma che compaiono entro i primi 28 giorni di vita o in epoca prenatale. Infatti, i sintomi riportati alla nascita sono gravi, come dimostrato dai bassi valori di Apgar registrati nella maggioranza dei nostri pazienti e devono portare a effettuare in breve tempo le indagini genetiche necessarie a individuare la patologia sottostante. La gravità della sintomatologia presentata alla nascita ha imposto un ricovero in TIN per un periodo di tempo prolungato nella maggior parte dei casi, con necessità di un supporto respiratorio e nutrizionale per periodi variabili. Va anche considerata la correlazione tra ricovero prolungato in TIN e la necessità di supporto ventilatorio invasivo o meno durante tale periodo. Il successivo riscontro di maggior frequenza di infezioni respiratorie ricorrenti e valori di PSQ più elevati (indicativi di presenza di sonnolenza diurna più marcata) impone soprattutto in questi bambini un attento monitoraggio clinico pneumologico nel tempo e l'eventuale precoce introduzione di presidi quali macchina della tosse o NIV notturna, per migliorarne la qualità di vita.

- I domini di maggiore coinvolgimento di ritardo delle tappe psicoevolutive sono quelli riferite alla deambulazione autonoma, il linguaggio e il controllo sfinterico. A determinare tale andamento concorrono la compresenza del ritardo cognitivo, ma anche le alterazioni strutturali quali le deformità muscolo-scheletriche presenti alla nascita e la marcata ipostenia del distretto facciale. Il fatto che esista una correlazione tra i portatori di deformità muscolo-scheletriche e un maggior ritardo nell'acquisizione della deambulazione autonoma, sottolinea l'importanza di una presa in carico precoce di questi bambini da parte di Centri specializzati in modo che si possano mettere in atto tutti gli accorgimenti necessari per consentire un raggiungimento più precoce della tappa e un maggior supporto rispetto al rischio cadute. Lo stesso vale per quanto riguarda il linguaggio: la messa in atto precoce di una terapia logopedica che insegni al bambino manovre compensatorie per rendere il linguaggio più comprensibile può fornire ai bambini una maggiore indipendenza e sicurezza anche nella relazione con i coetanei.
- La storia naturale della CDM può essere considerata come costituita da 3 fasi, una in cui i sintomi sono severi all'esordio e coinvolgono le funzioni vitali oltre che le deformità; subentra quindi una fase in età infantile in cui vi è una stabilità generale del quadro clinico che va a caratterizzarsi per gli aspetti cognitivi-comportamentali e gastro-enterici in particolare; la fase adolescenziale in cui compaiono sintomi più tipici della forma adulta quali l'ipostenia e la miotonia. Impostare quindi precocemente interventi riabilitativi mirati e continuativi (ad esempio sulla motilità fine delle mani, la coordinazione e la stabilità posturale), potrebbe far raggiungere a questi bambini prestazioni migliori durante l'infanzia per arrivare all'adolescenza e all'età adulta con maggiori livelli di indipendenza.

Bibliografia

1 Campbell C, Levin S, Siu VM, et al. *Congenital myotonic dystrophy: Canadian population-based surveillance study.* J Pediatr 2013;163:120-5 e1-3.

2 Harper PS. *Congenital myotonic dystrophy in Britain. I. Clinical aspects.* Arch Dis Child 1975;50:505-13.

3 Roig M, Balliu PR, Navarro C, et al. *Presentation, clinical course, and outcome of the congenital form of myotonic dystrophy.* Pediatr Neurol 1994;11:208-13.

4 Vanier TM. *Dystrophia myotonica in childhood.* Br Med J 1960;2:1284-8.

5 Hageman AT, Gabreëls FJ, Liem KD, et al. *Congenital myotonic dystrophy: a report on thirteen cases and a review of the literature.* J Neurol Sci 1993;115:95-101.

6 Echenne, B, Bassez G. *Congenital and infantile myotonic dystrophy.* Handb Clin Neurol 2013;113:1387-93.

7 Barbé L, Lanni S, López-Castel A, et al. *CpG Methylation, a parent-of-origin effect for maternal-biased transmission of congenital myotonic dystrophy.* Am J Hum Genet 2017;100:488-505.

8 Bergoffen J, Kant J, Sladky J, et al. *Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy.* J Med Genet 1994;31:518-20.

9 de Die-Smulders CE, Smeets HJ, Loots W, et al. *Paternal transmission of congenital myotonic dystrophy.* J Med Genet 1997;34:930-3.

10 Nakagawa M, Yamada H, Higuchi I, et al. *A case of paternally inherited congenital myotonic dystrophy.* J Med Genet 1994;31:397-400.

11 Ohya K, Tachi N, Chiba S, et al. *Congenital myotonic dystrophy transmitted from an asymptomatic father with a DM-specific gene.* Neurology 1994;44:1958-60.

12 Zeesman S, Carson N, Whelan DT. *Paternal transmission of the congenital form of myotonic dystrophy type 1: a new case and review of the literature.* Am J Med Genet 2002;107:222-6.

13 Cobo AM, Poza JJ, Martorell L, et al. *Contribution of molecular analyses to the estimation of the risk of congenital myotonic dystrophy.* J Med Genet 1995;32:105-8.

14 Redman JB, Fenwick RG Jr, Fu YH, et al. *Relationship between parental trinucleotide GCT repeat length and severity of myotonic dystrophy in offspring.* JAMA 1993;269:1960-5.

15 Campbell C, Sherlock R, Jacob P, et al. *Congenital myotonic dystrophy: assisted ventilation duration and outcome.* Pediatrics 2004;113:811-6.

16 Tsilfidis C, MacKenzie AE, Mettler G, et al. *Correlation*

between CTG trinucleotide repeat length and frequency of severe congenital myotonic dystrophy. Nat Genet 1992;1:192-5.

17 Zapata-Aldana E, Ceballos-Sáenz D, Hicks R, et al. *Prenatal, neonatal, and early childhood features in congenital myotonic dystrophy.* J Neuromuscul Dis 2018;5:331-40.

18 Zaki M, Boyd PA, Impey L, et al. *Congenital myotonic dystrophy: prenatal ultrasound findings and pregnancy outcome.* Ultrasound Obstet Gynecol 2007;29:284-8.

19 Reardon W, Newcombe R, Fenton I, et al. *The natural history of congenital myotonic dystrophy: mortality and long term clinical aspects.* Arch Dis Child 1993;68:177-81.

20 Rutherford MA, Heckmatt JZ, Dubowitz V. *Congenital myotonic dystrophy: respiratory function at birth determines survival.* Arch Dis Child 1989;64:191-5.

21 Wesström G, Bensch J, Schollin J. *Congenital myotonic dystrophy. Incidence, clinical aspects and early prognosis.* Acta Paediatr Scand 1986;75:849-54.

22 Keller C, Reynolds A, Lee B, et al. *Congenital myotonic dystrophy requiring prolonged endotracheal and noninvasive assisted ventilation: not a uniformly fatal condition.* Pediatrics 1998;101:704-6.

23 Prasad M, Hicks R, MacKay M, et al. *Developmental milestones and quality of life assessment in a congenital myotonic dystrophy cohort.* J Neuromuscul Dis 2016;3:405-12.

24 Schara U, Schoser BG. *Myotonic dystrophies type 1 and 2: a summary on current aspects.* Semin Pediatr Neurol 2006;13:71-9.

25 Sjogreen L, Engvall M, Ekström AB, et al. *Orofacial dysfunction in children and adolescents with myotonic dystrophy.* Dev Med Child Neurol 2007;49:18-22.

26 Kroksmark AK1, Ekström AB, Björck E, et al. *Myotonic dystrophy: muscle involvement in relation to disease type and size of expanded CTG-repeat sequence.* Dev Med Child Neurol 2005;47:478-85.

27 Kuo HC, Hsiao KM, Chen CJ, et al. *Brain magnetic resonance image changes in a family with congenital and classic myotonic dystrophy.* Brain Dev 2005;27:291-6.

28 Harper P. *Myotonic Dystrophy.* 3rd ed. London: W.B. Saunders 2001.

29 Angeard N1, Gargiulo M, Jacquette A, et al. *Cognitive profile in childhood myotonic dystrophy type 1: is there a global impairment?* Neuromuscul Disord 2007;17:451-8.

30 Douniol M, Jacquette A, Cohen D, et al. *Psychiatric and cognitive phenotype of childhood myotonic dystrophy type 1.* Dev Med Child Neurol 2012;54:905-11.

31 Thompson A, Kaplan C, Gardner-Medwin D. *Congenital myotonic dystrophy.* Pediatr Neurol 1995;13:85.

32 Ekström AB, Hakenäs-Plate L, Samuelsson L, et al. *Autism spectrum conditions in myotonic dystrophy type 1: a study on 57 individuals with congenital and childhood forms.* Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet 2008;147B:918-26.

Le miopatie congenite

Congenital myopathies

C. Fiorillo[1], C. Bruno[1], C. Minetti[1 2]

[1] UOC Neurologia Pediatrica e Malattie Muscolari, Istituto G. Gaslini, Genova; [2] Università di Genova, Dipartimento di Neuroscienze e Materno Infantile

Riassunto

Le miopatie congenite sono un gruppo di patologie del muscolo scheletrico con esordio alla nascita o nella prima infanzia. Sono molto eterogenee dal punto di vista genetico e clinico. La severità varia da casi con morte nel periodo neonatale a casi con esordio tardivo e lieve deficit muscolare. Classicamente le miopatie congenite sono classificate sulla base delle alterazioni istopatologiche riscontrate a livello della biopsia muscolare e la maggior parte dei geni coinvolti nella patogenesi codifica per proteine con un ruolo essenziale nella struttura e nel corretto funzionamento del muscolo scheletrico. Negli ultimi anni le moderne tecnologie di diagnosi molecolare hanno consentito la caratterizzazione genetica di numerosi casi. Tuttavia la correlazione tra una specifica forma di miopatia, definita in base alle caratteristiche istologiche, e la sottostante alterazione genetica, non è così lineare. Infatti molte delle miopatie congenite sono causate da mutazioni in geni diversi e lo stesso gene può causare più alterazioni bioptiche, quindi stanno emergendo notevoli sovrapposizioni genetiche e patologiche, che confondono i confini stabiliti classicamente e rendono il processo diagnostico un'odissea. Il sequenziamento di nuova generazione e la diffusione del pattern di risonanza magnetica muscolare si sono dimostrate un valido aiuto per la diagnosi corretta, che è fondamentale per la consulenza genetica e in vista di una terapia genetica specifica. In effetti, ad oggi, non esiste una terapia specifica per queste malattie debilitanti oltre alla prevenzione delle complicanze e al supporto respiratorio. Tuttavia, lo studio delle basi patogenetiche e l'identificazione di target terapeutici potranno permettere lo sviluppo di diverse strategie terapeutiche, alcune delle quali potrebbero presto essere disponibili per i pazienti. Questo lavoro esaminerà le caratteristiche cliniche, istopatologiche e genetiche delle varie forme e analizzerà i progressi della diagnostica clinica e genetica, fornendo importanti indicazioni anche sulle novità patogenetiche di queste malattie.

Parole chiave: Miopatie congenite, Genetica, Neonato ipotonico, Biopsia muscolare, Review

Summary

The congenital myopathies are a diverse group of genetic skeletal muscle diseases, which typically present at birth or in early infancy. There are multiple modes of inheritance and degrees of severity ranging from foetal akinesia, through lethality in the newborn period, to milder early and later onset cases. Classically, the congenital myopathies are defined by the presence of one or more characteristic histological featuresat muscle biopsy such as cores, nemaline bodies and centrally located nuclei. Over the past decade there have been major advances in defining the genetic basis of these different subtypes.However, the relationship between each congenital myopathyand the genetic cause is complex. Many congenital myopathies are due to mutations in more than one gene, and mutations in the same gene can cause different muscle pathologies.Thus, considerable genetic and pathological overlap is emerging, blurring the classically established boundaries and making the diagnostic process an odyssey. Novel technologies as next generation sequencing and the diffusion of muscle MRI pattern has been proven a valid help to the correct diagnosis, which is fundamental for genetic counselling and in view of a specific gene target therapy. Indeed, to date, no specific therapy exists for these debilitating diseases beside prevention of complications and respiratory support. However, the recent of unveiling of pathogenetic proof-of-concepts and therapeutic targets, have allowed validation of different therapeutic strategies, some of which may be soon translated to patients.

Key words: Congenital myopathy, Floppy infant, Review

CORRISPONDENZA

Chiara Fiorillo, Neurologia Pediatrica e Malattie Muscolari, Istituto G. Gaslini, via G. Gaslini 5, 16147 Genova - Tel. +39 010 5636520 - E-mail: chiara.fiorillo@edu.unige.it

INTRODUZIONE

Le miopatie congenite sono malattie rare che colpiscono primitivamente il muscolo scheletrico; vengono così definite perché generalmente esordiscono nel bambino molto piccolo, anche se presentano un'ampia eterogeneità dal punto di vista clinico, genetico e dei reperti alla biopsia muscolare [1]. Esse sono causate da alterazioni geneticamente determinate di proteine strutturali della fibra muscolare e la loro classificazione è tradizionalmente basata sulla presenza di particolari anomalie morfologiche evidenziate nella biopsia muscolare [2]. Sono quindi malattie che interessano quasi esclusivamente il tessuto muscolare scheletrico, di gravità variabile, ma spesso non progressive o solo lentamente progressive, sebbene lo stesso accrescimento staturo-ponderale durante l'età evolutiva od altre malattie intercorrenti possano comportare un peggioramento delle capacità funzionali motorie [3].

Le miopatie congenite colpiscono sia bambini che adulti di tutte le popolazioni. La precisa epidemiologia delle miopatie congenite non è nota, ma si stima un'incidenza intorno a 1:25.000, rappresentando circa il 14% di tutti i casi di ipotonia congenita [4].

La classificazione nosografica di questo complesso gruppo di malattie è in costante revisione, sia in seguito all'identificazione di nuove mutazioni genetiche sia per la constatazione che un'alterazione di un singolo gene può determinare fenotipi clinici e morfologici diversi così come le diverse forme caratterizzate istopatologicamente possono essere associate a mutazioni in geni differenti (Tab. I).

Attualmente è ancora valida la classificazione sulla base dei marcatori istopatologici che distingue:

1. miopatie con rods (nemaliniche);
2. miopatie con core (miopatia central core e multiminicore);
3. miopatie con nuclei centralizzati (miotubulare e centronucleare);
4. miopatie con disproporzione delle fibre (*Congenital Fiber Type Disproportion* - CFTD).

Ulteriori forme di miopatie congenite più rare sono caratterizzate da altre caratteristiche morfologiche quali le miopatie con alterazioni della miosina, le miopatie con "cap", le miopatie con corpi riducenti e le miopatie con aggregati tubulari. Una caratteristica istopatologica comune e presente nella maggior parte delle forme suddette è la predominanza delle fibre di tipo I (lente) alla biopsia muscolare [2].

In questo articolo saranno descritte le diverse forme di miopatie congenite da un punto di vista clinico ed istopatologico,partendo dalle forme classiche ma cercando di focalizzare l'attenzione sulle forme emergenti dalle nuove scoperte genetiche. L'ultima parte di questa revisione sarà dedicata alle novità in termini di meccanismi patogenetici alla base di queste forme ed agli attuali approcci diagnostici definiti da un consenso internazionale.

CARATTERISTICHE CLINICHE GENERALI

In queste forme è possibile riscontrare una significativa variabilità della presentazione clinica, da forme gravi neonatali con artrogriposi congenita a forme lievi con ipostenia ed ipotonia muscolare non progressiva ad esordio nell'infanzia.

Nei casi ad esordio precoce la sintomatologia è in genere più marcata, potendosi verificare riduzione dei movimenti attivi anche in epoca fetale con conseguente comparsa di artrogriposi e piede torto. Spesso già alla nascita e nei primi mesi di vita presente un'ipotonia muscolare significativa che porta al quadro del "floppy baby", con postura batraciana,difficoltà alla suzione e insufficienza respiratoria (Fig. 1A). Questo quadro è soprattutto comune nella grave forma X-linked da deficit di miotubularina. Altre manifestazioni tipiche nel primo anno di vita sono la displasia congenita dell'anca e la ipomimia, specie pronunciata nella regione inferiore del viso per cui la rima buccale è tenuta in posizione semiaperta con labbro superiore "a tenda" con conseguente scialorrea che configura la tipica "facies miopatica" (Fig. 1B).

Con l'accrescimento, l'ipostenia muscolare rimane relativamente stabile, presentandosi un ritardo nell'acquisizione delle tappe motorie; possono comparire deformazioni osteoarticolari tra cui retrazioni articolari, iperlordosi, scoliosi, od il quadro della cosiddetta spina rigida come nella forma da mutazioni del gene *SEPN1*. Comune è una significativa perdita della massa muscolare con scarso peso corporeo e atrofia muscolare diffusa (Fig. 1C).

Altri aspetti dimorfici secondari alla ipostenia muscolare e caratteristici delle miopatie congenite sono il palato ogivale, la micrognatia e il *pectus carinatum* o *excavatum*, conseguente ad ipotonia dei muscoli del torace.

Alterazioni della motilità oculare estrinseca con ptosi palpebrale o strabismo possono non essere presente nel neonato ma svilupparsi nei mesi o negli anni successivi. L'oftalmoparesi è spesso una caratteristica clinica di alcune forme specifiche come nelle forme di minicores associate a mutazioni recessive del gene *RYR1* o nelle forme centronucleari da mutazioni di *MTM1*, *DNM2.*

Le miopatie congenite comprendono anche forme con scarsi sintomi nei primi anni di vita e diagnosticate solo in età avanzata, o forme pauci-sintomatiche: i casi più

lievi possono infatti rimanere asintomatici fino all'età adulta quando il paziente può lamentare unaglobale debolezza muscolare prevalentemente prossimale, associata eventualmente a scarsa massa muscolare, presenza di lieve scoliosi e riduzione dei riflessi osteotendinei. Dismorfismi, a volte subdoli, come la ptosi o la rinolalia nel caso di coinvolgimento facciale, il petto carenato, la scapola alata, posso essere riscontrati anche nell'adulto e rappresentarne l'unico segno clinico.

Il coinvolgimento di organi differenti dal muscolo scheletrico è abbastanza raro. Quando l'ipotonia e la debolezza muscolare è tale da coinvolgere anche i muscoli respiratori si può arrivare ad una insufficienza respiratoria restrittiva, soprattutto nella miopatia nemalinica e miotubulare. L'interessamento cardiaco è raro ma può essere presente nella miopatia central-core e nella nemalinica caratterizzandosi per disturbi della conduzione o insufficienza valvolare. Cardiomiopatie (dilatative, ipertrofiche o

Tab. I. Forme di miopatie congenite e relativi geni responsabili.

	Gene	Locus	Ereditarietà	Proteina
Miopatie con "Rods" o nemaliniche				
	ACTA1	1q42	AD or AR	α-actina scheletrica
	NEB	2q.2	AR	Nebulina
	TPM3	1q2	AD	α-tropomiosina,
	TPM2	9p13	AD	β-tropomiosina
	TNNT1	19q13	AR	Troponina T1
	CFL2	14q12	AR	Cofilina-2
	KBTBD13	15q22.31	AD	Kelch domain containing protein
	KLHL40	3p22	AR	Sarcosynapsin
	KLHL41	2q31	AR	Sarcosynapsin
	LMOD3	3p14	AR	Leiomodin-3
Miopatie con cores				
Central core disease	*RYR1*	19q13	AD or AR	Recettore della rianodina
Multi-minicore disease	*RYR1*	19q13	AR	Recettore della rianodina
	ACTA1	1q42	AD	α-actina scheletrica
	SEPN1	1p36	AR	Selenoproteina N1
	MYH7	14q11	AD	Catena pesante della miosina beta
Miopatie con nuclei centralizzati				
Miotubulare	*MTM1*	Xq28	XLR	Miotubularina
Centronucleare	*DNM2*	19p13	AD	Dinamina-2
	BIN1	2q14	AR	Amphiphysina-2
	RYR1	19q13	AD	Recettore della rianodina 1
	MYF6	12q21	AD	Fattore miogenico 6
	CCDC78	16p13.3	AD	Proteina coiled-coil domain-78
	SPEG	2q35	AR	Proteina kinasi espressa nel muscolo scheletrico
Miopatie con disproporzione delle fibre				
	ACTA1	1q42	AD	α-actina scheletrica
	SEPN1	1p36	AR	Selenoproteina N1
	TPM3	1q2	AD	α-tropomyosina,
	TPM2	9q13	AD	β-tropomyosina
	RYR1	19q13	AR	Recettore della rianodina
	MYH7	14q11	AD	Catena pesante della miosina beta
Altre miopatie congenite				
Miopatia a corpi ialini	*MYH7*	14q11	AD	Slow/β-cardiaca miosina a catena pesante
Miopatia cap	*TPM2*	9q13	AD	β-tropomiosina
	TPM3	1q2	AD	α-tropomiosina
	ACTA1	1q42	AD	α-actina scheletrica
Miopatia con corpi riducenti	*FHL1*	Xq26	XLD/R	Proteina con dominio "four and a half lim"
Miopatia con aggregati tubulari	*STIM1*	11p15	AD	Molecola di interazione stromale

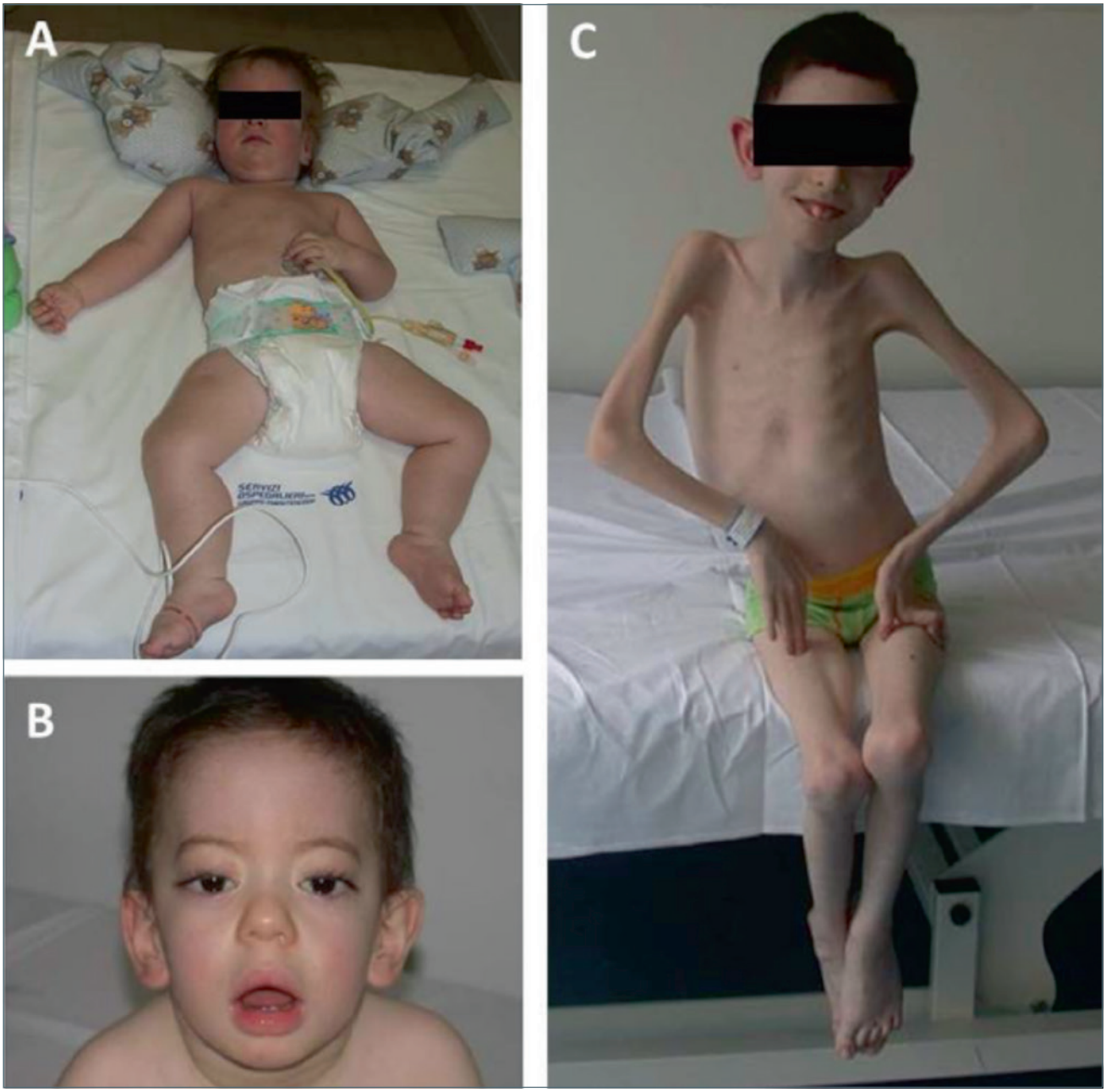


Fig. 1. A. Classica presentazione del "floppy infant" in un caso di miopatia miotubulare. Il bimbo assume postura batraciana, con gli arti abbandonati sul letto. Da notare il paziente è portatore di PEG per difficoltà nella masticazione e deglutizione. **B.** Tipico aspetto di "facies miopatica" in un caso di miopatia strutturata con ptosi, bocca a tenda, mantenuta semiaperta. **C.** Caso di miopatia nemalinica. Con la crescita si posso sviluppare retrazioni, scoliosi e diffusa atrofia muscolare.

restrittive) sono state descritte in associazione ad alcuni rari sottotipi di miopatia centronucleare e minicores. Alterazioni strutturali del sistema nervoso centrale e dei nervi periferici sono generalmente assenti anche se nella maggior parte dei bambini con miopatie congenite risultano ridotti od assenti i riflessi tendinei profondi. Solitamente non è presente un coinvolgimento cognitivo.

MIOPATIA NEMALINICA

La miopatia nemalinica si definisce per la presenza nelle fibre muscolari scheletriche di piccoli aggregati a forma di bastoncello (dal greco: *nema* che significa bastoncello) o *rods* ben visibili con la colorazione tricromica di Gomori, composti prevalentemente da

alfa-actinina, actina e altri filamenti della stria Z [3]. L'incidenza di questa forma è stimata su 1 caso su 50.000 nati vivi, ma la malattia potrebbe essere più diffusa in alcune popolazioni (ad esempio gli ebrei Ashkenazi o le comunità Amish).

Clinica

Lo spettro clinico della miopatia nemalinica, anche se associata allo stesso gene, è abbastanza ampio e può variare da forme lievi a forme severe [5]. L'età d'esordio varia dalla nascita fino all'età adulta. A seconda dell'esordio e della gravità del coinvolgimento motorio e respiratorio sono classicamente descritte diverse forme: 1) forma congenita severa; 2) forma congenita intermedia; 3) forma tipica; 4) forma infantile; 5) forma dell'adulto; 6) altre forme inusuali associate a oftalmoplegia o cardiomiopatia.
Nelle forme gravi ad esordio neonatale, che rappresentano circa il 16% di tutti i casi, i bambini sono ipostenici, ipotonici dalla nascita ed hanno difficoltà di suzione e di deglutizione. A volte tra le manifestazioni può essere presente artrogriposi ed una cardiomiopatia dilatativa. L'insufficienza respiratoria o polmonite ab ingestis generalmente possono condurre al decesso nelle prime settimane e nei primi mesi di vita.
La forma più comune ha tuttavia un quadro meno grave con andamento lentamente progressivo, e la debolezza si presenta a livello degli arti, del tronco e dei muscoli facciali. L'adattamento alla vita extrauterina è adeguato ma vi è un ritardo nelle acquisizione delle tappe motorie. L'ipotonia muscolare è sempre presente durante il primo anno di vita. La debolezza della muscolatura del capocomporta dismorfismi facciali (viso allungato, palato ogivale e labbro superiore a tendina), disartria e disfagia. I pazienti sviluppano contratture muscolari epiedi cavi,ma la maggior parte dei bambini affetti da questa forma di miopatia mantengono la capacità di deambulare. Il decorso della malattia è fondamentalmente stazionario o lentamente progressivo, ed il coinvolgimento respiratorio è il principale fattore prognostico [6].
Infine, la forma ad esordio nell'età adulta (che di solito è progressiva e colpisce il 4% di tutti gli individui affetti da miopatia nemalinica) è caratterizzata da debolezza respiratoria, ipostenia diffusa agli arti insorta nella seconda decade di vita ed occasionalmente dolori articolari. La forma ad esordio nell'età adulta è quella soggetta a maggiore eterogeneità clinica.
Il CK sierico è normale o lievemente aumentato, e lo studio elettromiografico mostra generalmente segni miopatici, anche se si possono associare segni neurogeni nei muscoli distali.

Biopsia muscolare

I corpi nemalinici sono tipicamente visibili alla reazione tricromica di Gomori, come dei piccoli bastoncelli rossastri spesso raggruppati alla periferia della fibra. Il numero di fibre con corpi nemalinici è variabile ed anche la loro quantità all'interno della fibra è variabile, ma non vi è una correlazione con la gravità del fenotipo. Alla microscopia elettronica i rods appaiono come strutture elettrondense, a volte bastoncellari od ovalari, e sono costituiti principalmente da a-actinina.

Genetica e nuove forme

I geni classicamente associati a miopatia nemalinica codificano per proteine dei filamenti sottili del sarcomero. La mutazioni più frequenti sono del gene che codifica la nebulina *NEB* (oltre il 50%) con ereditarietà autosomico recessiva,e mutazioni del gene *ACTA1* (circa il 20%) che codifica per la actina alfa 1 [7], a trasmissione autosomica dominante (90%) o recessiva (10%). Altri casi rari sono stati associati a geni dell'alfa-tropomiosina 3 (*TPM3*) [8], della beta-tropomiosina 2 (*TPM2*) [9], della troponina T tipo 1 (*TNNT1*) in popolazioni Amish e ultimamente anche della cofillina 2 (*CFL2*) [10] identificata in 2 famiglie del medio-oriente.
Questa lista è destinata a crescere dal momento che negli ultimi anni sono stati identificati, grazie alle tecnologie di NGS, 4 nuovi geni (*KBTBD13, KLHL40, KLHL41 e LMOD3)* potenzialmente coinvolti in tale forma.

MIOPATIE CON CORES

Le miopatie con "core" sono un gruppo di miopatie congenite caratterizzate istologicamente dalla presenza all'interno delle cellule muscolari di zone ovalari, chiamate appunto "core", con ridotte o assenti attività enzimatiche ossidative, in contrasto con la normale zona circostante. La variabilità di calibro di queste aree (grandi oppure minute) e la loro distribuzione nella biopsia muscolare (singole centrali o multiple),hanno fornito la base per la designazione di due entità distinte: la miopatia central core e la miopatia multiminicore [11 12].
la miopatia central core è definita per la presenza di cores tipicamente centrali e singoli, mentre la miopatia multiminicore è morfologicamente caratterizzata dalla presenza di cores multipli diffusi e di dimensioni ridotte (minicore).
Clinicamente le miopatie con core possono essere molto eterogenee e rappresentano le forme più comuni di miopatie congenite. Tipicamente la miopatia central core ha una ereditarietà autosomica dominante (AD) a penetranza variabile [13]. Nella stessa famiglia possono essere presenti individui con diversa gravità clinica e questa può variare con l'età. Le forme autosomico recessive sono in genere clinicamente più gravi e sono descritti casi gravi con acinesia fetale e artrogriposi congenita [14]. Con l'eccezione di queste forme ad esordio

molto precoce, l'evoluzione è abbastanza benigna. La sintomatologia comprende: ritardo della deambulazione, occasionale interessamento dei muscoli mimici del volto e limitazione della motilità oculare, ptosi palpebrale, ipotonia e debolezza dei muscoli prossimali o assiali tendenzialmente non grave. La funzione respiratoria è solitamente ben conservata. Alcuni pazienti, infine, possono presentare unicamente la suscettibilità all'ipertermia maligna e un aumento dei livelli del CK sierico.
Le caratteristiche cliniche delle miopatie multiminicore sono invece molto variabili ed in parte dipendono dal background genetico [15]. Sono state descritte 4 forme fenotipiche, una forma classica (I), una forma con oftalmoplegia esterna (II), una forma con ipostenia dei cingoli ed artrogriposi (III) ed una forma neonatale grave (IV). Tuttavia è stata riportata una notevole sovrapposizione dei sintomi tra i vari sottogruppi [16]. In tutte queste forme l'esordio in genere è precoce e i livelli di CK sono normali o solo lievemente aumentati. Alcuni pazienti possono presentare mialgie da sforzo. Il fenotipo più comune (forma classica I) presenta una grave ipostenia assiale con scoliosi o rigidità del rachide, torcicollo ed un coinvolgimento respiratorio spesso sproporzionato rispetto alla debolezza muscolare globale. La progressione dei sintomi è generalmente lenta e questi pazienti possono presentare una sovrapposizione clinica con la distrofia muscolare congenita da spina rigida.
Un secondo gruppo di pazienti presenta,accanto al coinvolgimento muscolare, un'oftalmoplegia esterna-parziale o completa;in genere in questo gruppo sono presenti mutazioni del gene *RYR1* [13].
Un terzo e piccolo gruppo di pazienti presenta ipostenia prossimale,tipicamente al cingolo pelvico in caso di mutazioni di *RYR1* od al cingolo scapolare in caso di mutazioni *SEPN1*, con associata artrogriposi.
Infine sono descritti anche casi con esordio neonatale grave; in genere in questo gruppo si riscontrano mutazioni recessive del gene *RYR1* [17].

Biopsia muscolare

I cores sono aree in genere ovalari prive di attività enzimatiche ossidative e possono essere singoli o multipli (multicore e minicore). La microscopia elettronica nelle aree dei cores mostra assenza di mitocondri e di glicogeno, con un grado variabile di distruzione dell'apparato contrattile; a seconda che l'organizzazione del sarcomero sia conservata o meno si distinguono rispettivamente cores strutturati o destrutturati. I cores strutturati sono più frequenti.
Analogamente ai cores, i minicore possono essere dimostrati con le colorazioni per gli enzimi ossidativi (NADH, COX e SDH); in sezione trasversale appaiono spesso solo come irregolarità indistinte della trama o come aree puntiformi prive di colorazione.
Infine va ricordato che cores e minicores sono un reperto aspecifico osservabile in altri contesti, come nella denervazione, in alcune condizioni metaboliche od anche in soggetti sani in seguito a un esercizio fisico eccentrico. È quindi importante sottolineare che la presenza dei cores alla biopsia in assenza di segni clinici non è sufficiente a definire una diagnosi di miopatia con core.

Genetica e nuove forme

La Miopatia Central Coreè classicamente associata a mutazioni sia dominanti che recessive [18] del gene *RYR1* che codifica per il recettore muscolare della rianodina, un canale del reticolo sarcoplasmatico,fondamentale nel rilascio del calcio e nella trasmissione elettro-meccanica del muscolo [19].
La maggior parte delle mutazioni sono puntiformi ed inizialmente venivano localizzate in tre *hot-spot* del canale, ma con la diffusione delle indagini molecolari sono state identificate mutazioni lungo tutta la lunghezza del gene [14].
Mutazioni del gene *RYR1* sono state associate anche ad altre forme di miopatia come le miopatie centro nucleari [20] e le miopatie con disproporzione del calibro fibrale [21]. Infine un difetto del recettore *RYR1* è ritenuto responsabile di una suscettibilità alla ipertermia maligna (MH) [22]. L'ipertemia maligna è una rara ma grave complicanza dell'anestesia che si verifica con fatale aumento della temperatura corporea e contratture tetaniche dei muscoli. Questi pazienti sono clinicamente asintomatici ad eccezione di un modesto aumento dei valori di CK sierico.
Le miopatie multiminicores sono più eterogenee dal punto di vista genetico. Possono essere causate infatti causate sia da mutazioni del gene *RYR1* che da mutazioni del gene *SEPN1* [23]. Questo gene codifica per la selenoproteina N1, un'altra glicoproteina del reticolo sarcoplasmatico.
Mutazioni del gene *SEPN1* sono anche responsabili di unaforma di distrofia congenita caratterizzata da marcata rigidità del rachide (*Rigid Spine Muscular Dystrophy* – RSMD) ed i pazienti con miopatia multiminicore da difetto di *SEPN1* possono presentare caratteristiche cliniche in parte sovrapponibili ai pazienti con RSMD, come appunto la rigidità del rachide ad esordio precoce e l'insufficienza respiratoria [23].
Recentemente in due famiglie con biopsia muscolare suggestiva di minicores sono state descritte mutazioni dominanti del gene *MYH7*, che codifica per la catena pesante della miosina lenta Si stima che circa il 50% delle miopatie con cores non sia stato ancora identificato un difetto genetico [24].

MIOPATIA MIOTUBULARE E CENTRONUCLEARE

La caratteristica patognomica di queste forme è la presenza di nuclei localizzati all'interno della fibrocellula muscolare, spesso esattamente al centro della stessa, che si presentano di dimensioni maggiori ed aspetto vescicoloso, ricordando pertanto i miotubi, da cui il nome anche di miopatia miotubulare [25].
I termini di miopatia miotubulare e centronucleareerano usati indistintamente e la prima classificazione era basata sull'età di esordio e sulla gravità clinica. Venivano descritte quindi forme gravi neonatali che si presentavano esclusivamente dei maschi e forme ad esordio in adolescenza con ipostenia moderata-lieve [26].
Al momento attuale si considera più esatto utilizzare il termine di miopatia miotubulare per la forma legata al cromosoma X (XLMTM) edil termine centronucleare per le forma a trasmissione dominante o più raramente recessiva [27].
In accordo con la ereditarietà della malattia e la presentazione clinica sono state individuate tre forme: 1) la forma miotubulare X-linked (XLMTM); 2) la formacentronucleare autosomico dominante o sporadica; 3) le forme centronucleari autosomiche recessive. Tuttavia numerosi casi sporadici e forme familiari di miopatia centronucleare non sono ancora stati geneticamente determinati, implicando l'esistenza di altri geni coinvolti.
La forma X-linked è stata associata a mutazioni del gene *MTM1*, che codifica per la miotubularina, una fosfatasi PI3P (fosfatidilinositolo 3 fosfato) di 603 aminoacidi. È una proteina nucleare ubiquitaria coinvolta nella trasduzione dei segnali tra nucleo e citoplasma, ed è probabilmente correlata alla differenziazione ed alla maturazione cellulare [28].

Miopatia miotubulare (XLMTM)

È una forma grave che colpisce i neonati maschi, in cui i primi sintomi possono comparire già nella vita intrauterina, con polidramnios e riduzione dei movimenti fetali. I soggetti malati si presentano alla nascita con ipotonia e insufficienza respiratoria. Può essere presente anche un'artrogriposi multipla con malformazioni del rachide e della gabbia toracica. La disfagia è importante e spesso è necessario l'uso del sondino naso-gastrico per l'alimentazione. Comuni sono la limitazione della motilità oculare con ptosi palpebrale. I pazienti affetti sono spesso macrosomici e possono avere altre malformazioni come la stenosi pilorica, ernie inguinali e criptorchidismo. Il decesso generalmente avviene precocemente durante il primo anno di vita per insufficienza respiratoria o broncopolmonite ab ingestis. Solamente una piccola percentuale raggiunge l'adolescenza o l'età adulta, e questi casi necessitano ventilazione meccanica assistita e di gastrostomia per l'alimentazione [29].
In anamnesi si può avere una storia familiare di aborti ripetuti e di abortività spontanea di feti maschi nella storia del ramo materno. Non sono riportati casi di cardiomiopatia o difetti di conduzione od aritmie in pazienti con difetti del gene *MTM1* [30].
L'incidenza della miopatia miotubulare è stimata in circa due casi su 100.000 nati maschi [31].
Le donne portatrici di miopatia miotubularesono in genere asintomatiche o possono occasionalmente presentare durante l'infanzia una debolezza lievemente progressiva a carico dei cingoli ed una ipomimia. Sembra che la presenza di un quadro muscolare in queste pazienti portatrici sia legata a un difetto dell'inattivazione del cromosoma X [32].
Nelle rare portatrici pauci-sintomatiche la biopsia non assume aspetto miotubulare, ma sono invece presenti delle alterazioni peculiari, definite fibre a collana [33].

Biopsia

Il quadro istopatologico principale della miopatia miotubulare è caratterizzato dalla presenza di voluminosi nuclei centrali. I nuclei assumono un aspetto vescicoloso e talora occupano l'intero citoplasma della fibra (Fig. 2).
Nelle donne portatrici di miotubularinasono descritte delle alterazioni istopatologiche tipiche, soprannominate "fibre a collana".

Miopatia centronucleare

Le miopatie centronucleari hanno un esordio più tardivo, nell'infanzia o nella prima vita adulta e sono associate ad una maggiore eterogeneità genetica. L'esordio infantile è subdolo e si manifesta con ipotonia, debolezza muscolare distale/prossimale, deformità della gabbia toracica con eventuale insufficienza respiratoria, ptosi palpebrale, oftalmoparesi e debolezza della muscolatura mimica con dismorfismi facciali; le tappe di acquisizione dello sviluppo motorio sono raggiunte ma in ritardo.
Nella forma ad insorgenza in età adulta si dimostra debolezza prossimale muscolare moderata, ma sono meno costanti la ptosi palpebrale e la limitazione della motilità oculare estrinseca. L'ipostenia non è mai grave, la progressione della malattia è lenta e l'aspettativa di vita risulta essere normale, pur essendo possibile la perdita della capacità deambulatoria dopo i 50 anni.
Le miopatie centro nucleari dominanti sono associate a mutazioni del gene *DNM2*, che codifica per la dinamina 2 [34], una GTPasi coinvolta nei meccanismi di endocitosi e di trasporto di organelli lungo la rete dei microtubuli, con un ruolo fondamentale anche nella formazione del centrosoma [35].
Il gene *BIN1* sul cromosoma 2q14 è invece responsabile di una forma autosomico recessiva e più recentemente è stato anche associato ad una forma autosomico dominante o sporadica dell'adulto [36].

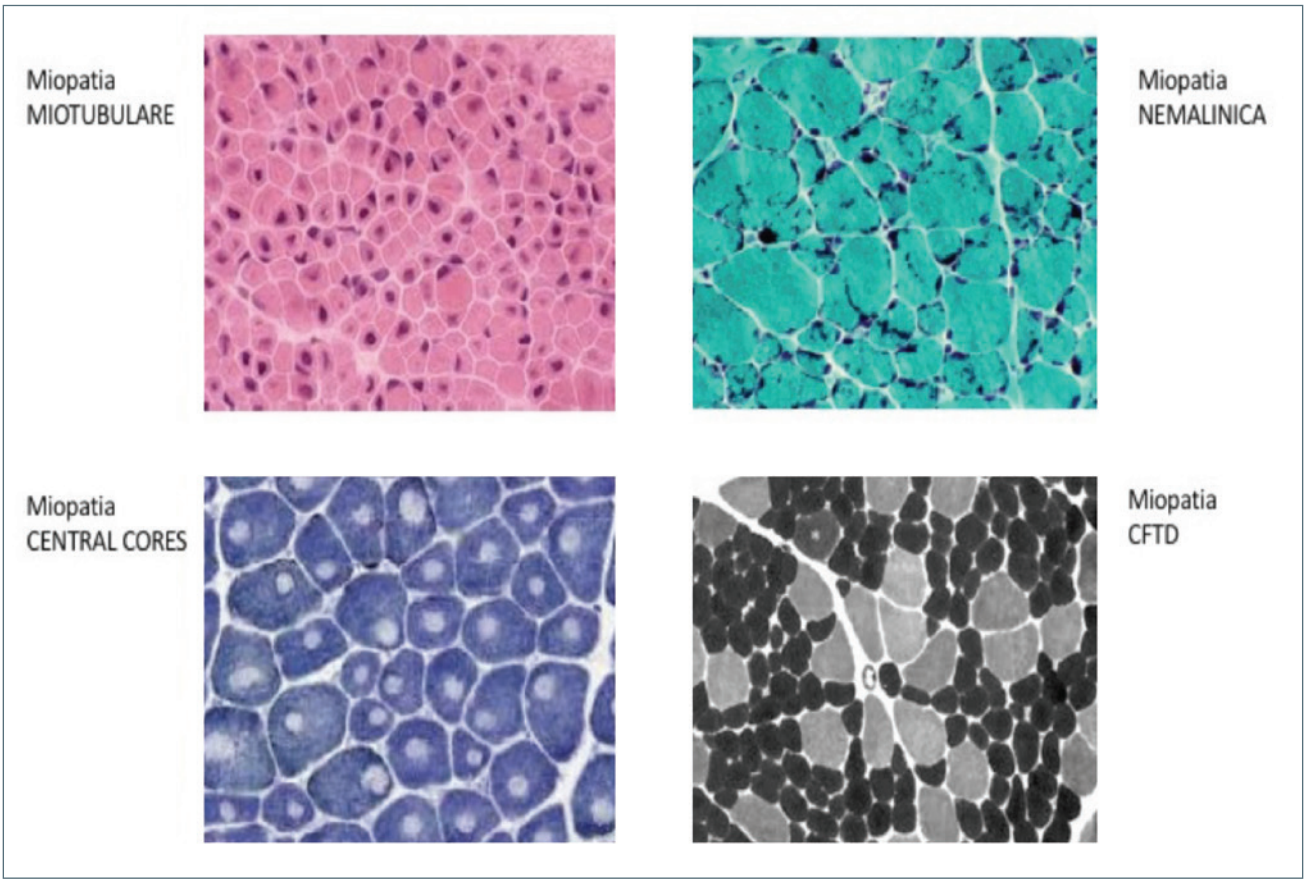


Fig. 2. Quadri istopatologici delle principali miopatie congenite.

Grazie a tecniche di sequenziamento di nuova generazione in ulteriori pazienti con miopatia centronucleare sono state identificate mutazioni della titina (*TTN*), una voluminosa proteina sarcomerica [37]. Questi casi hanno un esordio molto precoce e possono presentare cardiopatia.

MIOPATIE CONGENITE DA DISPROPORZIONE DELLE FIBRE (CFTD)

La caratteristica istopatologica che ha dato nome a questa forma è una disproporzione del calibro delle fibre, tale per cui le fibre del tipo 1 (fibre lente) sono significativamente più piccole delle fibre del tipo 2 (fibre veloci) (Fig. 2).
La prima descrizione di questo quadro venne fatta dal Brooke nel 1973 [38],che notò questa disproporzione del calibro tra i due istotipi fibrali, in assenza di altre alterazioni significative alla biopsia muscolare, in un gruppo di 14 pazienti con una ipotonia e ipostenia muscolare di grado moderato-lieve.

Genetica

La causa più comune di CFTD è rappresentata da mutazioni del gene per l'alfa tropomiosina 3 (*TPM3*) a trasmissione autosomica dominante o recessiva [39]. La mutazione *TPM3* provoca in quasi tutti gli affetti una forma lieve di malattia. I pazienti, infatti, non perdono la capacità di deambulare fino all'età adulta.
Mutazioni recessive del gene *RYR1* rappresentano la seconda causa più comune di CFTD (circa 20% dei pazienti). Un quadro di disproporzione di dimensione marcata di fibre (maggiore del 50%) alla biopsia muscolare può essere suggestivo di questa forma [39]. Le mutazioni della selenoproteina N (*SEPN1*), alfa-actina (*ACTA1*) e beta-tropomiosina (*TPM2*) sono altre causa di CFTD trasmesse con modalità autosomico recessivo per *SEPN1* o autosomico dominante per *ACTA1*, *TPM2* e *MYH7*.

Caratteristiche cliniche

La maggior parte dei bambini affetti da CFTD si presenta con ipotonia e debolezza muscolare generalizzata di entità da lieve a grave alla nascita od entro il primo anno di vita. I soggetti presentano, inoltre, un ritardo nell'acquisizione delle tappe motorie e pertanto la capacità di

deambulare viene raggiunta in ritardo. Il controllo del capo è comunemente scarso e la debolezza muscolare è più marcata a livello dei cingoli scapolari e pelvici ed a livello facciale. I riflessi osteo-tendinei sono ridotti o assenti. In più del 90% degli individui affetti, la debolezza muscolare è statica; nel resto, di solito, l'evoluzione è lentamente progressiva [39].
Almeno il 30% delle CFTD mostra una significativa ipotonia dei muscoli respiratori, con conseguente deficit del mantice respiratorio; tuttavia, la debolezza muscolare non è sempre correlata con la gravità dell'insufficienza respiratoria. Essa può insorgere a qualsiasi età; alcuni bambini ne sono affetti fin dall'infanzia. Essi presentano già un coinvolgimento respiratorio severo che, tuttavia, non necessariamente predice una cattiva prognosi. Alcuni pazienti, invece, sviluppano un deficit respiratorio più lieve che causa ipossia ed ipercapnia notturna con conseguenti sintomi come cefalee mattutine, stanchezza diurna, diminuzione dell'appetito e del peso, disturbi del sonno e frequenti infezioni polmonari.
La disfagia si verifica in quasi il 30% dei bambini con CFTD. La masticazione e la deglutizione difficoltosa possono provocare aspirazione delle secrezioni con conseguente polmonite ab ingestis. Si possono tipicamente osservare affollamento dentale e palato ogivale, come in altre miopatie congenite. I neonati con grave debolezza bulbare possono avere problemi di alimentazione che richiedono un intervento (alimentazione enterale, e/o gastrostomia) se i sintomi persistono oltre i primi mesi di vita. I problemi di alimentazione più lievi spesso si risolvono nel tempo.
Le contratture possono essere presenti alla nascita o verificarsi in individui più anziani per una diminuita mobilità secondaria all'ipotonia muscolare. Contratture delle caviglie, dita, fianchi, gomiti e ginocchia si verificano in circa il 25% dei bambini colpiti. La lussazione congenita dell'anca ed il piede torto equino possono essere presenti. L'ipotonia e l'ipotrofia dei muscoli paravertebrali provoca rotazioni di corpi vertebrali causando scoliosi, cifoscoliosi e lordosi nel 25% o più dei casi. Le contratture e le anormalità della colonna vertebrale non sono necessariamente associati ad un aumento della gravità della malattia.

ALTRE FORME DI MIOPATIE CONGENITE

Miopatia da accumulo di miosina o con corpi ialini

È una miopatia congenita rara, con meno di trenta casi riportati in letteratura. Le inclusioni per via della apparente struttura al microscopio ottico, furono inizialmente chiamatecorpi ialini [40]. Successivamente si scoprì che le inclusioni erano costituite principalmente da catene pesanti di miosina da cui ne derivò il termine "myosin storage myopathy". La base genetica di questa miopatia è stata recentemente identificata nella mutazione nella regione C-terminale (esone 35-40) del gene *MYH7* con ereditarietà autosomica dominante o per mutazioni *de novo*.

Miopatia cap

La miopatia "cap" è una miopatia congenita molto rara descritta ad oggi solo sedici casi sono stati riportati [41]. Istopatologicamente si distingue per la presenza di un'area subsarcolemmaledi forma triangolare ben demarcata che si colora di viola-verdastro o bluastro alla tricromica di Gomori.
La malattia ha esordio alla nascita o durante l'infanzia; la sua evoluzione è lenta. Si manifesta con ipostenia e ipotrofia dei muscoli assiali e prossimali, facies miopatica allungata con palato ogivale, scoliosi e difficoltà respiratorie.
In molti dei pazienti non è presente una storia familiare per la patologia; infatti essa è determinata da una mutazione de novo, con ereditarietà a trasmissione autosomica dominante. I geni coinvolti sono in ordine di frequenza la alfa-actina (*ACTA1*), beta-tropomiosina (*TPM2*) e alfa-tropomiosina (*TPM3*).

Miopatia a corpi riducenti

Questa forma è stata descritta circa 40 anni fa da Brooke e Dubovitz. Nel 2008 è stato identificato il gene responsabile *FHL1* [42] che codifica per una proteina con un dominio *zinc finger*, il cui ruolo patogenetico è ancora poco noto. È una forma *X-linked*, in genere abbastanza grave e progressiva se esordisce precocemente (nel primo anno di vita, ma non congenito) oppure più lieve se ad esordio adulto [42].

Miopatia con aggregati tubulari

Gli aggregati tubulari sono un'alterazione istopatologica comune a diverse patologie muscolari e si caratterizzano per la presenza di aggregati formati da tubuli costituiti da una o due membrane. Questi aggregati si colorano intensamente con la reazione tricromica di Gomori e con la NADH suggerendo un'origine dal reticolo sarcoplasmatico. Recentemente mutazioni del gene *STIM1*, che codifica uno dei principali recettori per il calcio del reticolo sarcoplasmatico, sono state identificate in alcuni pazienti affetti da miopatie con aggregati tubulari. Lo spettro fenotipico di questi casi è molto ampio e va da forme ad esordio nell'infanzia con ipostenia progressiva, ad adulti con quadro lieve di CK elevato e mialgie [43].

IPOTESI PATOGENETICHE

Il numero crescente di geni coinvolti nella patogenesi

delle miopatie congenite, se da un lato complica i confini tra le varie forme, dall'altro consente di mettere a fuoco alcuni dei meccanismi patogenetici alla base di queste patologie. In particolare in un recente lavoro vengono identificati e caratterizzati 4 subcompartimenti e meccanismi cellulari cardini selettivamente coinvolti [44].

Difetti del turnover della membrana e dei fosfatidil inositoli

I meccanismi di rimodellamento della membrana sono alla base di numerosi meccanismi biologici come l'esocitosi, il trasporto intracellulare, la formazione di vescicole sinaptiche, l'autofagia e la ricostituzione del sarcolemma. Questi processi coinvolgono proteine con funzione regolatoria sui lipidi e sull'organizzazione del citoscheletro. Infatti molti dei geni con queste funzioni sono coinvolti nelle miopatie congenite e sono stati trovati mutati nelle forme centronucleari in cui vi è una alterata localizzazione del nucleo, che invece che alla periferia si trova al centro della fibra (BIN1, *DNM2*, *MTM1* e recentemente SPEG). *MTM1* ad esempio fa parte della famiglia delle miotubularine, ed è una potente fosfatasi del principale fosfatidil inositolo (PI3P) con un effetto sui processi di traffico subcellulare e riparo delle membrane [45]. Studi in mutanti Drosofila per *MTM1*, hanno dimostrato che è fondamentale per le funzioni endolisosomiali, rimodellamento dell'actina ed adesione alle miofibre mediate dall'integrina. Un'ablazione di *MTM1* infatti risulta in accumulo di integrina, di endosomi e PI3P, che può essere ridotto dalla deplezione di alcune classi di PIP3 chinasi [46].

Difetti dell'accoppiamento eccitazione-contrazione (tubulo T e reticolo sarcoplasmatico)

Le giunzioni tra reticolo sarcoplasmaticoe tubulo T (triadi) svolgono un ruolo cardine nella modulazione del rilascio di ioni calcio necessari per la contrazione ed è normale che perturbazioni in proteine strutturali e funzionali di questo compartimento diano luogo a patologie muscolari.
Tra queste è presente appunto il canale del calcio RyR1, localizzato nella membrana del reticolo sarcoplasmatico ed in stretto contatto con il recettore voltaggio sensibile diidropiridinicoDHRP localizzato nella membrane del tubulo T. Le differenti forme di miopatie associate a mutazioni dominanti o recessive del gene *RYR1* sono infatti causate da un alterata funzione di questo canale, con una ridotta od aumentatatrasmissionedegli ioni calcio o per instabilità del canale, come ipotizzato per le mutazioni dominanti, oppure per riduzione o delocalizzazione di *RYR1* come ipotizzato invece per le mutazioni recessive [47].
Difetti delle funzioni del reticolo sarcoplsmatico, del metabolismo del calcio e della morfologia delle triadi sono stati riscontrati anche in altre miopatie congenite come nel deficit di nebulina [48], nella mioaptiacentronucleare da deficit di *CCDC78,* in cui sono appunto presenti dei cores,e nella forma con aggregati tubulari associata a mutazioni del gene *STIM1*, che codifica per un sensore sarcoplasmatico del calcio [49].

Difetti di molecole dell'apparato contrattile

Difetti delle funzioni del sarcomero e della generazione della forza contrattile sono tra le conseguenze più ovvie che derivano da difetti in geni codificanti proteine dei filamenti sottili o proteine regolatrici o che interagiscono con queste.
Il principale componente dei filamenti sottili è la alfa-actina, codificata dal gene *ACTA1*. Oltre 200 mutazioni di questo gene sono state descritte in diverse forme di miopatie congenite con diverse alterazioni istopatologiche (corpi nemalinici, disproporzione fibrale, cap e cores). La maggior parte di queste mutazioni sono missenso dominanti e rimane ancora poco chiaro come possano determinare una riduzione della forza contrattile. Alcune mutazioni come la p.Asp292Val risiedono nella regione di legame allatropomiosina mentre altre in regioni di legame al calcio come ad esempio la p.Lys328Asn, che invece di causare una miopatia con ipotonia determina nei pazienti rigidità e contratture [50].
Un altro esempio altamente studiato di questa categoria sono le miopatie da difetto di nebulina. Diversi modelli animali sia su topo che zebrafish hanno dimostrato marcate alterazioni della struttura e funzione delle miofibrille con difetto della capacità di generare forza contrattile [51].
Altre molecole fondamentali per la normale funzione dell'apparato contrattile sono le tropomiosine che servono da regolatori del legame actina-miosina, tramite la modulazione della sensibilità al calcio [52] e le stesse miosine.In particolare la *MYH7* associata a forme di miopatie a corpi ialini e a miopatie multiminicore sembra essere più comune di quanto precedentemente ipotizzato [53].

Difetti della sintesi e degradazione delle proteine

La massa muscolare è determinata dall'equilibrio tra i processi di sintesi proteica e degradazione delle proteine. Il turnover delle proteine in particolare è regolato da 2 diversi meccanismi: il sistema ubiquitina-proteasoma e autofagia-lisosomi.
Diverse molecole responsabili di miopatie congenite sono coinvolte in questi pathways cellulari.
Ad esempio i geni *KBTBD13*, KLHL40e KLHL41mutati in alcune miopatie nemaliniche codificano per le proteine BTB-Kelch che si legano ad altre proteine per formare il complesso E3 ubiquitina ligasi [54].

Un'altra proteina che potrebbe essere coinvolta nel turnover proteico con una funzione di riparo delle proteine danneggiate è la selenoproteina N1 (*SEPN1*). *SEPN1* è una glicoproteina del reticolo che si trova abbondantemente rappresentata nei tessuti fetali e meno del muscolo adulto con un ruolo sia nella omeostasi del calcio che nella protezione delle proteine dallo stress ossidativo, tamponando le specie reattive dell'ossigeno [55].

DIAGNOSI

La diagnosi generica di una miopatia congenita si basa in primo luogo sulla valutazione clinica del bambino per la presenza di ipotonia,spesso associata a lassità ligamentosa, facies miopatica eritardo delle acquisizioni motorie.
Questo quadro è comune anche ad altre patologie neuromuscolari con cui le miopatie congenite si pongono in diagnosi differenziale, come le distrofie muscolari congenite (CMD), la forma congenita di distrofia miotonica, alcune miopatie metaboliche con la Glicogenosi tipi II (Malattia di Pompe), l'atrofia muscolare spinale, e persino alcune patologie non strettamente neuromuscolari come la Sindrome di Prader-Willi.
Alcuni segni clinici però possono essere suggestivi di una miopatia congenita ed aiutare nella diagnosi differenziale come la presenza di una marcata ipostenia dei muscoli mimici od una facies miopatica, la presenza di ptosi od il coinvolgimento della motilità extraoculare.
Altre caratteristiche sono invece poco frequenti nelle miopatie congenite e dovrebbero indirizzare il clinico verso altra diagnosi. Tra queste ovviamente ci sono i segni piramidali, indicativi di sofferenza cerebrale, oppure alterazioni metaboliche come un'acidosi, la presenza di dismorfismi organici ad eccezione della facies miopatica, le fascicolazioni linguali od i tremori suggestivi di una SMA. Anche una lassità legamentosa sproporzionata rispetto al coinvolgimento muscolare è tipica di una patologia del collagene, piuttosto che di una miopatia congenita, anche se alcune forme la lassità è significativa. Un rapido peggioramento clinico è raro nelle miopatie congenite ed analogamente valori di CK particolarmente elevati dovrebbero far escludere una miopatia congenita.
Un'attenta anamnesi familiare può essere utile. In casi dominanti spesso il genitore affetto può riferire di scoliosi e scarse prestazioni motorie.
La biopsia muscolare, con studi istochimici dettagliati, integrati da studi di immunoistochimica e microscopia elettronica, è essenziale per la diagnosi delle miopatie congenite e per indirizzare l'analisi molecolare. Infatti nonostante il numero di pazienti caratterizzati genotipicamente sia in continua crescita e gli sforzi dei ricercatori per delineare una valida correlazione genotipo-fenotipo siano numerosi, è attualmente ancora molto difficile identificare il gene affetto sulla base della sola presentazione clinica.

Il ruolo della RMN muscolare

In questo scenario uno strumento diagnostico promettente è la RMN muscolare degli arti inferiori che in alcuni casi permette di individuare un pattern patognomonico di coinvolgimento muscolare selettivo, in cui cioè alcuni muscoli appaiono precocemente colpiti ed altri invece selettivamente risparmiati [41 56]. Ad esempio in pazienti con mutazioni del gene *RYR1* si trova un pattern di coinvolgimento muscolare caratteristico: il gluteo massimo è il muscolo pelvico più colpito, mentre a livello della coscia, vi è un coinvolgimento selettivo degli adduttori e del vastus lateralis rispetto al retto femorale, e posteriormente del sartorio rispetto gracile [57]. A differenza di *RYR1*, i pazienti con mutazioni in *SEPN1* presentano, a livello della coscia, selettivo coinvolgimento anche del bicipite. Inoltre sono colpiti i muscoli della gamba come il gastrocnemio,i muscoli estensori delle dita dei piedi e dei muscoli peronei [58]. Miopatie associate con le mutazioni in *ACTA1* sono invece caratterizzati da coinvolgimento diffuso dei muscoli della coscia e la parte inferiore della gamba, con maggiore coinvolgimento del sartorio rispetto al gracilis e del soleo rispetto al gastrocnemio [59].
L'alto costo della risonanza magnetica muscolare può quindi essere giustificato dal fatto che la sua capacità di identificare specifici modelli di malattia può aprire la strada a indagini genetiche mirate, riducendo così l'uso di più test di laboratorio. Inoltre, questo esame, essendo non invasivo, può essere ripetuto molte volte senza causare eccessivi disagi ai pazienti e può rivelarsi anche un utile strumento per monitorare l'andamento di una forma ed in futuro eventuali risposte terapeutiche.

Correlazioni genotipo-fenotipo

Se porre un sospetto diagnostico di miopatia congenita può essere agevole, non è facile raggiungere la corretta caratterizzazione genetica. Questo è dovuto al fatto che il legame tra una specifica forma di miopatia congenita, istologicamente definita, e la sua causa genetica non è diretto perché molte forme istologiche sono in realtà causate da difetti in geni diversi (eterogeneità clinica) e perché mutazioni dello stesso gene possono portare a diverse anomalie istopatologiche.
Recentemente un gruppo di esperti sulle miopatie congenite (*International Standard of Care Committee for Congenital Myopathies*) ha lavorato alla definizione di una serie di linee guida per assistere il clinico nell'indirizzare gli esami genetici basandosi su di una attenta

revisione della letteratura ed un questionario per la raccolta delle caratteristiche cliniche salienti in ambito clinico, istopatologico e di RMN muscolare [60].
In particolare le caratteristiche fenotipiche sono state divise in due categorie in base all'età di esordio: esordio neonatale ed infantile e esordio tardivo nel bambino. Una lista di questi indizi diagnostici è schematizzata nella Tabella II.
Gli sforzi di fornire indicatori clinici, istopatologici e di RMN muscolare di una specifica forma sono utili non solo per l'iter diagnostico dalla clinica alla genetica, ma anche per il processo inverso di conferma delle mutazioni genetiche che sempre più vengono identificate dalle analisi molecolari di nuova generazione che forniscono un numero crescente di varianti genetiche il cui significato patogenetico deve essere corroborato dalla presenza di solidi indicatori di malattia.

PROGNOSI E TERAPIA

Uno dei vantaggi nello stabilire la causa genetica di una miopatia congenita è che si può utilizzare la letteratura pubblicata per prevedere la progressione della malattia e pianificare la presa in carico. L'identificazione di mutazioni in geni particolari ha implicazioni sia per la prognosi che per la prevenzione. Ad esempio, il follow up respiratorio è particolarmente importante nei pazienti con mutazioni in *NEB*, *ACTA1*, *SEPN1*, e la prevenzione cardiologica diventa molto più importante del solito nei pazienti con mutazioni *MYH7* o *TPM2*.
Tuttavia, molti pazienti con miopatie congenite rimangono senza diagnosi genetica o perché il test genetico è di difficile accesso o perché il gene-malattia non è ancora stato associato alla forma specifica. Pertanto, è utile fare alcune affermazioni generali sulla presa in carico per i pazienti con miopatie congenite nei quali la causa genetica è sconosciuta.
Un aspetto condiviso da diverse forme genetiche è la tendenza alla compromissione dei muscoli respiratori o per debolezza dei muscoli intercostali o per la deformità a causa della scoliosi. In alcuni casi un'insufficienza respiratoria progressiva si verifica nonostante la forza

Tab. II. Indicatori clinici più suggestivi di una forma di miopatia congenita e possibili diagnosi differenziali.

Esordio nel neonato e primi 2 anni		
Caratteristica clinica	**Forma di miopatia**	**Diagnosi differenziale**
Ipostenia facciale	Nemalinica e centronucleare (*MTM1*, *RYR1*, *DNM2*)	Distrofia miotonica congenita, miastenia congenita
Oftalmoplegia	Centronucleare (*MTM1*,*RYR1*, *DNM2*), multiminicores (*RYR1*)	Miastenia congenita, mitocondriopatie
Ptosi	Centronucleare (*MTM1*,*RYR1*, *DNM2*), multiminicores e central cores	Miastenie congenite, distrofia miotonica congenita
Dismorfismi faciali (facies allungata, palato ogivale, dolicocefalia)	Nemalinica, centronucleare (*MTM1* e *DNM2* grave), forme *RYR1* gravi	Distrofia miotonica
Difetto di suzione e disfagia	Nemalinica, miotubulare, forme *RYR1* gravi	Miastenia congenita, distrofia miotonica, Prader Willi, SMA
Grave insufficienza respiratoria alla nascita	Nemalinica, miotubulare, forme *RYR1* gravi	Distrofia miotonica, SMA, malattia di Pompe
Predominante ipotonia assiale	*RYR1*, *SEPN1*	Laminopatia
Deformità ortopediche	*RYR1*, nemalinica	Collagenopatie, miastenie congenite
Dislocazione dell'anca	*RYR1*	Collagenopatie
Acinesia fetale, atrogriposi multipla	Nemalinica (*ACTA1*, *NEB*, KLHL40), forme *RYR1* gravi	Miastenie congenite, SMA 0,
Piedi torti	Nemaliniche, *RYR1*	Distrofia miotonica, Miastenie congenite
Esordio tardivo nel bambino		
Caratteristica clinica	**Forma di miopatia**	**Diagnosi differenziale**
Scoliosi	*SEPN1*, *RYR1*, nemalinica	Collagenopatie, merosina
Rachide rigido	*SEPN1*, *RYR1*	
Cardiomiopatia	TTN, *MYH7*, raramente *ACTA1*	Malattia di Pompe
Piede cadente, piede cavo	Nemaliniche (*NEB*, *TPM3*, *TPM2*), centronucleare (*DNM2*), *MYH7*	Neuropatia periferica
Ipertermia maligna	Central core, minicore e centronucleare (solo se mutazioni *RYR1*)	
Coinvolgimento respiratorio o ipostenia assiale sproporzionati rispetto alla ipostenia muscolare	*SEPN1*, nemalinica (*NEB*, *TPM3*, *ACTA1*)	Laminopatie, miastenie congenite, malattia di Pompe

degli arti sia conservata; ad esempio bambini ambulanti di appena 3 anni possono presentare inaspettatamente insufficienza respiratoria. L'ipoventilazione notturna appare particolarmente comune nella prima età adulta e, se non trattata, può essere causa di morte improvvisa. Una capacità vitale forzata del sessanta per cento del predetto è una soglia utile al di sotto della quale sono necessari studi che valutino la presenza di ipoventilazione notturna.
Diversi casi clinici e studi su piccole popolazioni sembrano documentare l'efficacia di un beta-2 agonista (salbutamolo) come mezzo per aumentare la resistenza fisica informe di miopatia congenita con affaticabilità precoce; come effetto secondario, questo farmaco favorisce anche la broncodilatazione [61]; purtroppo, tuttavia, dal momento che l'insufficienza respiratoria in queste forme è dovuto all'incapacità dei muscoli inspiratori per espandere la gabbia toracica, il salbutamolo ha scarso effetto in questo senso.
La maggior parte delle anomalie ortopediche sono sufficientemente accessibili al trattamento conservativo o chirurgico. Le malformazioni hanno importanti implicazioni nella gestione dei pazienti con miopatie congenite, che devono essere strettamente monitorati e trattati in tempo. A volte è consigliato un approccio chirurgico precoce della scoliosi grave per conservare al meglio la funzione respiratoria. In casi selezionati la chirurgia della scoliosi può essere eseguita anche prima degli 8 anni con l'uso di barre di crescita. Le contratture dei tendini di Achille si possono sviluppare nei pazienti con coinvolgimento distale ed a volte è necessario un allungamento chirurgico del tendine.
La fisioterapia per mantenere il corretto funzionamento articolare è spesso utile. L'uso di dispositivi plantari o tutori per stabilizzare la deambulazione o consentire il mantenimento della posizione eretta più a lungo possibile è un'opzione per i casi più gravi. È stato infatti dimostrato come la conservazione della deambulazione e della stazione eretta sia in grado di ritardare l'insorgenza della deformità della colonna vertebrale. Non vi è alcuna prova diretta che i pazienti con miopatie congenite possano beneficiare di specifici regimi di esercizio fisioterapico, ma è noto che un regolare esercizio aerobico, come il ciclismo, l'idroterapia, ed il nuoto quando possibile sono vantaggiosi. I pazienti con miopatie congenite sono suscettibili di rischio di osteoporosi e fratture ossee. Il mantenimento di adeguati livelli di vitamina D e l'assunzione di calcio sono consigliati. La valutazione della densità minerale ossea potrà identificare i pazienti a più a rischio di osteopenia.
La cardiomiopatia è raramente associata alle miopatie congenite, ma è un potenziale problema se ci sono mutazioni in alcuni geni. Pertanto può essere prudente eseguire un esame cardiaco con ecocardiogramma od elettrocardiogramma ogni 2-3 anni durante l'infanzia, ed ogni 3-5 anni, durante l'età adulta anche se una causa specifica non viene diagnosticata.
Va tenuto presente che ad eccezione delle forme infantili gravi, una buona parte delle miopatie congenite, e soprattutto le forme ad esordio più tardivo, ha un decorso benigno, stabile o solo lentamente progressivo. Ed anche le forme ad esordio neonatale tendono a stabilizzarsi nel tempo, soprattutto se viene garantita la corretta alimentazione e respirazione anche con misura invasive come la gastrostomia e ventilazione meccanica. Queste forme tuttavia, per la presenza di gravi deformità scheletriche, scoliosi e retrazioni, non hanno una buona prognosi in termini di qualità della vita ed autonomie motorie.

Nuove prospettive di terapia

Con queste premesse non sorprende che le forme più aggressive e fatali come la miopatia miotubulare *X-linked* (XLMTM) sono state oggetto di numerose ricerche di farmaci attivi (e che per alcuni di questi sono in corso dei trial clinici negli Stati Uniti (*https://clinicaltrials.gov/*). Uno di questo prevede l'utilizzo di vettori virali per trasportare all'interno delle cellule muscolari il gene *MTM1* che è mutato nei pazienti affetti. I dati sui pazienti non sono ancora ufficialmente disponibili, ma nei topi ko per *MTM1* e nei modelli canini ci sono risultati incoraggianti per quanto riguarda la sopravvivenza, il fenotipo clinico e anche quello istopatologico con riduzione del numero di centralizzazioni nucleari e riduzione della ipotrofia fibrale. Un altro approccio sperimentale di terapia genetica sempre per la forma XLMTM consiste nella inibire la sintesi genetica di dinamina-2. Questo gene mutato in un'altra forma di miopatia congenita centronuclearecon mutazioni dominati toxic gain of function, sembra avere un effetto peggiorativo anche nella forma XLMTM [62].
Analogamente la modulazione di espressione del gene *MTRM2*, mutato in una forma di neuroptia periferica, si è dimostrato efficace nel recupero dei pahway alteratisecondariamente al difetto di miotubularina [63].
Un altro approccio attivo sul difetto di miotubularina prevede il recupero dell'equilibrio dei fosfatidil inositoli (PI). La *MTM1* è infatti una PI fosfatasi PI che trasformaPI3P in fosfatidil inositolo. Diversi modelli animali XLMTM hanno mostrato un aumento di PI3P come diretta conseguenza della perdita di *MTM1* e ristabilendo i livelli normali di questo importante modulatore di numerose funzioni cellulari si ha una maggiore sopravvivenza nei modelli murini di XLMTM [64].
Appare chiaro quindi chei progressi nella comprensione dei meccanismi patologici molecolari che causano le miopatie congenite hanno permesso l'emergere di strategie terapeutiche mirate a diversi difetti cellulari e diverse aziende farmaceutiche si sono dedicate allo sviluppo

di questi approcci [65]. Nello specifico, ci sono tentativi dimodulare il rilascio di calcio dal reticolo sarcoplasmaticonelleforme di miopatia centronucleare a causa di mutazioni in *RYR1*, utilizzandodantrolene, 5-aminoimmidazolo-4-carbossimmide ribonucleoside,e derivati di 1,4-benzotiazepina. Altri approcci mirano a correggere le anomalie del metabolismo ossidativo(con N-acetilcisteina) o a rafforzare la trasmissione neuromuscolare con inibitori della acetilcolin-esterasi (piridostigmina). Infatti, ci sono diverse evidenze in letteratura che documentano un coinvolgimento della giunzione neuromuscolare in alcune miopatie congenite ed un effetto benefico di farmaci attivi nelle miastenie [66].

Consulenza genetica

Una delle domande più comuni per le famiglie che hanno un bambino con miopatia congenita è la possibilità di avere un altro figlio affetto. Le miopatie congenite possono essere ereditate con modalità sia autosomica dominante, che recessiva od X-linked. Determinare la modalità di trasmissione è a volte molto complesso, perché una mutazione può essere de novo o recessiva. Ad esempio mutazioni nel gene *RYR1* possono agire in modi sia dominanti che recessivi ed alcune mutazioni recessive possono essere difficili da identificare (mutazioni di splicing o mutazioni introniche). Inoltre può essere difficile distinguere mutazioni vere da polimorfismi, ed una penetranza incompleta è comune per alcune mutazioni dominanti. Le forme X-linked sono dovute a mutazione del gene *MTM1* (XLMTM) o *FHL1* nel caso della rarissima miopatia a corpi riducenti. Di solito le donne portatrici sono asintomatiche ma possono mostrare debolezza muscolare probabilmente a causa d'inattivazione della X. Così è importante considerare che una donna con miopatia congenita può essere una portatrice di *MTM1* e trasmetterla ai figli maschi, in cui è spesso una condizione letale. Una caratteristica alterazione morfologica descritta come "fibre a collana" è stata descritte come marcatore istologico delle portatrici manifeste di mutazioni *MTM1*. Quando questo dato non è disponibile è consigliabile comunque per ogni ragazza miopatica in età fertile escludere mutazioni in questo gene.

Bibliografia

1 North KN, Wang CH, Clarke N; International Standard of Care Committee for Congenital Myopathies. *Approach to the diagnosis of congenital myopathies.* Neuromuscul Disord 2014;24:97-116.

2 Dubowitz V, Sewry CA. *Muscle biopsy: a practical approach*. 3rd edition. Edimburgh: Sanders/Elsevier 2007.

3 Fardeau M, Tome F. *Congenital myopathies*. In: Engler AG, Franzini-Armstrong C (eds.). *Myology*. New York: McGraw-Hill 1994, pp. 1487-533.

4 Tubridy N, Fontaine B, Eymard B. *Congenital myopathies and congenital muscular dystrophies.* Curr Opin Neurol 2001;14:575-82.

5 Wallgren-Pettersson C. *70th ENMC international workshop: nemaline myopathy. Naarden,the Netherlands, 11-13 June 1999.* Neuromuscular Disord 2000,10:299-306.

6 Ryan MM, Schnell C, Strickland CD, et al. *Nemaline myopathy: a clinical study of 143 cases.* Ann Neurol 2001;50:312-20.

7 Nowak KJ, Wattanasirichaigoon D, Goebel HH, et al. *Mutations in the skeletal muscle alpha-actin gene in patients with actin myopathy and nemaline myopathy*. Nat Genet 1999;23:208-12.

8 Laing NG, Wilton SD, Akkari PA, et al. *A mutation in the alpha tropomyosin gene TPM3 associated with autosomal dominant nemaline myopathy NEM1*. Nat Genet 1995;9:75-9.

9 Donner K, Ollikainen M, Ridanpaa M, et al. *Mutations in the beta-tropomyosin (TPM2) gene-a rare cause of nemaline myopathy.* Neuromuscul Disord 2002;12:151-8.

10 Fattori F, Fiorillo C, Rodolico C. *Expanding the histopathological spectrum of CFL2-related myopathies.* Clin Genet 2018;93:1234-9.

11 Dubowitz V, Pearse AG. *Oxidative enzyme and phosphorylase in central core disease of muscle.* Lancet 1960;2:23-4.

12 Engel AG, Gomez MR, Groover RV. *Multicore disease. A recently recognized congenital myopathy associated with multifocal degeneration of muscle fibers.* Mayo Clin Proc 1971;46:666-81.

13 Jungbluth H. *Central core disease.* Orphanet J Rare Dis 2007;2:25.

14 Romero NB, Herasse M, Monnier N, et al. *Clinical and histopathological aspects of central core disease associated and non-associated with RYR1 locus.* Acta Myol 2005;24:70-3.

15 Zhou H, Jungbluth H, Sewry CA, et al. *Molecular mechanisms andphenotypic variation in RYR1-related congenital myopathies.* Brain 2007;130:2024-36.

16 Jungbluth H. *Multi-minicore disease*. Orphanet J Rare Dis 2007;2:31.

17 Bharucha-Goebel DX, Santi M, Medne L, et al. *Severe congenital RYR1-associated myopathy: the expanding clinicopathologic and genetic spectrum.* Neurology 2013;80:1584-9.

18 Zhang Y, Chen HS, Khanna VK, et al. *A mutation in the humanryanodine receptor gene associated with central core disease*. Nat Genet 1993;5:46-50.

19 Treves S, Anderson AA, Ducreux S, et al. *Ryanodine receptor 1 mutations, dysregulation of calcium homeostasis and neuromuscular disorders*. Neuromuscul Disord 2005;15:577-87.

20 Bevilacqua JA, Monnier N, Bitoun M, et al. *Recessive RYR1 mutations cause unusual congenital myopathy with prominent nuclear internalization and large areas of myofibrillar disorganization*. Neuropathol Appl Neurobiol 2011;37:271-84.

[21] Clarke NF, Waddell LB, Cooper ST, et al. *Recessive mutations in RYR1 are a common cause of congenital fiber type disproportion.* Hum Mutat 2010;31:E1544-50.

[22] Quane KA, Healy JM, Keating KE, et al. *Mutation in the ryanodine receptor gene in central core disease and malignant hyperthermia.* Nat Genet 1993;5:51-5.

[23] Ferreiro A, Quijano-Roy S, Pichereau C, et al. *Mutations of the selenoprotein N gene, which is implicated in rigid spine muscular dystrophy, cause the classical phenotype of multiminicore disease: reassessing the nosology of early-onset myopathies.* Am J Hum Genet 2002;71:739-49.

[24] Maggi L, Scoto M, Cirak S, et al. *Congenital myopathies--clinical features and frequency of individual subtypes diagnosed overa 5-year period in the United Kingdom.* Neuromuscul Disord 2013;23:195-205.

[25] Spiro AJ, Shy GM, Gonatas NK. *Myotubular myopathy: Persistence of fetal muscle in an adolescent boy.* Arch Neurol 1966;14:1-14.

[26] Fardeau M, Tome F. *Congenital myopathies.* In: Engel AG, Franzini-Armstrong C (eds.). *Myology*. New York: McGraw-Hill 1994, pp. 1500-25.

[27] Romero NB. *Centronuclear myopathies: a widening concept.* Neuromuscul Disord 2010;20:223-8.

[28] Blondeau F, Laporte J, Bodin S, et al. *Myotubularin, a phosphatase deficient in myotubular myopathy, acts on phosphatidylinositol 3-kinase and phosphatidylinositol 3-phosphate pathway.* Hum Mol Genet 2000;9:2223-9.

[29] Merman GE, Finegold M, Zhao W, et al. *Medical complication in long-term survivors with X-linked myotubular myopathy*. J Pediatr 1999;134:206-14.

[30] McEntagart M, Parsons G, Buj-Bello A, et al. *Genotype-phenotype correlations in X-linked myotubular myopathy.* Neuromuscul Disord 2002;12:939-46.

[31] Mendel JL, LaporteJ, Buy Bello A, et al. *X-linked myotubular myopathy.* In: Kapati G (ed.). *Structural and molecular basis of skeletal muscle disease. World Federation of Neurology.* Lawewnce KS: ISN Neurophat Press - Allen Press 2002, p. 1249.

[32] Savarese M, Fiorillo C, Fattori F, et al. *Novel findings associated with MTM1 suggest a higher number of female symptomatic carriers.* Neuromuscul Disord 2016;26:292-9.

[33] Bevilacqua JA, Bitoun M, Biancalana V, et al. *"Necklace" fibers, a new histological marker of late-onset MTM1-related centronuclear myopathy.* Acta Neuropathol 2009;117:283-91.

[34] Bitoun M, Maugenre S, Jeannet PY. *Mutations in dynamin 2 cause dominant centronuclear myopathy.* Nat Genet 2005;37:1207-9.

[35] Durieux AC, Vignaud A, Prudhon B, et al. *A centronuclear myopathy-dynamin 2 mutation impairs skeletal muscle structure and function in mice*. Hum Mol Genet 2010;19:4820-36.

[36] Böhm J, Biancalana V, Malfatti E. *Adult-onset autosomal dominant centronuclear myopathy due to BIN1 mutations.* Brain 2014;137:3160-70.

[37] Fattori F, Maggi L, Bruno C. *Centronuclear myopathies: genotype-phenotype correlation and frequency of defined genetic forms in an Italian cohort.* J Neurol 2015;262:1728-40.

[38] Brooke MH. *Congenital fibre type disproportion.* Excerpta Medics 1973;295:147-59.

[39] Clarke NF. *Congenitalfiber-typedisproportion.* Semin Pediatr Neurol 2011;18:264-71.

[40] Ceuterick C, Martin JJ, Martens C. *Hyaline bodies in skeletal muscle of a patient with a mild chronic nonprogressive congenital myopathy.* Clin Neuropathol 1993;12:79-83.

[41] Cassandrini D, Trovato R, Rubegni A, et al. *Congenital myopathies: clinical phenotypes and new diagnostic tools.* Ital J Pediatr 2017;43:101.

[42] Schessl J, Taratuto AL, Sewry C, et al. *Clinical, histological and genetic characterization of reducing body myopathy caused by mutations in FHL1.* Brain 2009;132:452-64.

[43] Bohm J, Chevessier F, Maues De Paula A, et al. *Constitutive activation of the calcium sensor STIM1 causes tubular-aggregate myopathy.* Am J Hum Genet 2013;92:271-8.

[44] Ravenscroft G, Laing NG, Bönnemann CG. *Pathophysiological concepts in the congenital myopathies: blurring the boundaries, sharpening the focus.* Brain 2015;138:246-68.

[45] Di Paolo G, De Camilli P. *Phosphoinositides in cell regulation and membrane dynamics.* Nature 2006;443:651-7.

[46] Velichkova M, Juan J, Kadandale P, et al. *Drosophila Mtm and class II PI3K coregulate a PI(3)P pool with cortical and endolysosomal functions*. J Cell Biol 2010;190:407-25.

[47] Zhou H, Rokach O, Feng L, et al. *RYR1 deficiency in congenital myopathies disrupts excitation-contraction coupling*. Hum Mutat 2013;34:986-96.

[48] Witt CC, Burkart C, Labeit D, et al. *Nebulin regulates thin filament length, contractility, and Z-disk structure in vivo.* EMBO J 2006;25:3843-55.

[49] Bohm J, Chevessier F, Maues De Paula A, et al. *Constitutive activation of the calcium sensor STIM1 causes tubular-aggregate myopathy.* Am J Hum Genet 2013ª;92:271-8.

[50] Jain RK, Jayawant S, Squier W, et al. *Nemaline myopathy with stiffness and hypertonia associated with an ACTA1 mutation*. Neurology 2012;78:1100-3.

[51] Telfer WR, Nelson DD, Waugh T, et al. *Neb: a zebrafish model of nemaline myopathy due to nebulin mutation.* Dis Model Mech 2012;5:389-96.

[52] Ottenheijm CA, Lawlor MW, Stienen GJ, et al. *Changes in cross-bridge cycling underlie muscle weakness in patients with tropomyosin 3-based myopathy.* Hum Mol Genet 2011;20:2015-25.

[53] Clarke NF, Amburgey K, Teener J, et al. *A novel mutation expands the genetic and clinical spectrum of MYH7-related myopathies.* Neuromuscul Disord 2013;23:432-6.

[54] Gupta VA, Ravenscroft G, Shaheen R, et al. *Identification of KLHL41 mutations implicates BTB-kelch-mediated ubiquitination as an alternate pathway to myofibrillar disruption in nemaline myopathy.* Am J Hum Genet 2013;93:1108-17.

[55] Castets P, Lescure A, Guicheney P, et al. *Selenoprotein N*

in skeletal muscle: from diseases to function. J Mol Med 2012;90:1095-107.

56 Quijano-Roy S, Carlier RY, Fischer D. *Muscle imaging in congenital myopathies.* Semin Pediatr Neurol 2011;18:221-9.

57 Klein A, Jungbluth H, Clement E, et al. *Muscle magnetic resonance imaging in congenital myopathies due to ryanodine receptor type 1 gene mutations.* Arch Neurol 2011;68:1171-9.

58 Hankiewicz K, Carlier RY, Lazaro L, et al. *Whole body muscle MRI in SEPN1-related myopathy shows a homogeneous and recognizable pattern.* Muscle Nerve 2015;52:728-35.

59 Castiglioni C, Cassandrini D, Fattori F, et al. *Muscle magnetic resonance imaging and histopathology in ACTA1-related congenital nemaline myopathy.* Muscle Nerve 2014;50:1011-6.

60 North KN, Wang CH, Clarke N; International Standard of Care Committee for Congenital Myopathies. *Approach to the diagnosis of congenital myopathies.* Neuromuscul Disord 2014;24:97-116.

61 Messina S, Hartley L, Main M, et al. *Pilot trial of salbutamol in central core and multi-minicore diseases*. Neuropediatrics 2004;35:262-6.

62 Cowling BS, Chevremont T, Prokic I, et al. *Reducing dynamin 2 expression rescues X-linked centronuclear myopathy.* J Clin Invest 2014;124:1350-63.

63 Raess MA, Cowling BS, Bertazzi DL, et al. *Expression of the neuropathy-associated MTMR2 gene rescues MTM1-associated myopathy.* Hum Mol Genet 2017;26:3736-48.

64 Sabha N, Volpatti JR, Gonorazky H, et al. *PIK3C2B inhibition improves function and prolongs survival in myotubular myopathy animal models*. J Clin Invest 2016;126:3613-25.

65 Tasfaout H, Cowling BS, Laporte J. *Centronuclear myopathies under attack: a plethora of therapeutic targets.* J Neuromuscul Dis 2018;5:387-406.

66 Robb SA, Sewry CA, Dowling JJ, et al. *Impaired neuromuscular transmission and response to acetylcholinesterase inhibitors in centronuclear myopathies.* Neuromuscul Disord 2011;21:379-86.

Sindromi miasteniche congenite

Congenital myasthenic syndromes

C. Rodolico, C. Bonanno

Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Messina

Riassunto

Le sindromi miosteniche congenite (CMS) sono un gruppo di disordini ereditari eterogenei causati da mutazioni nei geni che codificano per delle proteine essenziali per l'integrità della trasmissione neuromuscolare. I CMS sono caratterizzati da debolezza muscolare e afffaticabilità (distretto dei muscoli oculari, bulbari, degli arti) che generalmente peggiora con lo sforzo fisico. L'esordio è di solito alla nascita o nella prima infanzia; raramente, i sintomi possono presentarsi successivamente. A seconda del ruolo nella rete di giunzione neuromuscolare della proteina mutata, i CMS sono classificati in sindromi pre-sinaptiche, sinaptiche e post-sinaptiche. Una recente revisione di questa classificazione ha aggiunto il CMS a causa di difetti congeniti della glicosilazione in cui la giunzione neuromuscolare è compromessa da una combinazione di anomalie pre- e post-sinaptiche. Un primo passo nella diagnosi di un CMS può essere fatto sulla base dell'esordio alla nascita alla prima infanzia, debolezza e affaticabilità che colpiscono soprattutto i muscoli oculari e altri muscoli cranici, una anamnesi familiare positiva e un decrement della risposta all'EMG o un EMG a fibra singola anomalo. Il trattamento varia in base al sottotipo. I farmaci comunemente usati nel CMS sono inibitori dell'AChE come la piridostigmina, la 3,4-diamminopiridina, la fluoxetina, la chinidina e i β2 agonisti del recettore adrenergico come efedrina e salbutamolo.

Parole chiave: Miastenia congenita, EMG, Terapia

Summary

Congenital myasthenic syndromes (CMS) are a group of heterogeneous inherited disorders caused by mutations in genes encoding proteins, essential for the integrity of neuromuscular transmission. CMS are characterized by fatigable muscle weakness (ocular, bulbar, limb muscles district) that typically worsens with physical exertion. The onset is usually at birth or in early childhood; rarely, symptoms may present later. Depending on the role in the neuromuscular junction network of the mutated protein CMS are classified in presynaptic, synaptic and postsynaptic syndromes. A recent review of this classification added the CMS due to congenital defects of glycosylation in which the neuromuscular junction is compromised by a combination of pre- and postsynaptic abnormalities. A first step in diagnosis of a CMS can be made on the basis of onset at birth to early childhood, fatigable weakness affecting especially the ocular and other cranial muscles, a positive family history, and a decremental EMG response or an abnormal single-fiber EMG.

Treatment varies by subtype. Drugs commonly used in CMS are AChE inhibitors such as pyridostigmine, 3,4-diaminopyridine, fluoxetine, quinidine and β2 adrenergic receptor agonists such as ephedrine and salbutamol.

Key words: Congenital myasthenia, EMG, Treatment

Le sindromi miasteniche congenite (CMS) sono un gruppo eterogeneo di malattie neuromuscolari rare (prevalenza stimata intorno a 1 su 500.000 in Europa) [1] determinate da mutazioni a carico dei geni che codificano per varie proteine espresse a livello della giunzione neuromuscolare (GNM). Tali alterazioni modificano, attraverso uno o più meccanismi, il margine di sicurezza del potenziale della giunzione neuromuscolare che, in condizioni di normalità, ne garantisce il corretto funzionamento. Il margine di sicurezza della GNM è infatti definito come la differenza tra la depolarizzazione postsinaptica causata dal potenziale di placca e la depolarizzazione richiesta per attivare i canali post-sinaptici del sodio voltaggio-dipendenti che determinano il propagarsi del potenziale d'azione nella fibra muscolare e dunque una efficace contrazione muscolare. L'ampiezza del potenziale di placca dipende dal numero di molecole di Acetilcolina (ACh) presenti in ciascuna vescicola sinaptica, dal numero di vescicole rilasciate nel vallo sinaptico e dall'efficacia delle molecole di ACh rilasciate.

CORRISPONDENZA

Carmelo Rodolico, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale, Università degli Studi di Messina - E-mail: crodolico@unime.it

L'efficacia delle molecole di Acetilcolina è a sua volta garantita da un corretto funzionamento dei suoi recettori a livello della membrana post-sinaptica (AChR) e dalla presenza dell'enzima deputato allo smaltimento e alla ricaptazione a livello sinaptico delle molecole di ACh, l'acetilcolinesterasi.
Nelle CMS l'equilibrio di questo complesso meccanismo a livello della GNM viene dunque modificato rendendo la trasmissione neuromuscolare inefficace e determinando, come effetto ultimo, affaticamento muscolare e debolezza muscolare di grado più o meno severo.
Questa breve premessa è propedeutica alla comprensione dei meccanismi che stanno alla base di queste malattie e la loro classificazione.

CLASSIFICAZIONE

Le CMS sono state riconosciute come entità clinica distinta dalle miastenie autoimmuni nel 1970. Sono tutte trasmesse con modalità autosomica recessiva a eccezione della forma da canale ionico lento nella quale l'ereditarietà è di tipo autosomico dominante. Le forme di più frequente riscontro sono quelle legate a mutazioni dei geni che codificano per le subunità del recettore per l'ACh.
La classificazione delle CMS si basa sulla localizzazione della proteina codificata dal gene mutato, distinguendo forme pre-sinaptiche, sinaptiche e post-sinaptiche.
Tuttavia, esiste una classificazione più attuale, che tiene conto anche delle forme di CMS causate da deficit della glicosilazione proteica, di più recente descrizione, che tiene conto di queste ultime identificandole come forme da difetto dello sviluppo e dell'efficacia di placca [2].
Pertanto, è possibile distinguere:

- forme dovute a difetti pre-sinaptici (difetti nella sintesi di acetilcolina, da scarsità di vescicole pre-sinaptiche, miastenie congenite simil-sindrome di Lambert-Eaton);
- forme dovute a difetti sinaptici (deficit di acetilcolinesterasi, da alterazioni a carico della porzione dell'enzima nota come Col-Q);
- forme dovute a difetti post sinaptici, che costituiscono il gruppo più numeroso ed eterogeneo, e comprende le forme dovute ad anomalie cinetiche dei recettori per l'acetilcolina (sindrome del canale ionico lento, sindrome del canale veloce), le forme legate alla presenza di alterati recettori per l'acetilcolina (anomalie delle sub-unità dei canali del sodio), le forme legate ad alterazione di geni che codificano per altre proteine della placca (come la rapsina e la proteina Dok-7);
- CMS da alterata glicosilazione di proteine come la GFPT1 e la DPAGT1. Queste forme sono spesso caratterizzate dalla presenza di alterazioni riscontrabili alla biopsia muscolare (aggregati tubulari) e da un particolare coinvolgimento dei muscoli prossimali dei quattro arti (cingolo scapolare e pelvico), tale da configurare una condizione prevalentemente "miopatica" [3].

CARATTERISTICHE CLINICHE

In considerazione della complessità dell'argomento e dell'obiettivo di aggiornamento sintetico di questa dissertazione, ci limiteremo a fornire qui di seguito alcune indicazioni generali su questo vasto gruppo di patologie, oggetto di studio e di recenti scoperte.
Nonostante l'eterogeneità di queste sindromi è possibile comunque identificare alcuni aspetti clinici comuni. L'esordio, infatti, è generalmente precoce (età neonatale-infantile) e solo in rari casi è più tardivo (adolescenza o perfino in età adulta).
I sintomi principali sono l'oftalmoplegia, la ptosi palpebrale, la disfonia, le difficoltà di deglutizione, la paralisi della muscolatura facciale e la fatica muscolare precoce.
Nelle forme con manifestazione congenita della sintomatologia prevale una condizione di neonato/lattante ipotonico con turbe della suzione, pianto debole, ptosi palpebrale, distress respiratorio.
In realtà questi sintomi sono comuni a molte malattie neuromuscolari che si manifestano nella prima infanzia (ad esempio le miopatie congenite), ma caratteristici delle CMS sono gli improvvisi peggioramenti legati all'esercizio, prolungati pianti o ad episodi febbrili. Come conseguenza del difetto di forza muscolare e della scarsa motilità si svilupperanno retrazioni tendinee, atrofia muscolare, aspetto peculiare del volto e scoliosi.
La severità delle CMS è strettamente correlata al grado di coinvolgimento dell'apparato respiratorio. Ciò rappresenta infatti il principale fattore di rischio per la sopravvivenza, specie nei primi mesi di vita, a causa dell'elevata incidenza di infezioni respiratorie che possono, anche le più banali, scatenare improvvise e talvolta irreversibili crisi respiratorie. Questo vale soprattutto per alcune forme di CMS come quelle pre-sinaptiche da deficit della sintesi dell'acetilcolina.
L'andamento di tali malattie è estremamente variabile anche nel singolo caso, da periodo a periodo, anche in relazione alla risposta alla terapia; è frequente, specie in alcune forme, un miglioramento dopo i primi mesi di vita [4].

DIAGNOSI E TERAPIA

La diagnosi delle CMS si basa innanzitutto sul sospetto clinico e si avvale poi dello studio neurofisiologico

(elettroneurografia con stimolazione nervosa ripetitiva, elettromiografia di singola fibra e convenzionale) e della caratterizzazione genetica. L'elettromiografia con stimolazione ripetitiva evidenzia nella quasi totalità delle forme una risposta di tipo decrementale dell'ampiezza del potenziale d'azione muscolare (MAP) e, nel caso delle forme da mutazione del gene COLQ e nelle sindromi da canale ionico lento, può mostrare la presenza di un MAP doppio da singolo stimolo; elemento quest'ultimo che, quando presente, orienta in maniera specifica per la terapia e lo studio genetico-molecolare. La biopsia muscolare può essere utile nella diagnosi differenziale rispetto a forme miopatiche di altra natura, oltre che al fine di rivelare alcune alterazioni suggestive di CMS, come la presenza di aggregati tubulari, nei casi delle CMS da alterata glicosilazione proteica [2].

L'approccio terapeutico è estremamente complesso e richiede di essere adattato caso per caso. La categoria di farmaci alla quale si ricorre per buona parte delle forme è quella degli anticolinesterasici (piridostigmina, neostigmina), ma nella sindrome del canale lento o da deficit di acetilcolinesterasi, ad esempio, queste stesse sostanze possono, al contrario, determinare un aggravamento dei sintomi. Altri farmaci che trovano impiego nelle CMS sono il salbutamolo e l'efedrina, con risultati sorprendenti specie nelle forme da mutazione DOK-7, la fluoxetina e chinidina nella CMS da canale ionico lento, e la 3,4-diaminopiridina in altre forme [5]. Infine, per quanto già detto, elementi essenziali del trattamento sono il supporto respiratorio, quello della deglutizione e la fisiochinesiterapia quando il quadro clinico del paziente lo richiede.

Bibliografia

1. Hantai D, Richard P, Koenig J, et al. *Congenital myasthenic syndromes*. Curr Opin Neurol 2004;17:539-51.
2. Engel AG. *Congenital myasthenic syndromes in 2018*. Curr Neurol Neurosci Rep 2018;18:46.
3. Senderek J, Muller JS, Dusl M, et al. *Hexosamine biosynthetic pathway mutations cause neuromuscular transmission defect*. Am J Hum Genet 2011;88:162-72.
4. Engel AG. *Genetic basis and phenotypic features of congenital myasthenic syndromes*. Handb Clin Neurol 2018;148:565-89.
5. Farmakidis C, Pasnoor M, Barohn RJ, et al. *Congenital myasthenic syndromes: a clinical and treatment approach*. Curr Treat Options Neurol 2018;20:36.

Giornale di NEUROPSICHIATRIA dell'ETÀ EVOLUTIVA 2019;39:116-120

Distrofie muscolari dei cingoli

Limb girdle muscular dystrophies

C. Orsini, P. D'Ambrosio, L. Politano

Cardiomiologia e Genetica Medica, Dipartimento di Medicina Sperimentale, Università della Campania Luigi Vanvitelli

Riassunto

Le LGMD – dall'inglese *Limb Girdle Muscular Dystrophies* – comprendono un gruppo di miopatie genetiche che si manifestano con debolezza progressiva cronica dei muscoli del bacino e del cingolo superiore scapolo-omerale. Il decorso clinico e l'espressività possono variare da forme gravi, a rapida insorgenza e progressione, a forme molto lievi che consentono alle persone affette di avere una durata della vita e livelli di attività abbastanza normali. La trasmissione ereditaria può essere autosomica dominante (LGMD1) o autosomica recessiva (LGMD2). La prevalenza varia nelle diverse regioni del mondo; in alcuni gruppi etnici è stato documentato un *effetto fondatore* e la conoscenza di ciò può facilitare la diagnosi. L'approccio clinico alle LGMD utilizza l'età di esordio, la trasmissione genetica e gli schemi clinici di debolezza muscolare. Le caratteristiche cliniche che aiutano a differenziare i vari sottotipi includono: predominanza della debolezza ai muscoli del cingolo superiore, coinvolgimento dei muscoli respiratori, debolezza distale, debolezza dell'adduttore dell'anca, ipertrofia del polpaccio, retrazioni e coinvolgimento cardiaco. Quasi la metà dei pazienti con LGMD presenta tali caratteristiche. Indagini quali la creatinchinasi del siero, gli studi genetici e la biopsia muscolare possono completare l'esame clinico.

Parole chiave: Distrofie muscolari dei cingoli, LGMD, Distrofie muscolari dei cingoli autosomiche dominanti, Distrofie muscolari dei cingoli autosomiche recessive

Summary

The LGMDs comprise a group of genetic myopathies that manifest as chronic progressive weakness of hip and shoulder girdles. The clinical course and the expressivity may be variable, ranging from severe forms with rapid onset and progression to very mild forms allowing affected people to have fairly normal life spans and activity levels. Their inheritance is either autosomal dominant (LGMD1) or autosomal recessive (LGMD2). Their prevalence varies in different regions of the world; certain ethnic groups have documented founder mutations and this knowledge can facilitate the diagnosis. The clinical approach to LGMDs uses the age at onset, genetic transmission and clinical patterns of muscular weakness. Clinical features that help to differentiate the various subtypes include: predominant upper girdle weakness, disproportionate respiratory muscle involvement, distal weakness, hip adductor weakness, 'biceps lump' and 'diamond on quadriceps' sign, calf hypertrophy, contractures and cardiac involvement. Almost half of patients with LGMD have such clinical clues. Investigations such as serum creatinekinase, genetic studies and muscle biopsy can complement the clinical examination.

Key words: Limb-girdle muscular dystrophies, LGMD, Autosomal dominant LGMD, Autosomal recessive LGMD

DEFINIZIONE

Le distrofie muscolari dei cingoli costituiscono un gruppo eterogeneo di malattie geneticamente determinate e trasmesse in maniera autosomica, che coinvolgono in maniera primitiva la muscolatura prossimale dei cingoli, sia pelvico che scapolare.

CENNI STORICI

Il termine fu coniato nel 1954 da Walton and Natrass [1], i quali definirono con il termine *limb* (arto) *girdle* (cingolo) *muscular* (muscolare) *dystrophy* una forma di interessamento muscolare con insorgenza dalla tarda infanzia all'età adulta, caratterizzata da progressiva debolezza e atrofia muscolare, prevalente a livello del cingolo pelvico e scapolare, con una variabilità clinica e progressione molto diversa rispetto alle Distrofie Muscolari di Duchenne (DMD) o Facio-Scapolo-Omerale (FSO). Nelle successive tre-quattro decadi sono apparsi numerosi articoli riportanti distinte forme di LGMD trasmesse in maniera autosomica sia dominante che recessiva. Nel 1995, l'*European Neuromuscular Consortium* (ENMC)

CORRISPONDENZA

Luisa Politano, Cardiomiologia e Genetica Medica, Primo Policlinico, piazza Miraglia, 80138 Napoli - E-mail: luisa.politano@unicampania.it

sulle LGMD propose una nuovo sistema di classificazione, etichettando le forme autosomiche dominanti come LGMD1 e le forme autosomiche recessive come LGMD2. Entrambi i gruppi furono a loro volta sub-classificati usando un sistema alfabetico, in base all'ordine di scoperta dei singoli loci genici [2].

Considerate nel complesso, le distrofie muscolari dei cingoli rappresentano la quarta forma più comune di Distrofia muscolare, con una prevalenza stimata in circa 1.63 per 100.000, subito dopo le distrofinopatie, le distrofie miotoniche, e la distrofia FSO [3].

Sin dalla prima classificazione del 1995 che individuava 5 forme di LGMD – 1 dominante e 4 recessive – il numero è attualmente cresciuto fino a 34 (8 Dominanti e 26 Recessive) in base all'OMIM *Online Mendelian Inheritance in Man* (OMIM) del 2017.

La Tabella I sintetizza le principali differenze cliniche delle forme autosomiche dominanti comparato con le autosomiche recessive. Le Tabelle IIa e IIb elencano rispettivamente le varie forme di LGMD1 e LGMD2, i geni causativi e i loci genici identificati. La prevalenza dei vari gruppi è diversa nelle differenti zone geografiche [4]. Le forme dominanti LGMD1 sono di solito più benigne e relativamente rare, rappresentando meno del 10% di tutte le distrofie dei cingoli. Le forme recessive LGMD2 sono molto più frequenti. La LGMD2A è la forma più frequente in America e in Europa, tranne che in Danimarca, dove è invece più comune la LGMD2I [5-7].

L'avvento delle tecniche di sequenziamento di nuova generazione ha accelerato negli ultimi anni la scoperta di nuovi geni LGMD [8]. Ad oggi si contano 35 loci genetici, 9 autosomici dominanti e 26 autosomici recessivi e il loro numero è destinato a crescere [9-12]. Risulta pertanto evidente che tale tipo di classificazione alfanumerica sarà a breve sostituita con altre di più ampio respiro, così come è stato proposto durante il *229th ENMC International workshop on LGMD,* tenutosi a Naarden a Marzo 2017 [12].

Una recente classificazione utilizza la proteina carente per individuare la specifica forma di distrofia dei cingoli: si parla quindi di *calpainopatia* per le malattie da deficit di calpaina 3, di *disferlinopatia* per le malattie da deficit di disferlina e così via.

SINTOMATOLOGIA

Le caratteristiche comuni alle LGMD sono la debolezza e l'atrofia dei muscoli dei cingoli degli arti. Tuttavia l'età di insorgenza e il decorso sono estremamente variabili, con forme gravi, a insorgenza precoce e rapida progressione accanto a forme di minore entità che permettono agli individui che ne sono affetti una quasi normale aspettativa di vita e autonomia motoria [13 14].

I sintomi correlati alla debolezza muscolare degli arti superiori, benché presenti sin dall'inizio (scapole alate), sono di solito più tardivi. A essi si associa un aumento dei valori della creatinkinasi (CK o CPK), di entità variabile da tre-cinque fino a cento volte il valore massimo normale, a seconda delle varie forme.

Altri sintomi, quali retrazioni articolari, crampi muscolari, ingrossamento dei muscoli del polpaccio e coinvolgimento dei muscoli distali possono essere presenti solo in alcuni sottotipi [15].

Un coinvolgimento cerebrale, di variabile gravità e insorgenza, è presente nelle forme di distrofia dei Cingoli note come distroglicanopatie (LGMD2K, 2M, 2N, 2O) [16].

PROGRESSIONE DELLA MALATTIA

Nelle distrofie muscolari dei cingoli la progressione della malattia è variabile e dipende dall'età di insorgenza. Nelle forme a esordio infantile quali ad es. le sarcoglicanopatie, si ha più di frequente la perdita della deambulazione autonoma, con conseguente comparsa di retrazioni a livello degli arti inferiori, scoliosi etc. e necessità di ricorrere all'uso di dispositivi di mobilità assistita [17].

COINVOLGIMENTO CARDIACO

Nella forme di tipo 2C, 2F, 2I, 2N il coinvolgimento cardiaco può presentarsi con elevata incidenza di cardiomiopatia dilatativa e decorso sovrapponibile a quello che si riscontra nella distrofinopatia di Duchenne [18 19].

Tab. I. Confronto tra le caratteristiche generali delle distrofie muscolari dei cingoli dominanti e recessive.

Caratteristiche	LGMD1	LGMD2
Ereditarietà	Autosomica dominante	Autosomica recessiva
Sottotipi	1A-1H	2A-2Z
Età d'esordio	Adolescenza - età adulta	Infanzia-adolescenza
Debolezza degli arti	Lieve	Moderata-grave
Livelli di creatinkinasi (CK)	Normali o poco elevati ad eccezione della 1C	Mediamente - molto elevati
Intolleranza allo sforzo o rabdomiolisi	1C	2A, 2B-2E, 2I, 2L e 2T

Tab.II. a) Classificazione delle distrofie muscolari dei cingoli autosomiche dominanti.

Malattia	Gene/ Locus	Proteina
LGMD1A	*MYOT*	Myotilina
LGMD1B	*LMNA*	Lamina A/C
LGMD1C	*CAV3*	Caveolina
LGMD1D	*DNAJB6*	Omologo di DNAJ/HSP40
LGMD1E	*DES*	Desmina
LGMD1F	*TNPO3*	Transportina 3
LGMD1G	*HNRNPDL*	Proteina simile alla Ribonucleoproteina eterogenea D
LGMD1H	*3p.23-25.1*	?

Tab.II. b) Classificazione delle distrofie muscolari dei cingoli autosomiche recessive.

Malattia	Gene/ Locus	Proteina
LGMD2A	*CAPN3*	Calpaina 3
LGMD2B	*DYSF*	Disferlina
LGMD2C	*SGCG*	Gamma-sarcoglicano
LGMD2D	*SGCA*	Alfa-sarcoglicano
LGMD2E	*SGCB*	Beta-sarcoglicano
LGMD2F	*SGCD*	Delta-sarcoglicano
LGMD2G	*TCAP*	Telethonina
LGMD2H	*TRIM32*	Tripartite motif containg-32
LGMD2I	*FKRP*	Proteina correlata alla Fukutina
LGMD2J	*TTN*	Titina
LGMD2K	*POMT1*	Protein-O-Mannosil Transferasi 1
LGMD2L	*ANO5*	Anoctamina 5
LGMD2M	*FKNT*	Fukutina
LGMD2N	*POMT2*	Protein-O-Mannosil Transferasi 2
LGMD2O	*POMGNT1*	Protein-O-Mannose B-1,2-N-acetilglucosamiltransferasi 1
LGMD2P	*DAG1*	Glicoproteina 1 associata alla distrofina
LGMD2Q	*PLEC1*	Plectina
LGMD2R	*DES*	Desmina
LGMD2S	*TRAPPC11*	Complesso 11 del trasporto delle particelle proteiche
LGMD2T	*GMPPB*	GDP- Mannoso pirofosforilasi B
LGMD2U	*ISPD*	Proteina contenente il dominio della isoprenoide sintasi
LGMD2V	*GAA*	Alfa-1,4-glicosidasi
LGMD2W	*LIMS2*	LIM e domini similantigeni 2 delle cellule senescenti
LGMD2X	*POPDC1*	Proteina contenente il dominio Popeye 1
LGMD2Y	*TOR1AIP1*	Proteina 1 interagente con la Torsina o proteina associata alla lamina
LGMD2Z	*POGLUT1*	Protein O-Glicosiltransferasi 1

Nella forme di tipo 1B, 1E e 2R (laminopatie e desminopatie) il coinvolgimento cardiaco può presentare caratteristiche simili a quelle della Distrofia Muscolare di Emery-Dreifuss, con elevato rischio di morte cardiaca improvvisa aritmica, anche nelle fasi precoci della patologia [20-22].

È necessario pertanto che i pazienti affetti dalle suddette forme di LGMD si sottopongano presso centri di riferimento altamente specializzati a valutazione cardiologica almeno una volta l'anno o più frequentemente in relazione alle necessità del paziente. La valutazione deve comprendere la visita cardio-aritmologica, l'ECG standard e dinamico e l'ecocardiogramma. In casi selezionati può essere necessaria una valutazione invasiva mediante Studio Elettrofisiologico Endocavitario (SEF), per identificare i pazienti a rischio di morte improvvisa [23]. La risonanza magnetica nucleare può essere utile per il completamento diagnostico.

COINVOLGIMENTO RESPIRATORIO

Il coinvolgimento respiratorio è più frequente nelle forme di tipo 2, quali sarcoglicanopatie [18 24], LGMD21, LGMD2V [25]. È pertanto necessario un periodico monitoraggio respiratorio che preveda la valutazione dei principali parametri spirometrici, quali la capacità vitale forzata (FVC), il flusso di picco espiratorio (PEF) e il volume espiratorio forzato al primo minuto (FEV1). In caso di riduzione dei valori di capacità vitale si configura il quadro della sindrome disventilatoria restrittiva [13 26] che necessita di supporto ventilatorio (vedi paragrafo terapia).

DIAGNOSI

La diagnosi, sospettata sulla base del quadro clinico [7 27] sarà confermata sia con la ricerca delle proteine interessate su biopsia muscolare o in maniera più esaustiva mediante l'analisi genetica. Al momento, la lista dei geni da indagare è troppo vasta per utilizzare l'approccio gene-per-gene per cui vengono usati pannelli di geni disegnati ad hoc mediante le tecniche di *next generation sequencing* (NGS) che includono tutti i geni finora associati a quadri clinici di distrofia dei cingoli [8 28]. La percentuale di casi con diagnosi confermata molecolarmente si aggira intorno al 60-65% del totale dei pazienti.

TRATTAMENTO

Nonostante i continui sforzi di ricerca per sconfiggere questo gruppo di malattie genetiche, la terapia è attualmente sintomatica, allo scopo di prevenire o trattare complicanze. I modelli murini sono stati utili nel chiarire la patogenesi delle malattie e nel pianificare strategie per il trattamento. Le scoperte nella ricerca traslazionale e gli approcci terapeutici molecolari fanno ben sperare

per il futuro [29]. È noto che la sfida per queste malattie rare è la capacità di avere un numero adeguato di pazienti per uno studio clinicamente significativo; gli attuali sforzi nello sviluppo dei registri dei pazienti [7 30] e delle biobanche genetiche [31] per favorire questo scopo sono molto incoraggianti.
Gli studi di storia naturale sono essenziali per stabilire e interpretare le misure di outcome appropriate per le sperimentazioni cliniche [32].
La recente approvazione degli oligonucleotidi antisenso per il trattamento della distrofia muscolare di Duchenne e dell'atrofia muscolare spinale suggerisce che saremo presto in grado di trattare e potenzialmente curare un numero sempre maggiore di distrofie muscolari [33 34].
Altro approccio terapeutico è la terapia genica [35] per la quale sono attualmente in corso negli USA studi clinici, che utilizzano vettori adenovirali, per le forme 2B, 2D [36] e 2E. Per le forme, 2C e 2L è previsto l'inizio di studi di fase 1 alla luce dei buoni risultati delle sperimentazioni precliniche.
L'unica forma di distrofia muscolare dei cingoli che al momento dispone di un trattamento terapeutico è la LGMD2V già nota come malattia di Pompe a esordio tardivo, patologia lisosomiale causata dal deficit dell'enzima maltasi acida, per la quale è possibile il trattamento sostitutivo con l'enzima ricombinante, prodotto biotecnologicamente e somministrato per via endovenosa. I risultati sono buoni in termini di miglioramento dell'autonomia motoria e dei parametri respiratori [37 38]. È in corso di sperimentazione una terapia orale.
Per le altre forme di distrofie dei cingoli i tentativi volti ad attenuare l'evoluzione della patologia con l'uso di steroidi, fisiokinesiterapia, chirurgia ortopedica ove indicata, hanno dato risultati discordanti.
La gestione dei pazienti si avvale della terapia cardiologica (ace-inibitori, beta-bloccanti, antiaritmici, anticoagulanti), nelle forme associate a interessamento cardiaco; dell'impianto di un pacemaker o di un defibrillatore nelle forme a rischio di morte cardiaca improvvisa [23].
La terapia preventiva antibiotica, l'uso di vaccini e della ventilazione meccanica assistita trovano indicazione nelle forme associate a insufficienza respiratoria [24 26].
Un ulteriore approccio terapeutico è quello di modificare le conseguenze delle mutazioni geniche a livello tessutale; ne è un esempio il Resolaris (ATYR1940), terapia proteica endovenosa sviluppata per il trattamento di miopatie con eccessivo coinvolgimento delle cellule immunitarie nel tessuto muscolare (LGMD2B e distrofia facio-scapolo-omerale FSHD); ha azione immuno-modulante e antinfiammatoria ed è stato designato come farmaco orfano dall'FDA.
È inoltre in corso negli USA un trial per valutare sicurezza ed efficacia dell'anticorpo monoclonale PF-06252616, inibitore della miostatina, nella forma 2I.

CONSULENZA GENETICA E DIAGNOSTICA PRENATALE

La consulenza genetica è indicata – e la diagnosi prenatale fattibile – in tutti i casi di LGMD, sia dominanti che recessive, nei quali sia stato identificato il difetto molecolare responsabile del particolare sottotipo di distrofia dei cingoli.
Nelle forme a trasmissione autosomico-dominante consentirà di offrire alla coppia la possibilità di diagnosi prenatale di feto affetto ed eventuale interruzione della gravidanza. Nelle forme a trasmissione autosomico-recessive permetterà di individuare nell'ambito delle famiglie, i portatori asintomatici e allertarli sul rischio di ricorrenza. Particolare attenzione va posta alla provenienza geografica dei partners, in quanto in quelli provenienti da paesi di piccole dimensioni (isolati geografici) va tenuta presente una potenziale consanguineità. Inoltre, nelle forme a trasmissione AR, va ricordato che: a) tutti i figli degli affetti sono portatori obbligati asintomatici della mutazione presente nel genitore affetto; b) i portatori possono avere un figlio affetto solo se si uniscono con un portatore dello stesso difetto genetico, con una probabilità del 25% (1:4), a ogni concepimento e indipendentemente dal sesso, da qui la necessità di sottoporre a test genetico anche i partners.

Bibliografia

1 Walton JN, Natrass FJ. *On the classification, natural history and treatment of the myopathies*. Brain 1954;77:169-31.
2 Bushby KM, Beckmann JS. *The limb-girdle muscular dystrophies - proposal for a new nomenclature*. Neuromuscul Disord 1995;5:337-43.
3 Mah JK, Korngut L, Fiest KM, et al. *A systematic review and meta-analysis on the epidemiology of the muscular dystrophies*. Can J Neurol Sci 2016;43:163-77.
4 Taghizadeh E, Rezaee M, Barreto GE, et al. *Prevalence, pathological mechanisms, and genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: a review*. J Cell Physiol 2019;234:7874-84.
5 Moore SA, Shilling CJ, Westra S, et al. *Limb-girdle muscular dystrophy in the United States*. J Neuropathol Exp Neurol 2006;65:995-1003.
6 Sveen ML, Schwartz M, Vissing J. *High prevalence and phenotype-genotype correlations of limb girdle muscular dystrophy type 2I in Denmark*. Ann Neurol 2006;59:808-15.
7 Magri F, Nigro V, Angelini C, et al. *The Italian limb girdle muscular dystrophy registry: relative frequency, clinical features, and differential diagnosis*. Muscle Nerve 2017;55:55-68.
8 Özyilmaz B, Kirbiyik Ö, Özdemir TR, et al. *Impact of next-generation sequencing panels in the evaluation of limb-girdle muscular dystrophies*. Ann Hum Genet 2019;83:331-47.

[9] Nigro V, Savarese M. *Genetic basis of limb-girdle muscular dystrophies: the 2014 update*. Acta Myol 2014;33:1-12.

[10] Magri F, Brajkovic S, Govoni A, et al. *Revised genetic classification of limb girdle muscular dystrophies.* Curr Mol Med 2014;14:934-43.

[11] Murphy AP, Straub V. The *Classification, natural history and treatment of the limb girdle muscular dystrophies*. J Neuromuscul Dis 2015 Jul 22;2:S7-19.

[12] Straub V, Murphy A, Udd B; LGMD workshop study group. *229th ENMC international workshop: limb girdle muscular dystrophies - nomenclature and reformed classification Naarden, the Netherlands, 17-19 March 2017*. Neuromuscul Disord 2018;28:702-10.

[13] Khadilkar SV, Patel BA, Lalkaka JA. *Making sense of the clinical spectrum of limb girdle muscular dystrophies*. Pract Neurol 2018;18:201-10.

[14] Liewluck T, Milone M. *Untangling the complexity of limb-girdle muscular dystrophies*. Muscle Nerve 2018;58:167-77. doi: 10.1002/mus.26077. Epub 2018 Feb 7.

[15] Winckler PB, da Silva AMS, Coimbra-Neto AR, et al. *Clinicogenetic lessons from 370 patients with autosomal recessive limb-girdle muscular dystrophy*. Clin Genet 2019 Jul 3. doi: 10.1111/cge.13597. [Epub ahead of print].

[16] Bouchet-Séraphin C, Vuillaumier-Barrot S, Seta N. *Dystroglycanopathies: about numerous genes involved in glycosylation of one single glycoprotein*. J Neuromuscul Dis 2015;2:27-38.

[17] Straub V, Bushby K. *The childhood limb-girdle muscular dystrophies*. Semin Pediatr Neurol 2006;13:104-14.

[18] Politano L, Nigro V, Passamano L, et al. *Evaluation of cardiac and respiratory involvement in sarcoglycanopathies*. Neuromuscul Disord 2001;11:178-85.

[19] Nigro G, Comi LI, Politano L, et al. *Cardiomyopathies associated with muscular dystrophies*. In: Engel AG, Franzini-Armstrong C (eds.). *Myology*. New York: McGraw-Hill 2004, pp. 1239-56.

[20] Wessely R, Seidl S, Schömig A. *Cardiac involvement in Emery-Dreifuss muscular dystrophy*. Clin Genet 2005;67:220-3.

[21] Palladino A, D'Ambrosio P, Papa AA, et al. *Management of cardiac involvement in muscular dystrophies: paediatric versus adult forms*. Acta Myol 2016;35:128-34.

[22] Arbustini E, Di Toro A, Giuliani L, et al. *Cardiac phenotypes in hereditary muscle disorders: JACC state-of-the-art review*. J Am Coll Cardiol 2018;72:2485-506.

[23] Russo V, Nigro G. *ICD role in preventing sudden cardiac death in Emery-Dreifuss muscular dystrophy with preserved myocardial function: 2013 ESC guidelines on cardiac pacing and cardiac resynchronization therapy*. Europace 2015;17:337.

[24] Fayssoil A, Nguyen LS, Ogna A, et al. *Effects of home mechanical ventilation on left ventricular function in sarcoglycanopathies (limb girdle muscular dystrophies)*. Am J Cardiol 2018;122:353-5.

[25] D'Angelo MG, Romei M, Lo Mauro A, et al. *Respiratory pattern in an adult population of dystrophic patients*. J Neurol Sci 2011;306:54-61.

[26] Narayanaswami P, Weiss M, Selcen D, et al. *Evidence-based guideline summary: diagnosis and treatment of limb-girdle and distal dystrophies: report of the guideline development subcommittee of the American Academy of Neurology and the practice issues review panel of the American Association of Neuromuscular & Electrodiagnostic Medicine*. Neurology 2014;83:1453-63.

[27] Angelini C, Giaretta L, Marozzo R. *An update on diagnostic options and considerations in limb-girdle dystrophies*. Expert Rev Neurother 2018;18:693-703.

[28] Savarese M, Di Fruscio G, Torella A, et al. *The genetic basis of undiagnosed muscular dystrophies andmyopathies: results from 504 patients*. Neurology 2016;87:71-6.

[29] Vissing J. *Limb girdle muscular dystrophies: classification, clinical spectrum and emerging therapies*. Curr Opin Neurol 2016;29:635-41.

[30] Maggi L, D'Amico A, Pini A, et al. *LMNA-associated myopathies: the Italian experience in a large cohort of patients*. Neurology 2014;83:1634-44.

[31] Baldo C, Casareto L, Renieri A, et al. *The alliance between genetic biobanks and patient organisations: the experience of the telethon network of genetic biobanks*. Orphanet J Rare Dis 2016;11:142.

[32] Fayssoil A Ogna A, Chaffaut C, et al. *Natural history of cardiac and respiratory involvement, prognosis and predictive factors for long-term survival in adult patients with limb girdle muscular dystrophies type 2C and 2D*. PLoS One 2016;11:e0153095.

[33] Lin AY, Wang LH. *Molecular therapies for muscular dystrophies*. Curr Treat Options Neurol 2018;20:27.

[34] Chu ML, Moran E. *The limb-girdle muscular dystrophies: is treatment on the horizon?* Neurotherapeutics 2018;15:849-62.

[35] Yue Y, Binalsheikh IM, Leach SB, et al. *Prospect of gene therapy for cardiomyopathy in hereditary muscular dystrophy*. Expert Opin Orphan Drugs 2016;4:169-83.

[36] Carotti M, Marsolier J, Soardi M, et al. *Repairing folding-defective α-sarcoglycan mutants by CFTR correctors, a potential therapy for limb-girdle muscular dystrophy 2D*. Hum Mol Genet 2018;27:969-84. doi: 10.1093/hmg/ddy013.

[37] van der Meijden JC, Kruijshaar ME, Rizopoulos D, et al. *Enzyme replacement therapy reduces the risk for wheelchair dependency in adult Pompe patients*. Orphanet J Rare Dis 2018;13:82.

[38] Witkowski G, Konopko M, Rola R, et al. *Enzymatic replacement therapy in patients with late-onset Pompe disease - 6-Year follow up*. Neurol Neurochir Pol 2018;52:465-9.

Malattia di Charcot-Marie-Tooth in età pediatrica

Childhood onset Charcot-Marie-Tooth disease

I. Moroni

UOC di Neuropsichiatria Infantile, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico C. Besta, Milano

Riassunto

Le neuropatie sensitive-motorie ereditarie, definite come Malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT), sono patologie rare con esordio molto frequentemente in età infantile che determinano compromissione e disabilità di grado variabile e mostrano caratteristiche cliniche eterogenee. La presentazione è spesso sporadica e sono caratterizzate da elevata eterogeneità fenotipo-genotipo. Nell'insieme costituiscono un'alta percentuale delle patologie neuromuscolari. Le principali criticità sono costituite dalla frequente mancanza di difetto genetico specifico, che preclude la possibilità di fornire appropriata consulenza genetica e offrire diagnosi prenatale, e dall'assenza di trattamenti specifici efficaci nell'arrestare la progressione della malattia. La complessità della presentazione clinica e la necessità di avviare in modo mirato le indagini diagnostiche richiedono competenze specifiche. Le recenti tecniche di *Next Generation Sequencing* (NGS) oltre a permettere una maggiore rapidità nella diagnosi genetica delle CMT, ha contribuito a ridefinire la nosologia di queste malattie. Per l'avvio di trial terapeutici, inoltre, è indispensabile la conoscenza di dati di storia naturale specifici per ogni gruppo di patologia, e l'adozione di misure di valutazione che consentano di definire la gravità della disabilità e la qualità della vita, standardizzate per l'età pediatrica e permettano di quantificare la risposta ai trattamenti.

Parole chiave: Malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT), Infanzia, *Review*

Summary

Hereditary motor and sensory neuropathies, also named Charcot-Marie-Tooth diseases (CMT), are rare disorders with onset often in early ages, causing variable degrees of impairment and disability, and present high clinical variability, frequent sporadic presentation and genotype-phenotype heterogeneity. As a whole, they account for a high percentage of childhood neuromuscular disorders. The main challenge is the definition of specific genetic defects, which are mandatory to offering appropriate couple counselling opportunities, to addressing the risk of recurrence and to envisaging pre-natal diagnosis. Another challenge is the absence of specific and effective treatments to halt the progression of the disease. An appropriate clinical characterization is the starting point for a precise evaluation among a whole range of genetic forms: specific skills are required because of the complex clinical picture and the need to conduct thorough and targeted investigations. Recent and sophisticated Next Generation Sequencing techniques, besides leading to a quicker diagnosis of CMT, contribute to redefining the nosology of these disorders. Moreover, the potential availability of pharmacological trials presupposes the knowledge of a series of data concerning the natural history of the disease, in particular for the rarest forms of CMT, as well as the availability of outcome measures that are specific for children (disability scales, severity, quality of life) so as to quantify the response to treatment.

Key words: Charcot-Marie-Tooth disease (CMT), Pediatric, Review

INTRODUZIONE

Con il termine malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT) si intende un vasto gruppo di patologie dei nervi periferici ad eziologia genetica. Le prime descrizioni di quadri clinici e neuropatologici di famiglie con neuropatie a diversa modalità di trasmissione e età d'esordio risalgono a fine 800, da parte dei neurologi Dejerine, Charcot, Marie e Tooth. La nomenclatura da allora è stata rimaneggiata ampiamente, con la definizione e classificazione negli anni 70 da parte di Dick, Thomas e Lambert in vari tipi definiti *Hereditary Motor and Sensory neuropathies* (HMSN); recentemente viene utilizzato il termine CMT per includere tutte le diverse forme che sono un gruppo molto eterogeneo clinicamente e geneticamente. Nell'insieme le CMT costituiscono la condizione più frequente tra le patologie neuromuscolari con esclusivo o prevalente interessamento dei nervi periferici, e una prevalenza stimata in 1/2.500) [1].

CORRISPONDENZA

Isabella Moroni, UOC di Neuropsichiatria Infantile, Fondazione IRCCS Istituto Neurologico C. Besta, Milano - E-mail: Isabella.Moroni@istituto-besta.it

La principale classificazione delle CMT dipende dalle caratteristiche neurofisiologiche che, in base ai valori di velocità di conduzione nervosa, permettono di distinguere neuropatie demielinizzanti (CMT1, velocità di conduzione < 25-30 m/s), assonali (CMT2, velocità di conduzione > 35 m/s), intermedie (CMTX, velocità di conduzione 30-40 m/s), motorie pure (HMN) o sensitive e sensitive/autonomiche (HSN/HSAN) (Tab. I) [2]. Inoltre le CMT sono condizioni che possono essere trasmesse con diverse modalità: autosomiche dominanti (AD), autosomiche recessive (AR), *X-linked*, o sono dovute a mutazioni *de novo*, determinando casi sporadici. Quindi la classificazione genetica è molto complessa e tuttora in corso di modificazione [3].

Le caratteristiche cliniche principali delle CMT includono ipotrofia ed ipostenia nei distretti distali, con iniziale prevalente compromissione a livello degli arti inferiori, possibile progressione agli arti superiori e ai distretti prossimali, a cui possono associarsi deficit delle sensibilità, e/o disfunzione autonomica.

L'esordio dei sintomi può verificarsi ad ogni età: precocemente nell'infanzia, o più tardivamente, nell'età adulta.

L'identificazione del primo difetto genetico, la duplicazione del tratto di cromosoma 17q12.13.2 (gene *PMP22*), risale al 1991, e causa la forma più frequente, CMT demielinizzante a ereditarietà dominante (CMT1A) [4]. Negli anni successivi sono state progressivamente rilevate alterazioni in altri geni, che tuttora sono tra le forme più frequenti di CMT: *MPZ*, *GJB1* [5].

Rispetto alle possibilità di diagnosi con metodo Sanger la disponibilità più recente di tecnologie avanzate di *Next Generation Sequencing* (NGS) ha consentito uno straordinario e rapido progresso nella diagnostica anche di queste malattie, tanto che attualmente sono noti più di 80 geni responsabili di CMT, di cui oltre il 40 % identificati nell'ultimi anni [6]. Tuttavia nel 20-30% dei casi non è tuttora possibile definire il difetto genetico specifico. Alla grande quantità dei difetti molecolari sono sottesi altrettanti numerosi differenti meccanismi patogenetici di malattia, a seconda della localizzazione cellulare e della funzione dei diversi geni, che può essere a livello mitocondriale, dei canali, del trasporto assonale, dell'assemblaggio della mielina e altri [7]. Si può quindi comprendere la difficoltà di prevedere specifiche terapie per ciascuna diversa forma di CMT [8].

PECULIARITÀ IN ETÀ PEDIATRICA

Nell'età infantile ci troviamo di fronte ad alcuni aspetti particolarmente critici: un eterogeneità genotipo-fenotipo ancora più ampia rispetto all'età adulta, una bassa frequenza mutazionale, una elevata frequenza di casi sporadici o apparentemente tali e quindi la difficoltà di offrire risposte alle richieste di counselling familiare e diagnosi prenatale. Inoltre le valutazioni neurofisiologiche soprattutto nei bambini molto piccoli pongono alcune criticità sia in termini di esecuzione che di interpretazione dei valori, che cambiano molto in relazione alle diverse età.

Le CMT in età pediatrica includono malattie che si manifestano sin dalla nascita o nei primi mesi di vita: per "Forme congenite" intendiamo comunemente l'esordio inferiore a 2 anni, con grave ipotonia, debolezza e atrofia distali, spesso deformità articolari, che determinano in genere significativo ritardo delle tappe di sviluppo motorio. Spesso inoltre si possono associare segni di coinvolgimento del sistema nervoso centrale e dei nervi cranici, problematiche respiratorie e di deglutizione, e quindi sono condizioni che possono provocare grave disabilità.

Le CMT con esordio più tardivo si manifestano con segni e sintomi più simili a quanto si osserva nell'età adulta, e quindi difficoltà nel cammino con tendenza ad appoggio in punta, scarse performances motorie, deformità dei piedi sia in piattismo che in cavo-varismo, atrofia distale degli arti inferiori, alterazioni dell'equilibrio e disturbi sensitivi, sia negativi (deficit di sensibilità superficiali e profonde) che positivi (parestesie, dolore). La progressione è in genere più lenta e variabile ma la disabilità motoria con ipostenia anche prossimale può essere molto rilevante [9]. È molto importante tenere conto

Tab. I. Classificazione sintetica neurofisiologica e genetica delle CMT.

Forma di CMT	Caratteristiche neurofisiologiche	VCM (m/s)	Ereditarietà	Difetti genetici più comuni
CMT1	Demielinizzante	Arti superiori < 30 Arti inferiori < 25	Dominante	*PMP22*, *MPZ*
CMT2	Assonale	> 35 CMAP ridotti	Dominante	*MFN2*
CMT3	Demielinizzante	< 20	Dominante o recessiva	*PMP22*, *MPZ*, *EGR2*
CMT4	Demielinizzante o assonale	VCM ridotta o CMAP ridotti	Recessiva	*GDAP*
CMTX	Demielinizzante	30-40	Dominante legata all'X	*GJB1*

Velocità di conduzione motoria: VCM; *PMP22*: *peripheral myelin protein 22*; *MPZ*: *myelin protein zero*; *MFN2*: mitofusina 2; *EGR2*: e*arly growth response 2*; *GDAP*: *ganglioside-induced differentiation-associated protein1*; *GJB1*: *gap junction protein beta1*.

che possono coesistere altri segni o sintomi, tra i quali alcuni possono essere molto suggestivi per condizioni genetiche definite, e quindi devono essere conosciuti e cercati per indirizzare la diagnosi in modo più diretto. Tra questi scoliosi precoce, ipoacusia, ritardo mentale, paralisi delle corde vocali, coinvolgimento prevalente degli arti superiori, alterazioni dei capelli (*curly hair*), neuromiotonia, atrofia ottica, glomerulonefrite focale.
Il percorso diagnostico nel sospetto di CMT in età pediatrica prevede pertanto: una attenta anamnesi familiare, la valutazione dell'obiettività generale e neurologica, lo studio neurofisiologico con elettromiografia e neuronografia, analisi genetiche specifiche. Nella maggior parte dei Centri di riferimento Nazionali e Internazionali il percorso per arrivare ad una diagnosi molecolare definitiva nelle CMT ad esordio in età pediatrica prevede l'inquadramento neurofisiologico, che consente di effettuare lo studio dei singoli geni a maggiore frequenza in questa fascia di età:

- CMT demielinizzanti: analisi gene *PMP22* per duplicazione o mutazione puntiforme; eventuale analisi gene *MPZ*;
- CMT intermedie: analisi gene *GJB1*;
- CMT assonali: gene *MFN2*, *GDAP1*.

In caso di negatività di tali indagini, lo step successivo è l'analisi con pannelli multigenici specifici per neuropatie ereditarie. La necessità di effettuare una biopsia di nervo è ormai sostanzialmente superata dalla disponibilità di analisi molecolari estensive. In merito alle diagnosi differenziali si deve tenere conto, soprattutto nei casi sporadici, della possibilità che la neuropatia abbia una genesi infiammatoria (come per la CIDP, una forma di neuropatia demielinizzante infiammatoria cronica), o che sia dovuta a lesioni acquisite (neurinomi, perineuromi) o a cause compressive. Inoltre deve sempre essere valutata la possibilità che la neuropatia sia parte di una patologia metabolica o degenerativa (malattia di Krabbe, leucodistrofia metacromatica, patologia mitocondriale) il cui fenotipo in genere associa altri segni o sintomi più complessi.

FORME PIÙ FREQUENTI IN ETÀ PEDIATRICA

CMT1A

È la CMT più frequente sia nella popolazione adulta che in età pediatrica, dovuta ad una duplicazione di 1.4 Mb a livello del cromosoma 17p11.2 che include il gene *PMP22* (*Peripheral Myelin Protein 22*), a trasmissione autosomica dominante. La percentuale dei casi *de novo* è comunque di circa il 10%. Tipicamente l'esordio clinico si verifica nella prima o seconda decade, ma la neuropatia può essere rilevata clinicamente sin dall'età di 5 anni, e le velocità di conduzione nervose sono abnormemente rallentate anche prima. I pazienti affetti presentano debolezza e atrofia muscolare, e perdita di sensibilità in sede distale agli arti inferiori e in seguito in sede distale degli arti superiori; deformazioni del piede (piattismo precocemente, poi cavo-varismo) e areflessia sono variabilmente presenti. I sintomi sensitivi sono poco frequenti in età infantile ma non devono essere sottovalutati. Invece è spesso associato il coinvolgimento dei muscoli intrinseci delle mani (interossei ed estensori dita) che può determinare significative difficoltà nello svolgimento delle comuni attività quotidiane. Vi è una considerevole variabilità nel grado di deficit neurologico all'interno delle famiglie, e persino tra gemelli identici, indicando che altri fattori modulano la gravità della malattia. La progressione dei segni e sintomi è estremamente variabile, ma in genere molto lentamente peggiorativa negli anni [10].
Le velocità di conduzione motorie sono anormalmente rallentate, comprese nel range di 15-35 m/s; la maggioranza si colloca intorno ai 20 m/s.
Sebbene la duplicazione del gene *PMP22* sia di gran lunga la causa più comune di CMT1A, alcune mutazioni puntiformi di *PMP22* producono un quadro clinico simile (che è stato denominato CMT1E) o possono determinare un fenotipo a esordio congenito, molto più grave, la CMT3 o neuropatia di Déjérine-Sottas.

HNPP

L'HNPP (*hereditary neuropathy with liability to pressure palsies*) è dovuta a delezione del cromosoma 17p11.2, ad ereditarietà dominante, che determina episodiche e ricorrenti mononeuropatie, di solito ad uno dei siti tipici di compressione dei nervi. In ordine di frequenza, questi sono il nervo peroneo alla testa peroneale, il nervo ulnare a livello del gomito, il plesso brachiale, il nervo radiale in corrispondenza della doccia omerale, e il nervo mediano al polso. Possono essere colpiti anche altri nervi, e sono state descritte presentazioni atipiche. Oltre la metà dei pazienti recupera completamente, di solito entro alcuni giorni o mesi, ma possono persistere deficit. Durante gli episodi acuti di paralisi da compressione, gli studi elettrofisiologici dimostrano un blocco di conduzione a carico del nervo colpito, ma alterazioni focali ai comuni siti di compressione (*entrapment*), si rilevano anche nei nervi non coinvolti da paralisi. È quindi indispensabile, nel sospetto di tale malattia, effettuare studi EMG/ENG ai 4 arti.
Anche mutazioni puntiformi di *PMP22* possono causare lo stesso quadro clinico di HNPP.

CMT1B

Mutazioni dominanti nel gene *MPZ (myelin protein zero)* causano la forma denominata CMT1B. Il gene *MPZ* codifica per la proteina P0, la principale proteina della mielina del nervo periferico con funzione cruciale nel mantenimento della mielina compatta.
Sono state identificate oltre 100 differenti mutazioni di

MPZ, per la maggior parte delle quali il fenotipo clinico può essere correlato al grado di dis/demielinizzazione, e con uno spettro di variabilità ampio che include forme gravi, come la neuropatia ipomielinizzante congenita, condizioni simili a CMT1 tipica, fino a quadri clinici eccezionalmente lievi e a esordio tardivo [11].

CMT1X

La CMT1X è causata da mutazioni in *GJB1 (gap junction protein beta1)*, il gene che codifica per connessina 32 (Cx32), localizzato sul cromosoma X. Le femmine portatrici sono spesso sintomatiche, anche se in genere con severità inferiore ai soggetti maschi, quindi è considerata una forma X-linked dominante. Lo studio neurofisiologico mostra valori di conduzione nervosa intermedi (VC 30-40 m/s).
Ad oggi sono state identificate oltre 400 mutazioni diverse nel gene *GJB1*. La Cx32 è una proteina intrinseca della membrana con funzioni di gap junctions tra gli strati adiacenti della guaina mielinica: la perdita di queste giunzioni porta a demielinizzazione e perdita assonale. La neuropatia si manifesta nei soggetti i maschi con esordio clinico variabile tra i 5 e i 20 anni di età. I primi sintomi, sia di tipo motorio che sensitivo, coinvolgono i distretti distali degli arti inferiori; successivamente vi è progressione anche a livello prossimale e compromissione degli arti superiori con ipostenia e atrofia nelle mani, in particolare nei muscoli dell'eminenza tenar, un dato clinico particolarmente suggestivo per l'inquadramento diagnostico [12].
In rari casi sono state segnalate associazioni con episodi acuti simil ADEM o *stroke-like* ed alterazione della sostanza bianca cerebrale alla RM encefalo.

CMT2A

Mutazioni in mitofusina 2 (*MFN2*) causano la più frequente neuropatia assonale a eredità dominante, definita CMT2A. La mitofusina 2 è localizzata sulla membrana esterna dei mitocondri dove svolge un ruolo cruciale nei meccanismi di normale fusione di questi organelli, indispensabili per la produzione di ATP nelle cellule.
Nella maggior parte dei casi infantili le mutazioni sono *de novo* e determinano una grave neuropatia assonale, con esordio nella prima infanzia; i sintomi sono evidenti dai 2-3 anni, caratterizzati da ipostenia della dorsiflessione dei piedi, che determina marcate difficoltà nel cammino e impossibilità della corsa; il coinvolgimento agli arti superiori è successivo ma precoce, e il decorso è rapidamente peggiorativo con plegìa dei piedi e ipostenia anche dei muscoli prossimali degli arti inferiori che causa perdita del cammino autonomo. Il coinvolgimento dei nervi ottici, con atrofia ottica, compare in genere dopo i 12 anni, ma deve essere monitorato. In rari casi si può associare deficit cognitivo [13].
Mutazioni *MFN2* determinano anche CMT2 con esordio giovanile e la penetranza può essere variabile anche all'interno della famiglia [14].

AR- CMT2 assonale / CMT4A

Una delle forme più frequenti in età pediatrica è dovuta a mutazioni recessive nel gene *GDAP1* che possono causare sia neuropatie assonali (AR-CMT2), che demielinizzanti (CMT4A).
GDAP1 (ganglioside-induced differentiation-associated protein1) è una proteina localizzata sulla membrana esterna dei mitocondri e svolge funzioni cruciali per la loro normale fissione.
I soggetti affetti hanno un esordio precoce, con difficoltà nel cammino che si manifestano sin dall'epoca dell'acquisizione della deambulazione, dovute a ipostenia e ipotrofia distale, con progressione negli anni e coinvolgimento sia distalmente a carico degli arti superiori che spesso anche nei distretti prossimali, potendo causare perdita del cammino entro i 20 anni [15]. In alcuni casi si associa paresi delle corde vocali
Mutazioni in *GDAP1* possono raramente causare CMT assonale a trasmissione dominante (CMT2K) che si manifesta con esordio in età adulta e compromissione clinica più lieve.

ALTRE FORME

Per quanto riguarda le HMN bisogna ricordare che clinicamente è spesso difficile distinguere tra neuropatie e neuronopatie, e quindi bisogna considerare in diagnosi differenziale le forme di SMA e di miopatie in cui atrofia e ipostenia nei distretti distali agli arti inferiori sono tali da indurre come primo sospetto una neuropatia periferica. Lo studio EMG non è sempre dirimente.
In particolare mutazioni nei geni *TRPV4 (transient receptor potential vanilloid 4)*, *IGHMBP2 (immunoglobulin-helicase-mbinding protein 2)*, *DYNC1H1 (dynein, cytoplasmic 1, heavy chain 1)* e *BICD2 (bicaudal D, Drosophila, homologue 2)* possono associarsi a fenotipi definiti SMA-LED (con coinvolgimento prominente degli arti inferiori) [16].
In merito alle forme sensitive o sensitivo autonomiche (HSN/HSAN), sono condizioni estremamente rare, per le quali negli ultimi anni sono stati identificati nuovi e numerosi difetti genetici, talora solo in singole famiglie (per approfondimento vedi Schwartzlow e Kazamel [17]).

TRATTAMENTO

Nonostante non esista tuttora una terapia specifica curativa per le diverse forme di CMT, è estremamente importante un corretto approccio riabilitativo sia con

esercizi specifici che con l'utilizzo di ausilii adeguati e personalizzati. Il monitoraggio delle complicanze ortopediche (deformità del piede, limitazioni articolari, scoliosi) è fondamentale e la scelta degli interventi di chirurgia correttiva deve essere valutata da specialisti esperti sia in termini di modalità che di tempistica di esecuzione [18].

In merito all'efficacia di effettuare trattamento con esercizi di rinforzo muscolare nei pazienti con CMT di età pediatrica è stato recentemente pubblicato uno studio randomizzato in doppio cieco che ha dimostrato che sei mesi di esercizi a resistenza progressiva a carico dei flessori dorsali della caviglia sono sicuri ed efficaci nel ritardare la perdita di forza senza effetti dannosi sulla grandezza o forma del muscolo e senza provocare altri segni di debolezza da sforzo eccessivo [19]. Per quanto riguarda possibili terapie farmacologiche specifiche, numerosi approcci terapeutici sono stati proposti e valutati in studi preclinici su modelli animali, in base ai supposti meccanismi patogenetici per le diverse forme di CMT (antagonisti del progesterone, silenziamento genico, regolatori della neuregulina, riduttori dell'acetilazione) [20].

Il trial clinico più significativo effettuato negli ultimi anni ha riguardato l'utilizzo dell'Acido Ascorbico in pazienti affetti da CMT1A; i risultati non hanno tuttavia confermato l'efficacia di questo trattamento né sulla popolazione adulta né su quella di età pediatrica [21].

Successivamente è stato effettuato un trial esplorativo di fase II con un farmaco che combina l'associazione di baclofene, naltrexone e sorbitolo a basse dosi, basato sul razionale che tali sostanze possano ridurre sinergicamente la sovraespressione di *PMP22*, dimostrandone sicurezza e tollerabilità in pazienti adulti con CMT1A [22]. La possibile efficacia di tale trattamento in pazienti con la stessa forma di CMT ed età infantile è tuttora in corso di valutazione.

MISURE DI OUTCOME

Per il futuro avvio di trial terapeutici è indispensabile l'utilizzo di misure di outcome standardizzate per le diverse fasce di età pediatrica e specifiche per ogni gruppo di patologia; a questo scopo negli anni scorsi sono state create e validate le scale di valutazione neurofunzionale *CMTPedS* (per i pazienti da 3 a 17 anni) [23] e la *InfantScale* (per età inferiori a 3 anni) [24] che sono comunemente utilizzate nei Centri di riferimento per CMT pediatrica.

Una misura promettente appare infine la *Gait Analysis*, per la quale studi recenti hanno confermato una buona correlazione con le suddette scale neurofunzionali nel definire i diversi pattern di alterazione del cammino e le modificazioni nel tempo in pazienti con CMT pediatrica [25 26].

Bibliografia

1. Barreto LC, Oliveira FS, Nunes PS, et al. *Epidemiologic study of Charcot-Marie-Tooth Disease: a systematic review*. Neuroepidemiology 2016;46:157-65.
2. Jani-Acsadi A, Ounpuu S, Pierz K, et al. *Pediatric Charcot-Marie-Tooth disease.* Pediatr Clin N Am 2015;62:767-86.
3. Rossor AM, Tomaselli PJ, Reilly MM. *Recent advances in the genetic neuropathies.* Curr Opin Neurol 2016; 29:537-48.
4. Raeymaekers P, Timmerman V, Nelis E, et al. *Duplication in chromosome 17p11.2 in Charcot-Marie-Tooth neuropathy type 1a (CMT 1a). The HMSN Collaborative Research Group*. Neuromuscul Disord 1991;1:93-7.
5. Fridman V, Bundy B, Reilly MM, et al.; on behalf of the Inherited Neuropathies Consortium. *CMT subtypes and disease burden in patients enrolled in the Inherited Neuropathies Consortium natural history study: a cross-sectional analysis.* J Neurol Neurosurg Psychiatry 2015;86:873-8.
6. Pisciotta C, Shy ME. *Neuropathy.* Handb Clin Neurol 2018;148:653-65.
7. Klein CJ, Duan X, Shy ME. *Inherited neuropathies: clinical overview and update.* Muscle Nerve 2013;48:604-22.
8. Pareyson D. *New developments in Charcot-Marie-Tooth neuropathy and related diseases.* Curr Opin Neurol 2017;30:471-80.
9. Cornett KM, Menezes MP, Bray P, et al. *Phenotypic variability of childhood Charcot-Marie-Tooth Disease.* JAMA Neurol 2016;73:645-51.
10. Cornett KM, Menezes MP, Shy RR, et al. *Natural history of Charcot-Marie-Tooth disease during childhood. CMTPedS Study Group.* Ann Neurol 2017;82:353-9.
11. Sanmaneechai O, Feely S, Scherer SS, et al.; Inherited Neuropathies Consortium - Rare Disease Clinical Research Consortium (INC-RDCRC). *Genotype-phenotype characteristics and baseline natural history of heritable neuropathies caused by mutations in the MPZ gene.* Brain 2015;138:3180-92.
12. Panosyan FB, Laura M, Rossor AM, et al.; Inherited Neuropathies Consortium - Rare Diseases Clinical Research Network (INC-RDCRN). *Cross-sectional analysis of a large cohort with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease (CMTX1).* Neurology 2017;89:927-35.
13. Stuppia G, Rizzo F, Riboldi G, et al. *MFN2-related neuropathies: Clinical features, molecular pathogenesis and therapeutic perspectives.* J Neurol Sci 2015;356:7-18.
14. Di Meglio C, Bonello-Palot N, Boulay C, et al. *Clinical and allelic heterogeneity in a pediatric cohort of 11 patients carrying MFN2 mutation.* Brain Dev 2016;38:498-506.
15. Moroni I, Morbin M, Milani M, et al. *Novel mutations in the GADP1 gene in patients affected with early-onset axonal Charcot-Marie-Tooth type 4.* Neuromuscul Disord 2009;19:476-80.
16. Bansagi B, Griffin H, Whittaker RG, *Genetic heterogeneity of motor neuropathies.* Neurology 2017;88:1226-34.
17. Schwartzlow C, Kazamel M. *Hereditary sensory and autonomic neuropathies: adding more to the classification.* Curr Neurol Neurosci Rep 2019;19:52.

[18] Reilly MM, Pareyson D, Burns J et al.; ENMC CMT Foot Surgery Study Group. *221st ENMC International Workshop:: Foot Surgery in Charcot-Marie-Tooth disease. 10-12 June 2016, Naarden, The Netherlands.* Neuromuscul Disord 2017;27:1138-42.

[19] Burns J, Sman AD, Cornett KMD, et al.; FAST Study Group. *Safety and efficacy of progressive resistance exercise for Charcot-Marie-Tooth disease in children: a randomised, double-blind, sham-controlled trial.* Lancet Child Adolesc Health 2017;1:106-13.

[20] Juneja M, Burns J, Saporta MA, et al. *Challenges in modelling the Charcot-Marie-Tooth neuropathies for therapy development.* J Neurol Neurosurg Psychiatry 2019;90:58-67.

[21] Gess B, Baets J, De Jonghe P, et al. *Ascorbic acid for the treatment of Charcot-Marie-Tooth disease.* Cochrane Database Syst Rev 2015;(12):CD011952.

[22] Attarian S, Vallat JM, Magy L, et al. *An exploratory randomised double-blind and placebo-controlled phase 2 study of a combination of baclofen, naltrexone and sorbitol (PXT3003) in patients with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A.* Orphanet J Rare Dis 2014;9:199.

[23] Burns J, Menezes M, Finkel RS, et al. *Transitioning outcome measures: relationship between the CMTPedS and CMTNSv2 in children, adolescents, and young adults with Charcot-Marie-Tooth disease.* J Peripher Nerv Syst 2013;18177-80.

[24] Mandarakas MR, Menezes MP, Rose KJ, et al. *Development and validation of the Charcot-Marie-Tooth Disease Infant Scale.* Brain 2018;141:3319-3330.

[25] Ferrarin M, Lencioni T, Rabuffetti M, et al. *Changes of gait pattern in children with Charcot-Marie-Tooth disease type 1A: a 18 months follow-up study.* J Neuroeng Rehabil 2013;10:65.

[26] Lencioni T, Piscosquito G, Rabuffetti M, et al. *Responsiveness of gait analysis parameters in a cohort of 71 CMT subjects.* Neuromuscul Disord 2017;27:1029-37.

Le distrofie muscolari congenite

Congenital muscular dystrophies

A. Pini[1], M. Giannotta[1], L. Maltoni[2], S.C. Previtali[3], G. Lattanzi[4], A. D'Amico[5], F.M. Santorelli[6], G. Astrea[6]

[1] UOC di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna; [2] UOC di Neuropsichiatria Infantile, Dipartimento di Scienze Mediche e Chirurgiche Università di Bologna; [3] Istituto di Neurologia Sperimentale, Unità di Ricerca Rigenerazione Neuromuscolare IRCCS Ospedale San Raffaele, Milano; [4] CNR Istituto di Genetica Molecolare (IGM-CNR), Bologna; [5] Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma; [6] IRCCS Fondazione Stella Maris, Pisa
e il CMD-Italian Network: R. Battini, A. Berardinelli, E. Bertini, C. Bruno, D. Cassandrini, M. Catteruccia, G.P. Comi, F. Fattori, C. Fiorillo, F. Magri, E. Mercuri, S. Messina, T. Mongini, M. Mora, F. Morani, F. Moro, M. Pane, E. Pegoraro, A. Pini, L. Politano, F. Ricci, M. Sframeli, A. Toscano

Riassunto

Le distrofie muscolari congenite (DMC) sono un gruppo di malattie rare su base genetica molto diverse l'una dall'altra per gravità, evoluzione clinica e meccanismi biochimici. Gli elementi che le accomunano e le caratterizzano nosograficamente sono l'esordio della debolezza muscolare alla nascita o nei primi mesi di vita associata a ipotonia, la presenza di retrazioni muscolo tendinee precoci e un quadro distrofico alla biopsia muscolare. I recenti progressi nell'ambito delle neuroscienze hanno permesso di individuare un sempre più ampio numero di geni causativi, a loro volta coinvolti nella formazione di differenti proteine con specifici meccanismi patogenetici. Ciò ha comportato un aumento di complessità nella classificazione delle DMC, che attualmente è basata sia sul tipo di proteina deficitaria, sia sulla precedente nomenclatura per sindromi cliniche. Si è inoltre assistito a un cambiamento nella gestione dei pazienti con DMC, poiché è stato introdotto un approccio multidisciplinare che consideri il paziente nella sua complessità e non soltanto analizzando una specifica problematica. I pazienti con DMC possono infatti presentare, oltre alla debolezza muscolare e alle possibili conseguenti complicanze respiratorie, nutrizionali e osteoarticolari, anche disabilità intellettiva, problemi di linguaggio, disturbo autistico, epilessia, neuropatia periferica, deficit visivo, problematiche odontoiatriche, microcefalia o macrocrania, associate o meno ad anomalie malformative cerebrali e cerebellari e/o della sostanza bianca cerebrale. Trattandosi di forme genetiche, una diagnosi corretta è fondamentale, oltre che per formulare prospettive prognostiche, anche per sorvegliare la comparsa delle complicanze prevedibili in base alla storia naturale e per orientare alla consulenza genetica.

Parole chiave: Distrofia muscolare congenita, Lattante ipotonico, Disabilità intellettiva

Summary

Congenital Muscular Dystrophies (CMD) are rare genetic diseases that differ for severity degree, outcome and causative biochemical mechanisms. Weakness is usually present at birth or in the first months of life associated with hypotonia. An early onset of joint contractures and a dystrophic pattern on muscle biopsy are usually present. Recent advances in neurosciences identified an always increasing number of causative genes, that are involved in different protein structures with a specific pathogenic mechanism. For this reason, the complexity of DMC classification is increasing. The current classification is actually based both on the specific protein deficiency and on the previous syndromic nomenclature. Management of DMC patients is also improving in the last years. Actually, an integrated multidisciplinary approach is the best modality to cure these patients, considering the clinical complexity and notonly well analyzing a single problem. Patients with DMC could have cardiac involvement, respiratory failure, physiatric and orthopedic problems, nutritional difficulties, ocular and orthodontic problems, peripheral neuropathy, micro or macrocephaly, cerebral and cerebellar abnormalities but also cognitive and language impairment, autistic spectrum disorders and epilepsy. Since CMD are genetic diseases, they need a specific diagnosis to give an accurate prognosis, prevent complications and provide genetic counselling.

Key words: Congenital muscular dystrophy, Floppy infant, Intellectual disability

CORRISPONDENZA
Antonella Pini, UOC di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche di Bologna - E-mail: antonella.pini@isnb.it

INTRODUZIONE

Le distrofie muscolari congenite (DMC) sono un gruppo di malattie rare su base genetica che differiscono tra loro per gravità, evoluzione clinica e meccanismi patogenetici [1-5]. Gli elementi che le accomunano e le caratterizzano nosograficamente sono l'esordio della debolezza muscolare alla nascita o nei primi mesi di vita, la presenza di retrazioni muscolo tendinee precoci e un quadro distrofico alla biopsia muscolare. Questi aspetti possono essere più o meno evidenti e gravi alla nascita e nei primi mesi di vita. Vi sono infatti alcune forme severe che si presentano con il quadro del lattante ipotonico (*floppy infant),* in cui in determinati casi si può associare una grave compromissione dello stato di salute generale con rischio di vita. In altre forme vi è una minor compromissione funzionale, con possibilità di raggiungere il cammino autonomo e lunga sopravvivenza. Queste ultime forme possono essere rilevate in epoca più tardiva, anche oltre il primo anno di vita, ma avere comunque delle caratteristiche cliniche già presenti in epoche più precoci, come ad esempio un ritardo posturo-motorio o un'importante lassità legamentosa.

Le DMC possono presentare alterazioni dello sviluppo cerebrale e del cervelletto, disabilità intellettiva ed epilessia. Dal punto di vista clinico, possono inoltre associarsi problematiche cardiologiche, respiratorie, ortopediche, nutrizionali, della vista o odontoiatriche [6 7]. In considerazione della complessità di tali comorbilità, che non possono essere considerate singolarmente, recentemente si è assistito a un cambiamento nella gestione dei pazienti con DMC, poiché è stato introdotto un approccio multidisciplinare integrato che considera il paziente nella sua complessità e non soltanto analizzando una specifica problematica. Solamente attraverso questa modalità è infatti possibile una presa in carico adeguata di questi pazienti e delle loro famiglie [8 9].

L'eziologia delle DMC è genetica e pertanto si tratta di patologie potenzialmente ereditabili, solitamente con modalità recessiva o più raramente dominante. In alcuni casi la mutazione dominante compare *de novo* al momento dell'inizio della formazione dell'embrione e non è presente nei genitori [4]. Prima di classificare una mutazione dominante come *de novo*, è importante effettuare l'indagine genetica anche sui genitori, in quanto un'alterazione in uno dei geni causativi di DMC può causare quadri clinici differenti, con un esordio più tardivo, con le caratteristiche ad esempio delle distrofie dei cingoli. Inoltre, mutazioni in un gene che causa abitualmente una miopatia congenita strutturale (come il gene *RYR1* per la *miopatia central core*) possono causare anche un quadro distrofico congenito. Il meccanismo patogenetico che spieghi come un'alterazione su uno stesso gene porti a sviluppare una forma di distrofia dei cingoli o una miopatia congenita strutturale piuttosto che una DMC non è ben definito.

I recenti progressi nell'ambito delle neuroscienze hanno permesso di individuare un sempre più ampio numero di geni causativi, a loro volta coinvolti nella formazione di differenti proteine con specifici meccanismi patogenetici. Ciò ha comportato un aumento di complessità nella classificazione delle DMC, che attualmente è basata sia sulla sede e tipologia delle proteine coinvolte e/o del principale meccanismo patogeneticosia sulla precedente nomenclatura per sindromi cliniche [1-4].

FORME PRINCIPALI

Si possono distinguere le seguenti principali forme:

a. forme dovute a mutazioni nei geni preposti alla sintesi di **proteine strutturali** della **membrana basale** o della **matrice extracellulare** delle fibre muscolari scheletriche: la *merosina* (detta anche *laminina alfa-2*) responsabile della DMC da difetto di Merosina o MDC1A, il *collagene 6* responsabile delle forme di Ullrich (più grave) e Bethlem (più lieve) e l'*integrina alfa-7*;
b. forme legate a difetti genetici riguardanti **proteine enzimatiche** coinvolte nella **glicosilazione** (meccanismo biochimico che regola molte attività cellulari e attraverso il quale vengono nella persona normale aggiunti dei gruppi di zuccheri a una proteina che viene pertanto *glicosilata* per potere funzionare bene) **dell'alfa-distroglicano o *glicosil transferasi***, come ad esempio *POMT1*, *POMT2*, *POMGnT1*, *Fukutina*, *FKRP*, *LARGE,* responsabili della DMC di Fukuyama, della sindrome muscolo-occhio-cervello, della sindrome di Walker-Warburg, malattia molto severa, e di altre forme;
c. forme dovute a mutazioni in geni coinvolti nella produzione di proteine **dell'involucro dei nuclei cellulari** quali la Lamina A/C e la nesprina;
d. forme dovute ad alterazioni del gene che codifica per la selenoproteina 1, proteina del **reticolo endoplasmatico**, che determina forme di DMC associate a rigidità del rachide, scoliosi e insufficienza respiratoria restrittiva.

Dati epidemiologici e studi di popolazione

In letteratura vi sono dati contrastanti riguardo la prevalenza di tali patologie nella popolazione, dovuti verosimilmente alle diverse metodologie di reclutamento dei casi adottate nei vari lavori effettuati. Vi sono tuttavia reali differenze tra vari paesi, anche a causa dell'effetto del fondatore; ad esempio in Giappone l'alfa-distroglicanopatia più diffusa è quella causata da mutazione nel

gene della *Fukutina* [10], mentre in altri paesi tale mutazione è piuttosto rara.
Per quanto concerne l'Italia, in un recente studio multicentrico le forme più rappresentate sono risultate essere quelle da difetto della glicosilazione dell'alfa distroglicano (40,18%), seguite dai difetti di merosina (24,11%) e dai difetti del collageno VI (20,24%), mentre i difetti della Lamina A/C e della selenoproteina 1 sono risultati meno frequentemente riscontrati (rispettivamente 5,95% e 6,25%) [11]. Uno studio condotto in UK partendo dalle analisi genetiche effettuate e centralizzate a Londra e Newcastle in UK ha mostrato una maggiore prevalenza dei difetti di merosina rispetto ai difetti di glicosilazione, mentre le forme da mutazioni nella selenoproteina e i difetti della lamina A/C prevalgono rispetto a quanto raccolto in Italia [12].
Descriviamo di seguito più nel dettaglio queste principali forme di DMC con aggiornamenti circa le conoscenze sui meccanismi patogenetici e sui possibili approcci terapeutici.

DEFICIT DI MEROSINA (O LAMININA ALFA-2 O MDC1A)

Nei deficit completi di merosina solitamente l'esordio della sintomatologia è alla nascita o nei primi mesi di vita. I bambini con questo deficit presentano un quadro di floppy infant con debolezza della muscolatura del volto e masticatoria [4 13]. Il volto assume una aspetto caratteristico con mandibola allungata e nel tempo si sviluppano e si strutturano alterazioni temporo-mandibolari, palato molto ristretto e anomalie occlusali che compromettono eloquio, deglutizione e masticazione. Per tale ragione risulta fondamentale anche una presa in carico odontoiatrica e ortodontica a partire dai 6 anni di vita. Sono inoltre presenti retrazioni muscolotendinee precoci e rialzo degli enzimi muscolari. Non vengono generalmente acquisite la stazione eretta e la deambulazione autonoma [1].
La risonanza magnetica cerebrale può presentare un quadro caratteristico che consiste in un'iperintensità di segnale della sostanza bianca in sequenze FLAIR e T2 pesate, a volte, nella pratica clinica, erroneamente interpretato come di tipo leucodistrofico. Tali aspetti compaiono nel primo anno di vita e si completano nel secondo, generalmente risparmiano la capsula interna e il corpo calloso e possono associarsi alla formazione di cisti subcorticali, piuttosto che ad alterazioni malformative, presenti solo in una piccola percentuale di pazienti (5%), e costituite per lo più da displasie corticali occipitali e ipoplasia cerebellare. Nell'80% dei casi non è riscontrabile disabilità intellettiva; nel 30% dei pazienti, compresi quelli senza chiare malformazioni corticali possono presentarsi crisi epilettiche. Le crisi epilettiche possono essere convulsive generalizzate, crisi di assenza, crisi focali o a tipo di spasmo talora nel contesto di una sindrome di West [14-16]. A causa della debolezza muscolare, le crisi possono avere una semeiologia particolarmente sfumata e talora passare inosservate o sotto diagnosticate anche perché confuse con crisi respiratorie a causa della cianosi. Per tale ragione in questa patologia è sempre importante effettuare una anamnesi epilettologica accurata e un attento monitoraggio elettroencefalografico per una corretta diagnosi e un'adeguata terapia farmacologica antiepilettica se necessaria. Le crisi sono generalmente responsive alla terapia. Le abilità intellettive sono generalmente preservate, sono tuttavia segnalate difficoltà visuo-percettive [4]. Può associarsi neuropatia periferica.
La biopsia muscolare è utile per la diagnosi in quanto mostra un quadro distrofico con assenza della merosina all'immunoistochimica. Il gene responsabile di tale forma è situato sul cromosoma 6q22-23 (gene *LAMA 2*) e varie mutazioni sono state identificate.
In conclusione una MDC1A con difetto primario di merosina è da sospettare di fronte a un lattante con ipotonia generalizzata e ipomimia, associata a un regolare sviluppo intellettivo, a retrazioni muscolo tendinee, a rialzo delle CPK. Può esservi consanguineità tra i genitori. L'effettuazione della biopsia muscolare con analisi immunoistochimica della merosina e successiva specifica analisi genetica conducono alla diagnosi completa.

Patogenesi e prospettive terapeutiche

La patogenesi della malattia è legata alla mancanza (completa o parziale) di merosina (denominata anche *laminina211* o *laminina M* o *laminina alfa-2*) nella membrana basale del tessuto muscolare e di quello nervoso. Di conseguenza, i suoi principali recettori, che nel muscolo sono il distroglicano (che con la sua subunità alfa si lega alla laminina e con quella beta partecipa al complesso recettoriale con i sarcoglicani e la distrofina) e l'integrina alfa7/beta1 non sono più in grado di mettere in comunicazione la membrana basale con il citoscheletro, alterando meccanismi di signaling necessari per varie funzioni cellulari, tra cui la sopravvivenza e il mantenimento della complessa struttura cellulare. Questo evento ha indotto alcuni ricercatori a generare delle proteine di fusione che possano mettersi a ponte tra il distroglicano e le altre isoforme della laminina e favorire la loro interazione per riattivare i signaling cellulari mancanti e mitigare la malattia [17]. Studiando topi KO per la laminina211 si è dimostrato infatti un significativo aumento di apoptosi delle fibre muscolari [18], poi confermato mediante la creazione di topi transgenici in cui se si modificavano geni coinvolti nel segnale dell'apoptosi, come BAX e BCL2, si era in grado di rallentare

in decorso della malattia nei topi KO e di migliorare in modo significativo la sopravvivenza [19 20]. Da questi studi nasce l'idea di studi preclinici con il farmaco Omigapil, che blocca il signaling apoptotico a livello dell'attivazione di GAPDH, e che hanno mostrato un significativo miglioramento della malattia [21]. Nel 2018 è terminato uno studio di fase I condotto presso l'Istituto NIH di Washington in pazienti affetti da MDC1A che non ha mostrato tossicità, e nei prossimi mesi è previsto l'avvio di uno studio di fase 2. La terapia genica e quella cellulare sono state altresì studiate nei modelli animali di MDC1A. Il frammento mini-agrina è stato inserito in un vettore virale adeno-associato e alcuni topi KO per merosina sono stati trattati con successo [22]. In modo simile, cellule staminali denominate mesoangioblasti, capaci di riformare nei muscoli scheletrici il tessuto muscolare, sono state ingegnerizzate (mediante vettori lentovirali) per produrre alte concentrazioni di mini-agrina) e quindi iniettate in topi KO per merosina. Anche in questo caso si è osservato un significativo miglioramento della malattia [23]. Infine, è stato recentemente pubblicato il primo esempio di gene editing, in cui mediante il sistema CRISPR-Cas9 si è "riparato" il DNA di un modello animale di MDC1A con una completa guarigione dalla malattia [24].

In conclusione, l'avanzamento delle conoscenze sui meccanismi patogenetici della MDC1A e quello delle tecnologie molecolari prospettano molteplici possibilità di terapia in un prossimo futuro per queste gravi forme di distrofia muscolare.

DMC DA DIFETTO DI COLLAGENO VI, FORMA DI ULLRICH

La distrofia muscolare congenita di Ullrich (UCMD) è una forma di DMC associata a carenza di collageno VI [1 25]. Il fenotipo Ullrich si riferisce alla forma grave delle miopatie correlate al collagene VI. Elementi caratteristici della UCMD sono: esordio precoce alla nascita o nei primi mesi o anni di vita, estrema ipermobilità articolare distale associata a rigidità più prossimale e debolezza muscolare. La sporgenza posteriore dei calcagni nell'appoggio del piede sul piano è un segno peculiare frequentemente osservato. Il coinvolgimento cutaneo comprende la pelle morbida del palmo delle mani e delle piante dei piedi, la tendenza alla formazione di cheloidi e l'ipercheratosi follicolare. La rigidità asimmetrica della muscolatura del collo con presenza di "torcicollo" e le modificazioni scheletriche (es. scoliosi, lussazione dell'anca) sono ulteriori caratteristiche cliniche molto comuni. Scoliosi, deformità toraciche e debolezza diaframmatica sono principalmente responsabili dello sviluppo dell'insufficienza respiratoria restrittiva progressiva, che generalmente richiede una ventilazione assistita associata ad ausili per la tosse. Nei fenotipi più gravi a esordio precoce, l'andatura indipendente non viene mai raggiunta, mentre nelle forme più lievi i pazienti possono camminare in modo indipendente, anche se col tempo il cammino viene generalmente perso nella prima adolescenza. Non si associano né difficoltà intellettive né coinvolgimento cardiaco. Non infrequentemente questa patologia viene confusa con la sindrome di Ehlers Danlos dovuta a deficit di altri tipi di collageno o con altre sindromi con ipermobilità articolare [25]. La risonanza magnetica muscolare può aiutare la diagnosi mostrando un tipico pattern nell'UCMD, costituito da un coinvolgimento diffuso e variabile dei muscoli della coscia, dall'aspetto irregolare del retto femorale e dal relativo risparmio di sartorio, gracile e adduttore lungo.

La diagnosi richiede il riscontro del deficit di collageno VI nel muscolo e nei fibroblasti cutanei e di mutazioni nei geni relativi a una delle 3 catene (A1, A2 e A3) del collageno VI.

Patogenesi e prospettive terapeutiche

Il collageno VI è una glicoproteina eterotrimerica onnipresente; si trova in molte matrici extracellulari in cui costituisce una rete microfibrillare tra la matrice interstiziale e la lamina basale. La struttura del collageno VI è caratterizzata da tre catene alfa, alpha1 (VI), alpha2 (VI) e alpha3 (VI), codificate dai geni *COL6A1, COL6A2* (chr 21q22.3) e *COL6A3* (chr 2q37), rispettivamente, che sono assemblati insieme prendendo la forma di una proteina monomerica. Una mutazione patologica provoca una carenza proteica di gradi variabili inclusa la completa assenza di collagene VI. La forma di Ullrich più grave è generalmente trasmessa con modalità recessiva, mentre la forma di Bethlem, più benigna e a esordio più tardivo, è causata nella quasi totalità dei casi da mutazioni dominanti. Le conseguenze sul muscolo includono fibrosi, alterazioni distrofiche ed evidenza di aumento dell'apoptosi mediata da disfunzione mitocondriale. Tuttavia il ruolo del collageno VI nel muscolo non è ancora del tutto noto così come non è del tutto nota la patogenesi della malattia. La microscopia elettronica ha mostrato una totale assenza di microfibrille, che di solito si osservano nell'interstizio associate alle fibre collagene ed è stato suggerito che la perdita di ancoraggio tra la lamina basale della miocellula e l'interstizio possa essere il meccanismo molecolare della distrofia muscolare. Tuttavia altri studi sia su modelli animali che su cellule in coltura di pazienti, hanno dimostrato una alterazione della morfologia e funzione mitocondriale e una riduzione dell'autofagia [26]. L'autofagia è un processo autodegradativo della cellula essenziale per recuperare i nutrienti durante il digiuno e per la rimozione di

componenti cellulari dannosi o danneggiati. Nei muscoli scheletrici di topi malati (*COL6A1*), è stata dimostrata un'alterazione della formazione dell'autofagosoma con accumulo di mitocondri disfunzionali e di organelli nelle miofibre, portando all'apoptosi e alla miopatia e la riattivazione dell'autofagia ha migliorato la patologia muscolare in modelli animali. Sulla base di queste evidenze è stato tentato un approccio terapeutico tramite dieta ipoproteica normocalorica in un campione di 7 soggetti affetti da miopatia da difetto del collageno VI. Dopo 1 anno di dieta si è osservato un miglioramento dei biomarker cellulari legati all'autofagia, alla funzione mitocondriale e all'apoptosi. I pazienti hanno mostrato un miglioramento in alcune scale funzionali motorie e nelle prove di funzione respiratoria [27].
Ulteriori studi recenti hanno testato l'efficacia di oligonucleotidi antisenso su fibroblasti cutanei nel silenziare l'espressione di trascritti mutati e, di conseguenza, l'aumento della deposizione di collageno VI funzionale nella matrice extracellulare [28]. Infine sono in corso studi per prospettive di terapia genica.

LE DISTROFIE MUSCOLARI CONGENITE CON COINVOLGIMENTO DEL SISTEMA NERVOSO CENTRALE

A oggi, il coinvolgimento del sistema nervoso centrale (SNC) nelle DMC rappresenta quasi una caratteristica distintiva delle forme legate all'alterazione della glicosilazione dell'alfa-distroglicano a livello della membrana muscolare (α-*Dystroglycan-related congenital muscular dystrophies*/DG-DMC), sebbene ciò possa essere presente, come già descritto, nelle forme legate al deficit di merosina o, più di recente, sia stato riportato in forme ancora più rare in associazione all'alterazione del gene *SYNE1* e *CHKB* [29].
Proprio per tale specificità, e in controtendenza con le complessive classificazioni nelle DMC, la suddivisione delle DG-DMC si basa ancora oggi sui fenotipi clinici, in particolare sul grado di interessamento del SNC, piuttosto che sul genotipo. Si distinguono infatti forme associate ad alterazioni strutturali cerebrali e oculari (*Walker-Warburg syndrome, Muscle-Eye-Brain disease, Fukuyama-DMC*), forme con la sola presenza di disabilità intellettiva in assenza di malformazioni strutturali e forme in cui non è presente né disabilità intellettiva né malformazioni cerebrali. Le forme più gravi generalmente hanno esordio precoce con grave ipotonia e ipostenia generalizzate, turbe della deglutizione, distress respiratorio, anomalie oculari o retiniche e crisi epilettiche [30]. Al neuroimaging è possibile riscontrare alterazioni strutturali malformative evidenti del cervello e del cervelletto (spesso con cisti cerebellari). La forma di Walker Warburg, che è quella con maggiore compromissione e che spesso porta a *exitus* nel primo anno di vita, presenta un grave idrocefalo e una corteccia cerebrale con aspetto "ad acciottolato" (cobblestone), in cui le circonvoluzioni appaiono semplificate [31].
La sindrome muscolo-occhio-cervello o *Muscle-Eye-Brain Disease* (MEB) si presenta, come la precedente, generalmente con il quadro del lattante ipotonico ipostenico, contempla anomalie visive, disabilità intellettiva, epilessia e anomalie strutturali del cervello e del cervelletto con coinvolgimento abbastanza caratteristico del tronco dell'encefalo, ma è generalmente meno grave consentendo di raggiungere alcune tappe dello sviluppo motorio, come la posizione seduta e talora anche il cammino [1 32].
La distrofia muscolare congenita di Fukuyama è generalmente meno severa rispetto alla MEB, in particolare per quanto concerne il coinvolgimento oculare e cerebrale. In Giappone è la forma di distrofia muscolare più frequente dopo la Duchenne [33]; è tuttavia presente anche in altre popolazioni, ma con prevalenza notevolmente inferiore.
Il segno distintivo del coinvolgimento del sistema nervoso centrale nelle DG-DMC alla RMN cerebrale è rappresentato dal complesso lissencefalia "cobblestone", che va dalla lissencefalia completa (di tipo II) alla pachigiria o polimicrogiria focali a sede per lo più frontale. Una displasia corticale occipitale può comunque far parte dello spettro fenotipico. I reperti sottotentoriali più caratteristici comprendono l'ipoplasia del mesencefalo, un tetto pontino relativamente ispessito, alterazioni pontomesencefaliche con fessura ventrale pontina, un'ipoplasia pontocerebellare, anomalie della foliazione cerebellare e presenza di (micro)cisti cerebellari. Alcuni pazienti possono avere solo una polimicrogiria frontale senza coinvolgimento sottotentoriale, mentre altri possono presentare solo coinvolgimento sottotentoriale. Reperti non infrequenti alla RMN possono essere l'idrocefalo e l'encefalocele occipitale. In alcuni casi è riscontrabile un'iperintensità di segnale irregolare o confluente, ma transitoria della sostanza bianca, rilevabile in sequenze FLAIR o T2 pesate [10 34 35].
Sebbene non sia chiaro a oggi, se alcune anomalie del sistema nervoso centrale siano associate a mutazioni in specifici geni, sembra comunque che alcuni geni più di altri possano associarsi a fenotipi clinici severi. In particolare, anomalie sottotentoriali sono più frequentemente osservate in associazione a mutazioni in *POMGnT1* e *FKRP* e recentemente sono stati descritte tali anomalie in pazienti con mutazioni in *POMT2*, *POMT1* e *LARGE*. Nella popolazione italiana una RMN encefalo priva di anomalie di significato associata a disabilità intellettiva e microcefalia rappresenta invece il dato di più frequente riscontro in pazienti con mutazioni in *POMT1* [37].

Il riconoscimento di nuovi geni ha contribuito a complicare lo scenario e rendere meno "precise" le correlazioni genotipo-fenotipo. Sembra infatti che alcuni geni, in particolare alcuni di quelli di nuova generazione, possano associarsi sia a forme di WWS che a forme lievi con il solo coinvolgimento sottotentoriale o in cui non sono rilevabili né alterazioni strutturali né disabilità intellettiva. Tra questi, oltre al gene *FKRP* le cui mutazioni possono associarsi a fenotipi WW o MEB o solo LGMD molto lievi senza disabilità intellettiva e con neuroimmgini nella norma, riconosciamo in particolare il gene *ISPD* [38] o il gene *TMEM5* [39]; ancora più pleiomorfo è il gene *GMPPB* [40]. Mutazioni in GTDC2 sono invece al momento state identificate in famiglie WWS consanguinee [41], mentre mutazioni in B3GALNT2 e in SGK196 causano DMC con anomalie dell'encefalo e oculari, coerenti con lo spettro dei fenotipi legati al deficit di alfa-distroglicano [42].

I disordini congeniti della glicosilazione associati a mutazioni in *DPM1*, *DPM2* e *DPM3*, possono anch'essi associarsi a disturbi cognitivi, microcefalia, atrofia pontocerebellare e alterazioni della sostanza bianca sottocorticale e in particolare sono caratterizzati dalla presenza di grave epilessia mioclonica.

Tra le forme non DG-DMC in cui è possibile riconoscere il coinvolgimento del sistema nervoso centrale, da segnalare le forme causate da mutazioni nel gene laminina-alfa2 (*LAMA2*), che causano la MDC1A da difetto di merosina (o laminina M o laminina-alfa2 o laminina211 a seconda della nomenclatura) già descritta in altra parte di questo capitolo.

Anche nelle forme di DMC associate a deficit dell'enzima colina chinasi beta (CHKB), sono riscontrabili disabilità intellettiva severa, microcefalia, crisi epilettiche e turbe neurocomportamentali dello spettro autistico, ma in queste forme la RMN encefalo appare per lo più nella norma, fatta eccezione per un unico riscontro di riduzione del picco creatina/colina allo studio spettroscopico [29]. Altre caratteristiche distintive di questa forma di DMC sono peculiari alterazioni strutturali dei mitocondri (tanto da essere denominata CMD con anomalie mitocondriali strutturali CMDmt) e, tra i segni clinici, la presenza di alterazioni cutanee (ittiosi), cardiomiopatia dilatativa, dismorfisimi facciali e ipoacusia. Mutazioni a carico del gene *INPP5K*, sono state recentemente riscontrate in pazienti con caratteristiche fenotipiche variabili, a ponte tra le DG-DMC e la sindrome di Marinesco-Sjögren. Questi pazienti presentano una disabilità intellettiva variabile associata a cataratta e a bassa statura e alla RMN cerebrale non presentano generalmente anomalie strutturali né sopra né sottotentoriali.

L'ESPERIENZA DELLA RICERCA ITALIANA

In un recente studio di popolazione sulla casistica italiana (Astrea G, dati non pubblicati), che ha visto il coinvolgimento dei principali centri di terzo livello coinvolti nella diagnosi e della presa in carico delle distrofie muscolari congenite e finalizzato ad approfondire la caratterizzazione genetica di pazienti DMC attraverso l'utilizzo di tecniche di nuova generazione ("targeted" re-sequencing – NGS –) sono stati analizzati 89 pazienti. Considerando i 49 pazienti che hanno ottenuto una caratterizzazione genetica, si è potuto verificare che circa il 40% di essi (19/49) presentavano uno spettro fenotipico di coinvolgimento del SNC che comprendeva sia quadri più severi tipo WWS che casi con la sola disabilità intellettiva. In linea con i dati della letteratura, 14 di essi (74%) presentavano una DG-DMC.

Nella casistica italiana studiata, le DG-DMC con disabilità intellettiva sono risultate prevalentemente causate da mutazioni a carico dei geni *GMPPB* e *POMGnT1*; in particolare i casi con fenotipo centrale più lieve si associano a mutazioni nel gene *GMPPB*, mentre fenotipi MEB, così come precedentemente riportato in letteratura [10], sono più frequentemente associati a mutazioni in *POMGnT1*. Diversamente da altri studi [32] le mutazioni in *POMT2* sono risultate meno frequenti nella casistica studiata e presenti indistintamente anche in pazienti senza disabilità intellettiva. In linea generale, il fenotipo di più frequente riscontro nella popolazione italiana sembra essere rappresentato dalla sola presenza di disabilità intellettiva, in assenza di anomalie strutturali. Lo studio di ricerca multicentrico ha permesso di caratterizzare anche fenotipi e genotipi peculiari. Si è potuto identificare un paziente con mutazione in *TMEM5*, fenotipo muscolare lieve e disabilità intellettiva e alterazioni strutturali sopra e sottotentoriali. In maniera conforme alla letteratura, tra i soggetti senza coinvolgimento del SNC clinicamente evidente, il 60% presentava mutazioni a carico del gene *LAMA2*.

DMC COLLEGATA A MUTAZIONI NEL GENE DELLA LAMINA A/C

Questo tipo di DMC può aver un esordio molto precoce, a volte fin dalla nascita con un quadro di floppy infant con difficoltà respiratorie e di alimentazione [1]. Le forme più gravi possono evolvere in una disabilità motoria severa e persistente, mentre nelle forme più lievi viene solitamente acquisita la deambulazione autonoma. Elementi caratteristici di questa forma di DMC sono il "capo cadente"(difficoltà a sollevare la testa) in particolare in posizione quadrupedica o nell'alzarsi da terra e una rigidità del rachide associata a scoliosi che nel tempo può

portare a un deficit respiratorio restrittivo. Solitamente il pannicolo adiposo è scarsamente rappresentato e la cute appare sottile. Vi sono poi forme in cui la mutazione della Lamina A/C si manifesta più tardivamente (distrofia di Emery-Dreifuss), con un quadro miopatico più lieve, ma che presenta tuttavia retrazioni a caviglie e gomiti ed elevato rischio di sviluppare nel tempo aritmie cardiache anche fatali [43 44]. Il ritmo cardiaco va pertanto attentamente monitorato in questa patologia.
Alla biopsia muscolare possono essere presenti importanti aspetti infiammatori, similmente a una miosite; per tale ragione l'uso del cortisone può essere tenuto in considerazione [45].
La mutazione più comune in pazienti affetti da distrofia muscolare congenita da lamina A/C (L-CMD) è una mutazione puntiforme nell'arginina 249 che muta in triptofano. Tuttavia altre mutazioni sullo stesso o su altri residui aminoacidici sono state associate alle stesse forme. La patogenesi delle distrofie muscolari congenite da lamina A/C è ancora poco definita. Sulla base dei dati riportati in cellule e sieri di individui affetti da distrofia muscolare di Emery-Dreifuss (causata da mutazioni dello stesso gene e con alcune caratteristiche cliniche sovrapponibili), la patogenesi della L-CMD può essere ricondotta ad almeno due meccanismi ben caratterizzati in studi di biologia cellulare. Il primo è un effetto della lamina A/C mutata sul posizionamento dei nuclei e quindi sulla formazione della fibra muscolare a partire dai miotubi [46]. Il secondo meccanismo patogenetico è riconducibile a un effetto sistemico della mutazione che causa un secretoma alterato [47]. L'aspetto sistemico è particolarmente interessante anche per le chiare prospettive terapeutiche che deriverebbero da una chiara definizione del secretoma di pazienti L-CMD. Studi in corso indicano che il profilo di secrezione delle citochine in L-CMD (aumento di TGFbeta 2) è diverso da quello descritto nel siero di pazienti Emery-Dreifuss da difetto di emerina, suggerendo che questa condizione contribuisca alla maggiore severità del fenotipo [47]. Tra le prospettive terapeutiche attualmente oggetto di studio per la L-CMD, la più attraente, sebbene non priva di punti critici, è sicuramente quella basata sulla somministrazione del complesso enzimatico CRISPR/Cas9 per la correzione della mutazione genica.

DMC DA MUTAZIONI NELLA SELENOPROTEINA N (GENE *SEPN1*)

Questa forma di DMC spesso causa ipotonia fin dalla nascita o nei primi mesi di vita con successivo ritardo nelle acquisizioni motorie [3]; tuttavia viene solitamente acquisita la deambulazione autonoma. Tipicamente è inizialmente presente un'ipostenia dei muscoli estensori del capo (con "capo cadente") che successivamente evolve in una rigidità del rachide generalmente associata a scoliosi [1]. La rigidità del rachide nel tempo può associarsi a insufficienza respiratoria restrittiva che richiede un attento monitoraggio, in quanto è presente un elevato rischio di acuzie respiratoria grave già al termine della prima decade di vita o durante l'adolescenza [33]. È fondamentale prevenire queste complicanze, anche se il paziente è ancora in grado di deambulare e non presenta sintomi che compromettano lo svolgimento delle attività quotidiane; pertanto vengono effettuati periodici controlli della spirometria e dei parametri respiratori nel sonno e, quando necessario, viene introdotta la ventilazione notturna non invasiva.

CONCLUSIONI

Le DMC sono patologie complesse che possono avere punti in comune, ma che presentano elementi caratteristici che le contraddistinguono tra loro. Grazie alle recenti scoperte scientifiche, in particolare in ambito genetico, attualmente è fondamentale effettuare una diagnosi corretta e completa, al fine di fornire indicazioni prognostiche e sorvegliare la comparsa delle complicanze prevedibili, oltre che per dare un corretto consiglio genetico. Poiché le DMC sono patologie rare, la diagnosi è importante che venga effettuata presso centri specializzati in grado di orientare al meglio le indagini e rilevare le complicanze prevedibili fin dal loro esordio. La sintomatologia clinica può essere facilmente evocatrice verso una miopatia distrofica per la presenza di debolezza muscolare, retrazioni muscolo tendinee precoci, elevazione degli enzimi muscolari o per la presenza di forme malformative complesse specie con coinvolgimento della fossa cranica posteriore talora individuabili alle ecografie prenatali. Ma talora l'elemento clinico prevalente è la disabilità intellettiva o le turbe neuro comportamentali che sembrano giustificare di per sé l'ipotonia, il ritardo posturo motorio e la pochezza o l'atipia dei movimenti volontari attivi; nella diagnostica differenziale, in questi casi, la distrofia muscolare congenita non viene tenuta sempre in considerazione, perché la si ritiene una malattia prevalente o esclusivamente muscolare. Se è vero che a volte la forza elementare è relativamente conservata e la debolezza è difficilmente individuabile, il pediatra di libera scelta e il NPI territoriale, alla cui osservazione giunge un bambino con ritardo posturo motorio e ipotonia con sospetto coinvolgimento intellettivo o della comunicazione con o senza micro o macrocefalia, deve indirizzare il bambino e la sua famiglia a un centro terziario per la diagnosi delle malattie neurologiche dell'età evolutiva, incluse competenze nelle patologie neuromuscolari. Pur data la complessità e la quantità di forme genetiche sottostanti,

a una prima valutazione clinica competente può sorgere un orientamento diagnostico specifico verso una forma genetica piuttosto che un'altra [5 48]. Effettuando e valorizzando rispetto all'età del bambino in cui vengono eseguiti esami fondamentali quali il dosaggio della CPK, la visita oculistica completa, la RM encefalo e, se possibile, la RM muscolare o l'ecografia muscolare, l'EEG poligrafico in veglia e sonno, la biopsia muscolare (che riveli la presenza o meno di alcune proteine come la merosina, l'alfa distroglicano e il collageno VI, ma anche la presenza o meno di distrofina o di anomalie strutturali quali i cores centrali o i minicores), le indagini genetiche possono essere orientate. Vale la pena ribadire qui come i bimbi Duchenne possano presentare disabilità intellettiva anche grave e disturbo dello spettro autistico, associati a un ritardo nell'acquisizione delle tappe motorie e quelli con miopatia congenita strutturale (vedi capitolo specifico su questo monografico) possono presentare aspetti molto simili alle distrofie muscolari congenite. Talora la risonanza magnetica muscolare può fornire un importante contributo alla diagnosi, poiché in alcune forme vi è un pattern di interessamento muscolare specifico che orienta verso l'una o verso un'altra forma. In alcuni casi vi sono maggiori difficoltà diagnostiche, in quanto il quadro clinico-strumentale non appare particolarmente indicativo, per cui possono risultare utili tecniche diagnostiche molecolari di nuova generazione [49].

Non sono ancora disponibili terapie risolutive per le DMC, tuttavia è importante che i pazienti abbiano una presa in carico multidisciplinare sia in ospedale che fuori di esso, nella realtà territoriale. La diagnosi o almeno il sospetto diagnostico di una forma genetica il più delle volte autosomico recessiva deve essere il più tempestiva possibile anche per offrire ai genitori una consulenza genetica. È importante infine che i centri specialistici interagiscano con i centri di NPIA territoriali e con gli altri centri ospedalieri più periferici per la gestione quotidiana delle problematiche croniche di questi pazienti. Il team multidisciplinare dovrebbe essere specificamente formato nella realizzazione di percorsi di cura strutturati e personalizzati, che da un lato affrontino gli aspetti neurocognitivi e comportamentali ed emotivi e dall'altro prevedano il monitoraggio periodico e il trattamento delle complicanze in particolare respiratorie, cardiache, ortopediche, fisiatriche, nutrizionali, epilettologiche e sensoriali a seconda delle diverse forme.

Bibliografia

1 Reed UC. *Congenital muscular dystrophy. Part I: a review of phenotypical and diagnostic aspects.* Arq Neuropsiquiatr 2009;67:144-68.

2 Reed UC. *Congenital muscular dystrophy. Part II: a review of pathogenesis and therapeutic perspectives*. Arq Neuropsiquiatr 2009;67:343-62.

3 Mercuri E, Muntoni F. *The ever-expanding spectrum of congenital muscular dystrophies*. Ann Neurol 2012;72:9-17.

4 Bönnemann CG, Wang CH, Quijano-Roy S, et al.; Members of International Standard of Care Committee for Congenital Muscular Dystrophies. *Diagnostic approach to the congenital muscular dystrophies.* Neuromuscul Disord 2014;24:289-311.

5 Lawlor MW, Iannaccone ST, Mathews K, et al.; CMD Working Group. *NINDS common data elements for congenital muscular dystrophy clinical research: a National Institute for Neurological Disorders and Stroke Project*. J Neuromuscul Dis 2018;5:75-84.

6 Messina S, Bruno C, Moroni I, et al. *Congenital muscular dystrophies with cognitive impairment: a population study.* Neurology 2010;75:898-903.

7 Pane M, Messina S, Vasco G, et al. *Respiratory and cardiac function in congenital muscular dystrophies with alpha dystroglycan deficiency.* Neuromuscular Disord 2012;22:685-9.

8 Mary P, Servais L, Vialle R. *Neuromuscular diseases: diagnosis and management*. Orthop Traumatol Surg Res 2018;104:S89-S95.

9 Wang CH, Bönneman CG, Rutkowski A, et al.; International Standard of Care Committee for Congenital Muscular Dystrophy. *Consensus Statement on standard of care for congenital muscular dystrophies.* J Child Neurol 2010;25:1559-81.

10 Bertini E, D'Amico A, Gualandi F, et al. *Congenital muscular dystrophies: a brief review*. Semin Pediatr Neurol 2011;18:277-88.

11 Graziano A, Bianco F, D'Amico A, et al. *Prevalence of congenital muscular dystrophy in Italy*. Neurology 2015;84:904-11.

12 Sframeli M, Sarkozy A, Bertoli M, et al. *Congenitalmuscular dystrophies in the UK population: clinical and molecular spectrum of a large cohort diagnosed over a 12-year period.* Neuromuscul Disord 2017;27:793-803.

13 Philpot J, Cowan F, Pennock J, et al. *Merosin-deficient congenital muscular dystrophy: the spectrum of brain involvement on magnetic resonance imaging*. Neuromuscul Disord 1999;9:81-5.

14 Pini A, Merlini L, Tomé FM, et al. *Merosin-negative congenital muscular dystrophy, occipital epilepsy with periodic spasms and focal cortical dysplasia. Report of three Italian cases in two families.* Brain Dev 1996;18:316-22.

15 Vigliano P, Dassi P, Di Blasi C, et al. *LAMA2 stop-codon mutation: merosin-deficient congenital muscular dystrophy with occipital polymicrogyria, epilepsy and psychomotor regression*. Eur J Paediatr Neurol 2009;13:72-6.

16 Camacho A, Núñez N, Dekomien G, et al. *LAMA2-related congenital muscular dystrophy complicated by West syndrome.* Eur J Paediatr Neurol 2015;19:243-7.

17 Meinen S, Ruegg MA. *Congenital muscular dystrophy: mini-agrin delivers in mice*. Gene Ther 2006;13:869-70.

18 Miyagoe Y, Hanaoka K, Nonaka I, et al. *Laminin alpha2 chain-null mutant mice by targeted disruption of the*

Lama2 gene: a new model of merosin (laminin 2)-deficient congenital muscular dystrophy. FEBS Lett 1997;415:33-9.

19 Girgenrath M, Dominov JA, Kostek CA, et al. *Inhibition of apoptosis improves outcome in a model of congenital muscular dystrophy.* J Clin Invest 2004;114:1635-9.

20 Dominov JA, Kravetz AJ, Ardelt M, et al. *Muscle-specific BCL2 expression ameliorates muscle disease in laminin {alpha}2-deficient, but not in dystrophin-deficient, mice*. Hum Mol Genet 2005;14:1029-40.

21 Erb M, Meinen S, Barzaghi P, et al. *Omigapil ameliorates the pathology of muscle dystrophy caused by laminin-alpha2 deficiency.* J Pharmacol Exp Ther 2009;331:787-95.

22 Qiao C, Dai Y, Nikolova VD, et al. *Amelioration of muscle and nerve pathology in LAMA2 muscular dystrophy by AAV9-mini-agrin.* Mol Ther Methods Clin Dev 2018;9:47-56.

23 Domi T, Porrello E, Velardo D, et al. *Mesoangioblast delivery of miniagrin ameliorates murine model of merosin-deficient congenital muscular dystrophy type 1A*. Skelet Muscle 2015;5:30.

24 Kemaladewi DU, Maino E, Hyatt E, et al. *Correction of a splicing defect in a mouse model of congenital muscular dystrophy type 1A using a homology-directed-repair-independent mechanism.* Nat Med 2017;23:984-9.

25 Yonekawa T, Nishino I. *Ullrich congenital muscular dystrophy: clinicopathological features, natural history and pathomechamìnism(s).* J Neurol Neurosurg Psychiatry 2015;86:280-7.

26 Grumati P, Coletto L, Sabatelli P, et al. *Autophagy is defective in collagen VI muscular dystrophies and its reactivation rescues myofiber degeneration*. Nat Med 2010;16:1313-20.

27 Castagnaro S, Pellegrini C, Pellegrini M, et al. *Autophagy activation in COL6 myopathic patients by a low-protein-diet pilot trial*. Autophagy 2016;12:2484-95.

28 Marrosu E, Ala P, Muntoni F, et al. *Gapmer antisense oligonucleotides suppress the mutant allele of COL6A3 and restore functional protein in Ullrich muscular dystrophy.* Mol Ther Nucleic Acids 2017;8:416-27.

29 Haliloglu G, Talim B, Sel CG, et al. *Clinical characteristics of megaconial congenital muscular dystrophy due to choline kinase beta gene defects in a series of 15 patients*. J Inherit Metab Dis 2015;38:1099-108.

30 Muntoni F, Brockington M, Godfrey C, et al. *Muscular dystrophies due to defective glycosylation of dystroglycan.* Acta Myol 2007;26:129-35.

31 Mercuri E, Topaloglu H, Brockington M, et al. *Spectrum of brain changes in patients with congenital muscular dystrophy and FKRP gene mutations*. Arch Neurol 2006;63:251-7.

32 Godfrey C, Clement E, Mein R, et al. *Refining genotype phenotype correlations in muscular dystrophies with defective glycosylation of dystroglycan*. Brain 2007;130: 2725-35.

33 Fu XN, Xiong H. *Genetic and clinical advances of congenital muscular dystrophy*. Chin Med J (Eng) 2017;130:2624-31.

34 Clement E, Mercuri E, Godfrey C, et al. *Brain involvement in muscular dystrophies with defective dystroglycan glycosylation.* Ann Neurol 2008;64:573-82.

35 Quijano-Roy S, Marti-Carrera I, Makri S, et al. *Brain MRI abnormalities in muscular dystrophy due to FKRP mutations*. Brain Dev 2006;28:232-42.

36 Godfrey C, Clement E, Mein R, et al. *Refining genotype phenotype correlations in muscular dystrophies with defective glycosylation of dystroglycan*. Brain 2007;130:2725-35.

37 Messina S, Mora M, Pegoraro E, et al. *POMT1 and POMT2 mutations in CMD patients: a multicentric Italian study.* Neuromuscul Disord 2008;18:565-71.

38 Cirak S, Foley AR, Herrmann R, et al.; UK10K Consortium. *ISPD gene mutations are a common cause of congenital and limb-girdle muscular dystrophies*. Brain 2013;136:269-81.

39 Astrea G, Pezzini I, Picillo E, et al. *TMEM5-associated dystroglycanopathy presenting with CMD and mild limb-girdle muscle involvement*. Neuromuscul Disord 2016;26:459-61.

40 Astrea G, Romano A, Angelini C, et al.; Italian CMD Network. *Broad phenotypic spectrum and genotype-phenotype correlations in GMPPB-related dystroglycanopathies: an Italian cross-sectional study.* Orphanet J Rare Dis 2018;13:170.

41 Manzini MC, Tambunan DE, Hill RS, et al. *Exome sequencing and functional validation in zebrafish identify GTDC2 mutations as a cause of Walker-Warburg syndrome*. Am J Hum Genet 2012;91:541-7.

42 von Renesse A, Petkova MV, Lützkendorf S, et al. *POMK mutation in a family with congenital muscular dystrophy with merosin deficiency, hypomyelination, mild hearing deficit and intellectual disability.* J Med Genet 2014;51:275-82.

43 Maggi L, Carboni N, Bernasconi P. *Skeletal muscle laminopathies: a review of clinical and molecular features.* Cells 2016;5:33.

44 Politano L, Carboni N, Madej-Pilarczyk A, et al. *Advances in basic and clinical research in laminopathies*. Acta Myol 2013;32:18-22.

45 Komaki H, Hayashi YK, Tsuburaya R, et al. *Inflammatory changes in infantile-onset LMNA-associated myopathy.* Neuromuscul Disord 2011;21:563-8.

46 Mattioli E, Columbaro M, Capanni C, et al. *Prelamin A-mediated recruitment of SUN1 to the nuclear envelope directs nuclear positioning in human muscle*. Cell Death Differ 2011;18:1305-15.

47 Bernasconi P, Carboni N, Ricci G, et al. *Elevated TGF β2 serum levels in Emery-Dreifuss muscular dystrophy: implications for myocyte and tenocyte differentiation and fibrogenic processes.* Nucleus 2018;9:292-304.

48 Schorling DC, Kirschner J, Bönneman CG, et al. *Congenital muscular dystrophies and myopathies: an overview and update*. Neuropediatrics 2017;48:247-61.

49 O'Grady GL, Lek M, Lamande SR, et al. *Diagnosis and etiology of congenital muscular dystrophy: we are halfway there.* Ann Neurol 2016;80:101-11.

ISTRUZIONI PER GLI AUTORI

Il G*iornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva* pubblica editoriali, articoli scientifici originali, articoli brevi, review e casi clinici attinenti alla Disciplina. I contributi devono essere inediti, non sottoposti contemporaneamente ad altra rivista, ed il loro contenuto conforme alla legislazione vigente in materia di etica della ricerca. Il Giornale pubblica inoltre numeri monografici e forum tematici.

La Redazione accoglie solo i testi conformi alle norme editoriali generali e specifiche per le singole rubriche. La loro accettazione è subordinata alla revisione critica di esperti, all'esecuzione di eventuali modifiche richieste ed al parere conclusivo del Direttore.

Norme per l'invio dei manoscritti di cui si fa richiesta di pubblicazione

per posta elettronica all'indirizzo:
landreazzi@pacinieditore.it
allegando (come "attachment") i file, redatti secondo le modalità di seguito specificate. Le dichiarazioni degli Autori indicate ai successivi punti 1 e 2 dovranno essere allegate in originale oppure spedite per posta ordinaria alla Segreteria di Redazione, Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva c/o Pacini Editore S.r.l., Via Gherardesca 1, 56121 Pisa

1) Dichiarazione sottoscritta dagli Autori: "I sottoscritti Autori del lavoro … trasferiscono, nel caso della pubblicazione nel Giornale di Neuropsichiatria dell'Età Evolutiva, tutti i diritti d'Autore all'Editore. Essi garantiscono l'originalità del contenuto, che è conforme alla legislazione vigente in materia di etica della ricerca, e la non contemporanea valutazione del lavoro presso altre Riviste. Gli Autori affermano di essere in possesso delle necessarie autorizzazioni nel caso si tratti di sperimentazioni o di ricerche che coinvolgono l'uomo, svolte secondo i principi riportati nella Dichiarazione di Helsinki (1975, rev. 2000) e di aver ottenuto il consenso informato per la sperimentazione e per l'eventuale riproduzione di immagini. Gli Autori dichiarano, nel caso si tratti di studi su cavie animali, che sono state rispettate le relative leggi nazionali e le linee guida istituzionali. Gli Autori dichiarano di essere gli unici responsabili delle affermazioni contenute nell'articolo".
2) Conflitto di interessi. Gli Autori devono dichiarare se hanno ricevuto finanziamenti, donazioni o se hanno in atto contratti o altre forme di finanziamento, personali o istituzionali, con Aziende i cui prodotti sono citati nel testo. Questa dichiarazione verrà trattata dal Direttore come una informazione riservata e non verrà inoltrata ai revisori. I lavori accettati verranno pubblicati con l'accompagnamento di una dichiarazione, allo scopo di rendere nota la fonte e la natura del finanziamento.

L'Editore fa presente che ogni autore o coautore di articoli pubblicati nella rivista è responsabile del materiale inviato e ogni autore o coautore si impegna a rispettare pienamente il Regolamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo e del Consiglio del 27 aprile 2016 relativo alla protezione delle persone fisiche con riguardo al trattamento dei dati personali, nonché alla libera circolazione di tali dati e che abroga la direttiva 95/46/CE (regolamento generale sulla protezione dei dati): Articolo 9. Trattamento di categorie particolari di dati personali - È vietato trattare dati personali che rivelino l'origine razziale o etnica, le opinioni politiche, le convinzioni religiose o filosofiche o l'appartenenza sindacale, nonché trattare dati genetici, dati biometrici intesi a identificare in modo univoco una persona fisica, dati relativi alla salute o alla vita sessuale o all'orientamento sessuale della persona.

Norme generali per la preparazione dei manoscritti
Il testo, in lingua italiana o inglese, dovrà essere redatto salvando i file in formato .RTF, .DOC o .DOCX. Non utilizzare, in nessun caso, programmi di impaginazione grafica (es. Adobe Indesign™). Non formattare il testo in alcun modo (evitare stili, bordi, ombreggiature ...); utilizzare solo gli stili di carattere come corsivo, grassetto, sottolineato. Non inviare il testo in PDF.

Il testo, in lingua italiana o inglese, dovrà essere corredato di:
a) Titolo del lavoro (in italiano e in inglese).
b) I nomi degli Autori e l'Istituto o Ente di appartenenza.
c) La rubrica cui si intende destinare il lavoro (decisione che è comunque subordinata al giudizio del Direttore).
d) Il nome, l'indirizzo, il recapito telefonico e l'e-mail dell'Autore cui sono destinate la corrispondenza e le bozze.
e) 3-5 parole chiave (in italiano e in inglese).
f) Riassunto (in italiano e in inglese) che non deve superare i 2000 caratteri spazi inclusi per ciascuna lingua.

g) Bibliografia: va limitata alle voci essenziali identificate nel testo con numeri arabi ed elencate al termine del manoscritto nell'ordine in cui sono state citate. Devono essere riportati i primi tre Autori, eventualmente seguiti da "et al". Le riviste devono essere citate secondo le abbreviazioni riportate su Pubmed. Esempi di corretta citazione bibliografica per:
articoli e riviste:
Aarons GA, Brown SA, Hough RL, et al. Prevalence of adolescent substance use disorders across five sectors of care. J Am Acad Child Adolesc Psychiat 2001;40:419-26.
libri:
Carratelli TJ, Ferrara M, Monniello G, et al. Adolescenti e ricovero psichiatrico. Milano: F. Angeli 1998.
capitoli di libri o atti di Congressi:
Milla PJ. Electrogastrography in childhood: an overview. In: Chen JDZ, McCallum RW, eds. Electrogastrography Principles and Applications. New York: Raven Press Ltd 1994, pp. 379-396.
h) Ringraziamenti, indicazioni di grants o borse di studio, vanno citati al termine della bibliografia.
i) Le note, contraddistinte da asterischi o simboli equivalenti, compariranno nel testo, a piè di pagina.

Le tabelle, numerate progressivamente con numeri romani e corredate di relativa didascalia, dovranno essere inserite alla fine del dattiloscritto, mentre i richiami alle stesse dovranno essere inserite all'interno del testo per permettere il corretto posizionamento nell'impaginato.
Le immagini dovranno essere fornite in file separati, salvate in formato .jpeg, .tiff, .pdf o .ppt. e con risoluzione di 300 dpi.
Le didascalie possono essere inserite alla fine del testo ma i richiami alle figure dovranno essere inserite all'interno del testo per permettere il corretto posizionamento nell'impaginato. Non verranno accettate immagini inseriti in file di .DOC.
Tabelle e figure desunte da altre fonti dovranno sempre essere accompagnate dal permesso scritto del detentore del copyright (solitamente l'Editore) e la fonte originale sempre citata.
I farmaci vanno indicati col nome chimico. Solo se inevitabile potranno essere citati col nome commerciale (scrivendo in maiuscolo la lettera iniziale del prodotto e inserendo il nome della relativa casa farmaceutica, la città e il paese di appartenenza).
Agli Autori è riservata la correzione ed il rinvio (entro e non oltre 3 gg. dall'invio) delle sole prime bozze del lavoro.

Norme specifiche per le singole rubriche
1. Articoli originali: riguardano contributi originali di carattere epidemiologico, clinico o di ricerca di base. Devono essere suddivisi nelle seguenti parti: Introduzione, Materiale e Metodi, Risultati, e Discussione. Di regola non devono superare i 40.000 caratteri spazi inclusi, compresi riassunto, tabelle, figure e voci bibliografiche (massimo 35 voci). Il riassunto, in lingua italiana e inglese, non deve superare le 2000 battute (spazi inclusi) per ciascuna lingua. È richiesta la suddivisione nelle seguenti 4 sezioni: Introduzione (Introduction), Metodi (Methods), Risultati (Results), Discussione (Discussion). Nella sezione Introduzione va sintetizzato con chiarezza l'obiettivo (o gli obiettivi) del lavoro, vale a dire l'ipotesi che si è inteso verificare; nei Metodi va riportato il contesto in cui si è svolto lo studio (struttura ospedaliera, centro specialistico …), il numero e il tipo di soggetti analizzati, il disegno dello studio (randomizzato, in doppio cieco …), il tipo di trattamento e il tipo di analisi statistica impiegata. Nella sezione Risultati vanno riportati i risultati dello studio e dell'analisi statistica. Nella sezione Discussione va riportato il significato dei risultati soprattutto in funzione delle implicazioni cliniche.

2. Articoli brevi: questo spazio è riservato a brevi comunicazioni relative a dati clinico-sperimentali e a dati preliminari di ricerche in corso di particolare interesse. Il testo non dovrà superare i 20.000 caratteri spazi inclusi comprese tabelle e/o figure e una decina di voci bibliografiche.

3. Articoli di aggiornamento (review): sono intesi come sintesi e revisioni critiche su argomenti di particolare interesse. Di regola non devono superare i 40.000 caratteri spazi inclusi, compresi, tabelle, figure e voci bibliografiche (massimo 35 voci).

4. Casi clinici: comprendono lavori brevi (massimo 20.000 caratteri spazi inclusi) nei quali vengono descritte esperienze cliniche originali tratte dalla propria pratica medica.

I dati personali dell'Autore saranno gestiti dall'Editore, nel pieno rispetto della vigente normativa sulla tutela della Privacy, ai sensi dell'art. 13 del regolamento UE 2016/679. Ai sensi degli articoli 15-20 del GDPR l'Autore potrà esercitare specifici diritti, tra cui quello di ottenere l'accesso ai dati personali in forma intelligibile, la rettifica, l'aggiornamento o la cancellazione degli stessi. L'Autore avrà inoltre diritto ad ottenere dall'Editore la limitazione del trattamento, potrà inoltre opporsi per motivi legittimi al trattamento dei dati. Nel caso in cui l'Autore ritenga che i trattamenti che Lo riguardano violino le norme del GDPR, ha diritto a proporre reclamo all'Autorità Garante per la Protezione dei Dati Personali ai sensi dell'art. 77 del GDPR. Titolare del trattamento dei dati, ai sensi dell'art. 4.1.7 del GDPR è Donatella Paoletti per Pacini Editore Srl., con sede legale in 56121 Pisa, Via A Gherardesca n. 1. Per esercitare i diritti ai sensi del GDPR di cui al punto 6 L'Autore potrà effettuare ogni richiesta di informazione al seguente indirizzo di posta elettronica: privacy@pacinieditore.it. Per ulteriori approfondimenti fare riferimento al sito web http://www.pacinieditore.it/privacy/