

# Fase clinica umana per la SMA

di Marika Pane  
Neuropsichiatra infantile, Università Cattolica del Sacro Cuore e Policlinico Gemelli di Roma

**Il professor Eugenio Mercuri sta preparando 13 Centri specializzati ad accogliere durante il 2014 sperimentazioni internazionali sulla SMA, tra cui quella in fase II del farmaco antisenso della casa farmaceutica americana ISIS**

**N**el 2014 l'Italia parteciperà alla fase clinica umana della ricerca della casa farmaceutica statunitense **ISIS**, sull'utilizzo di un farmaco antisenso per la cura della **SMA** (Atrofia Muscolare Spinale). Il 2014 sarà anche l'anno della sperimentazione clinica sui pazienti americani SMA I della terapia genica dei ricercatori del **Nationwide Children's Hospital**, rispetto cui vi aggiorneremo nel prossimo DM. Qui ci dedichiamo alla proposta di ISIS.

## Il farmaco ISIS-SMNRx

Il farmaco sperimentale ISIS-SMNRx è basato sulla **tecnologia antisenso**, che consente di modificare la mutazione genetica responsabile della malattia. In seguito agli ottimi risultati ottenuti in laboratorio e sui modelli animali, il farmaco è stato utilizzato negli Stati Uniti e in Canada in studi di fase I e I/II per valutare possibili effetti collaterali in seguito a singole dosi (studio completato nel 2012), e a dosi multiple, (studio in via di completamento) in bambini affetti da SMA I e II.

Nel marzo 2013 sono stati riportati i **dati positivi** dello studio clinico di singola dose. Il farmaco è stato ben tollerato quando somministrato per via intratecale in dose singola direttamente nel fluido spinale, e non è stato identificato nessun evento avverso ad

esso correlato. Inoltre, i bambini hanno ben tollerato la procedura di iniezione intratecale. È stato anche dimostrato che le concentrazioni di ISIS-SMNRx misurate nel fluido spinale cerebrale sono coerenti con i livelli previsti dagli studi preclinici, dimostrando che l'emivita del farmaco nei tessuti del sistema nervoso è molto lunga e che è possibile effettuare il dosaggio una volta ogni 6-9 mesi.

Sebbene lo studio non sia stato progettato per fornire la prova di un'attività funzionale, in un certo numero di questi bambini è stato osservato un miglioramento della **HFMSE** (Hammersmith Functional Motor Scale- Expanded), una misura della funzione muscolare. L'aumento medio nei punteggi alla HFMSE a 3 mesi è stato osservato nel gruppo della dose più alta (9 mg), con un incremento di 3,1 punti o del 17,6% rispetto al basale, con 6 dei 10 pazienti che hanno presentato un aumento di 4-7 punti. I miglioramenti nei punteggi alla HFMSE, pari o superiori a un aumento di 4 punti, si sono ugualmente distribuiti nelle fasce di età, metà (3) nei bambini sotto i 5 anni e mezzo e metà (3) nei bambini di 5 anni o più.

I dati di follow-up relativi allo studio di fase I con ISIS-SMNRx nei bambini SMA mostrano che la maggior parte di coloro che hanno ricevuto i due dosaggi più elevati del farmaco (6 mg e 9 mg) ha continuato a mostrare miglioramenti nella funzione muscolare **anche dopo 14 mesi** da una singola iniezione del farmaco.

## La sperimentazione in corso

Si sta procedendo anche a uno studio di fase II e i bambini SMA I hanno completato il dosaggio. Sulla base del profilo di sicurezza, farmacocinetica e farmacodinamica di ISIS-SMNRx osservato fino a oggi, è stato modificato lo studio infantile, **aumentando il dosaggio** da 9 mg a 12 mg.

Nello studio di fase Ib/IIa a dosi multiple nei bambini con SMA di tipo II e di tipo III, è stata completata la somministrazione del farmaco in tutti e tre i gruppi di dosaggio (3 mg, 6 mg e 9 mg) e si sta prendendo in considerazione l'aggiunta di un nuovo gruppo con dosaggio di 12 mg. Questo studio viene condotto su bambini SMA di età compresa tra 2 →

e 15 anni e dovrebbe essere completato **entro la fine del 2013**.

### Il coinvolgimento dell'Italia

La casa farmaceutica ISIS è interessata al coinvolgimento dell'Europa e dell'Italia e ha annunciato che degli studi multicentrici su bambini affetti da forma I potranno essere operativi **già dal prossimo anno** anche in Europa. A questo dovrebbe seguire, a breve tempo, uno studio per le altre forme di SMA.

Per partecipare alla fase clinica umana della ricerca occorre sia avere a disposizione dei **Registri** aggiornati, in modo da reperire i partecipanti nel più breve tempo possibile, che connettere in una rete un insieme di Centri che **uniformino tra loro gli standard di cura** e utilizzino le **misure valide a livello internazionale**. Negli ultimi anni molti Centri italiani, in collaborazione con altri Centri europei e con **SMA Europe**, hanno lavorato attivamente a questi scopi.

Attualmente, il professor **Eugenio Mercuri**, neuropsichiatra infantile del Policlinico Gemelli e dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Roma, coordina con questi scopi un progetto finanziato da Telethon e adottato dall'associazione Famiglie SMA

con un fondo di 226 mila euro. La rete comprende **13 Centri terziari** di riferimento per malattie neuromuscolari pediatriche. Oltre al Gemelli sono stati selezionati:

- l'Ospedale Bambino Gesù, Roma (Enrico Bertini);
- l'IRCCS Stella Maris, Calambrone, Pisa (Roberta Battini);
- l'IRCCS di Pavia (Angela Berardinelli);
- l'Istituto Gaslini di Genova (Claudio Bruno);
- l'Università di Milano (Giacomo Comi);
- il Centro Nemo di Milano (Ksenia Gorni);
- l'Università di Torino (Tiziana Mongini);
- l'Istituto Besta, Milano (Lucia Morandi);
- l'Università di Padova (Elena Pegoraro);
- la II Università di Napoli (Luisa Politano);
- il Centro NEMO Sud e l'Università di Messina (Sonia Messina);
- l'IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche, di Bologna (Antonella Pini).

Il progetto si svolgerà in collaborazione con altri network nazionali americani e inglesi in modo da concordare le stesse misure, accelerare il percorso di raccolta dati ed essere pronti per gli **imminenti studi internazionali**. ■



GINEVRA MAGIAR

**Elena** Una bimba SMA1 che fa parte dell'associazione Famiglie SMA

# NGS: rivoluzione e limiti

di Vincenzo Nigro

Professore ordinario di Genetica Medica alla Seconda Università di Napoli e ricercatore TIGEM

**Il professor Nigro, responsabile della ricerca "Diagnosi genetica dei pazienti con distrofia muscolare dei cingoli basata su NGS", una delle sei finanziate dal Bando Telethon-UILDM 2012-14, ci aggiorna sullo stato dell'arte**

**L**a modernissima tecnologia di NGS (Next Generation Sequencing, ovvero Sequenziamento di Nuova Generazione) sta rivoluzionando le conoscenze della biologia e della medicina (ne abbiamo accennato un anno fa, in DM 178, pp 48 e 49). Fino al 2009 il sequenziamento del DNA si è basato sul **metodo Sanger**, dal nome dello scienziato che lo ideò, secondo cui il DNA presente in una provetta è analizzato con una reazione enzimatica che genera frammenti che partono dalla prima base e terminano con un nucleotide fluorescente di stop. Il colore della fluorescenza è di 4 tipi, uno per ogni base del DNA (A, C, G, T). Dalla misura delle lunghezze dei frammenti con la A si stabilisce in quale posizioni sono presenti le A, e così via per la C, la G e la T. Il metodo Sanger ha tuttavia **una produttività limitata** per la necessità di ottenere i frammenti di DNA separati e amplificati in singole provette.

## La rivoluzione NGS

Con il sequenziamento basato su tecnologia NGS c'è il grande vantaggio di avere tutti i frammenti di DNA **nella stessa provetta**.

Ogni singola molecola di DNA si semina su un vetrino (detto *Flow Cell*) in una posizione fissa e da questa semina si genera un clone di molecole identiche ancorate. In queste posizioni, quando si incorpora un nucleotide terminatore, viene emessa una luce fluorescente di colore diverso per ciascuna base del DNA aggiunta. Uno scanner fotografa i pixel a ogni ciclo e il software ricostruisce le sequenze di base. Questo permette di realizzare **tantissime sequenze parallele**.

Utilizzando le piattaforme più recenti, tali sistemi sono in grado di eseguire miliardi di reazioni di sequenziamento con una lunghezza di lettura di 100-350 nucleotidi da ciascuna estremità. Ad esempio, con il sequenziatore **Illumina HiSeq** in dotazione al mio gruppo al **TIGEM** (Istituto Telethon di Genetica e Medicina) riusciamo a leggere contemporaneamente oltre un miliardo e mezzo di sequenze in 10-12 giorni di scansioni, più altri 15 giorni di analisi al computer. La scoperta di alterazioni genetiche conosciute o nuove può diventare, almeno in principio, più facile, più veloce e, a regime, meno costosa.

## Tre problemi da risolvere

Ci sono però tre problemi da risolvere prima che questa tecnologia possa essere impiegata nella pratica clinica come metodo di base per ogni test genetico.

**Primo problema:** sarebbe possibile sequenziare l'intero genoma, ma i costi sono ancora **proibitivi** e il tempo macchina è **troppo lungo**. Inoltre non va trascurato l'aspetto dei cosiddetti *Incidental Findings*, cioè l'identificazione di varianti che predispongono a patologie impreviste e indipendenti dalla distrofia muscolare: trovare queste varianti potrebbe causare **dilemmi etici** di non poco conto. Per l'impiego clinico è quindi più indicato focalizzare il sequenziamento verso un bersaglio di DNA specifico, attraverso un raffinato processo di selezione di sequenze bersaglio che →

consenta di dirigere l'enorme capacità di sequenziamento verso parti scelte del genoma. Nel caso delle distrofie dei cingoli, abbiamo impiegato una nuova metodica detta *Motor Haloplex*, capace di selezionare accuratamente **un centinaio di geni** le cui mutazioni possono portare a patologie muscolari delle spalle o dei muscoli del bacino.

**Secondo problema:** non tutte le varianti geniche sono identificabili dal sequenziamento e non tutti i geni sono sequenziabili. Ad esempio, nella distrofia facio-scapolo omerale questa tecnica non è applicabile per rilevare le delezioni dei D4Z4, così come non è utile a leggere le espansioni di triplette nella distrofia miotonica. Inoltre, alcune varianti sono lette ma non interpretabili, come le variazioni del DNA che hanno solo conseguenza sullo *splicing* dell'RNA (il processo di eliminazione di alcune sequenze dall'RNA per arrivare all'RNA messaggero finale): per ovviare a quest'ultima limitazione è utile l'analisi dell'mRNA estratto dalle biopsie muscolari quando disponibili.

Questi limiti della tecnica vanno comunicati e **tenuti ben presenti** dal paziente e dal clinico.

**Terzo problema:** le varianti rare del DNA di significato ignoto che la tecnica permette di evidenziare sono **un numero enorme**. È il problema maggiore perché può diventare un incubo.

Nel genoma di ciascun paziente si trovano molte migliaia di tali varianti e nei soli geni delle LGMD (Limb girdle muscular dystrophies, cioè distrofie muscolari dei cingoli) troviamo **tra 8 e 60 varianti del DNA rare** o già descritte come associate a malattie genetiche. È evidente che più DNA si legge, più elementi importanti e meno importanti si osservano... e più confusione si può fare.

Diviene quindi indispensabile la collaborazione delle famiglie con pazienti LGMD che si rendano disponibili a confrontare il proprio DNA con quello del loro familiare affetto. Infatti, dal confronto si potrà meglio stabilire quali varianti hanno maggior significato e quali invece sono innocue.

#### Ancora 25 pazienti

Lo studio finanziato da Telethon-UILDM è stato pensato per un periodo di tre anni (2012-2014). Sono previsti 200 pazienti LGMD e al momento ne sono stati già analizzati 175. L'obiettivo è avere a disposizione uno strumento diagnostico potente e **a basso costo** da offrire a tutti i pazienti anche di altre malattie muscolari.

Dopo aver sequenziato così tanti DNA, i nostri principali obiettivi sono la riduzione dei costi e dei tempi di analisi e la messa a punto di un software per selezionare con la massima accuratezza le varianti geniche che hanno un significato clinico. Questo sarà possibile solo mediante **un continuo flusso di informazioni** tra i clinici, i pazienti e il nostro laboratorio.

Avere a disposizione una diagnostica clinica basata su NGS sarà importantissimo per la consulenza genetica familiare, ma anche per il reclutamento in trials clinici per i quali la conoscenza del difetto genetico è indispensabile. ■



#### TIGEM di Napoli

Nigro con i collaboratori all'Istituto Telethon di Genetica e Medicina

# Telethon Exploratory per **innovare**

a cura di Barbara Pianca

Potremmo chiamarli i **“Magnifici 11”**, gli 11 giovani scienziati premiati da Telethon con un finanziamento per esplorare **ipotesi di lavoro innovative** nell'ambito della ricerca dedicata alle malattie neuromuscolari

**Telethon Exploratory** sono progetti esplorativi di nuovi ricercatori che per la prima volta entrano nel mondo Telethon. Argomenti specifici, finanziamento limitato, obiettivi mirati. I vincitori dell'ultimo bando, all'opera in questi mesi, hanno tutti manifestato serio interesse a candidarsi al prossimo **bando generale Telethon-UILDM**. Per tutti aver ottenuto gli strumenti per esplorare le proprie ipotesi di lavoro innovative è un'esperienza che definiscono “fondamentale”. Molti affermano che difficilmente sarebbero riusciti a portare avanti la loro ricerca altrimenti. Per una donna il finanziamento è stato un argomento importante per restare in Italia dopo una permanenza all'estero. La maggior parte tiene a sottolineare di sentirsi “utile”, perché l'astrazione scientifica qui è collegata ai **bisogni concreti dei pazienti**: questo ingrediente cambia e ispira la qualità del lavoro degli scienziati. Per completezza segnaliamo che all'appello manca **Szabadkai Gyorgy** del Dipartimento di Scienze Biomediche dell'Università di Padova, che non siamo riusciti a contattare. Il suo progetto riguarda le miopatie e in particolare il ruolo dell'Inositolo.

## Serena Carra

Università di Modena e Reggio Emilia  
Dipartimento di Scienze Biomediche,  
Metaboliche e Neuroscienze



**Ricerca:** Caratterizzazione delle funzioni del complesso proteico HSPB2 e HSPB3 e della loro implicazione in miopia e neuropatia: 3 mutazioni in HSPB3 sono state identificate in pazienti affetti da miopia o neuropatia motoria. Il complesso HSPB2/B3 sembra giocare un ruolo nel mantenimento delle cellule muscolari ma a tutt'oggi sono poche le informazioni sulle sue funzioni.

**Aggiornamento:** Abbiamo dimostrato che le mutazioni identificate in HSPB3 hanno un impatto su formazione, funzionalità e stabilità del complesso proteico HSPB2/B3. Ciò può avere sviluppi importanti sulla vitalità delle cellule muscolari e sui neuroni della corteccia motoria. Abbiamo inoltre osservato uno sbilanciamento anche delle funzioni nucleari a seguito a delle alterazioni nella stabilità e funzionalità del complesso. Ciò potrebbe avere implicazioni nella comprensione dei meccanismi in atto nelle miopatie e/o neuropatie. Simili conseguenze infatti sono state già osservate in altre forme genetiche di miopia e neuropatia periferica, le laminopatie da mutazioni nel gene LMNA.

## Vittoria Petruzzella

Università di Bari, Facoltà di Medicina e Chirurgia  
Dipartimento di Scienze Mediche di Base, Neuroscienze ed Organi di Senso

**Ricerca:** Identificazione del gene che determina la Distrofia Muscolare dei Cingoli 1H (LGMD1H) attraverso lo studio di una famiglia con una forma di distrofia con lenta progressione della debolezza dei muscoli prossimali in arti superiori e inferiori, trasmessa con modalità autosomica-dominante.

**Aggiornamento:** I dati derivanti dal sequenziamento dell'esoma di membri →

affetti nella famiglia e di un soggetto sano hanno permesso di circoscrivere a poche decine il numero di geni candidati. Stiamo provvedendo alla rivalutazione clinica di ulteriori individui nella famiglia per identificare il gene malattia.

### Elisabetta Gazzo

*Istituto Gaslini, Genova*

*Unità di Neurologia Pediatrica e Malattie Muscolari*

**Ricerca:** Nuove strategie terapeutiche farmacologiche per le distrofie congenite da difetto di glicosilazione di distroglicano. (Distroglicanopatie)

**Aggiornamento:** Diversi studi hanno dimostrato che un incremento dei livelli della glicosiltransferasi LARGE migliora il fenotipo muscolare di modelli animali di distroglicanopatie. La nostra ricerca ha permesso d'individuare determinati segmenti del gene LARGE che regolano la sua espressione. Le sequenze regolatrici identificate potrebbero essere utilizzate in uno screening di composti farmacologici finalizzato a intensificare i livelli di LARGE.

### Doriana Sandonà

*Università di Padova*

*Dipartimento Scienze Biomediche*

**Ricerca:** Sviluppo di un nuovo approccio terapeutico per la cura di malattie genetiche rare che colpiscono il muscolo striato favorendo il recupero farmacologico di proteine danneggiate da mutazioni e perciò prematuramente eliminate.

**Aggiornamento:** Mediante esperimenti in sistemi cellulari modello, abbiamo verificato come sia possibile - riducendo la degradazione (strategia di recupero) delle proteine mutate ma ancora funzionali, o correggendo la loro forma (strategia di riparazione) - recuperare quantitativamente e qualitativamente alcuni mutanti di alfa-sarcoglicano, la proteina legata alla distrofia dei cingoli di tipo 2D, e della calcio ATPasi del reticolo sarco(endo)plasmatico (SERCA1), legata alla malattia di Brody.



### Claudia Di Blasi

*Istituto Neurologico Besta, Milano*  
*Neurologia IV - Neuroimmunologia e Malattie Neuromuscolari*



**Ricerca:** Accertamento del ruolo patogenetico di una mutazione identificata nel gene della calsequestrina 1 (CASQ1) in pazienti con miopatia benigna autosomica dominante con iperCKemia e verifica della sua eventuale responsabilità dell'IperCKemia e dell'Ipertermia Maligna, una malattia farmacogenetica dei muscoli scheletrici, rara ma potenzialmente letale.

**Aggiornamento:** Sono in corso esperimenti cellulari che utilizzano costrutti normali e mutati, per la valutazione dell'espressione della proteina e per studi elettrofisiologici. Inoltre, le analisi biochimiche su cellule muscolari in coltura di pazienti e controlli e studi di immunolocalizzazione in microscopia elettronica sono stati iniziati per un migliore approfondimento. In più, si sono utilizzati ovociti di *Xenopus laevis* (rana) modificati mediante microiniezione con l'RNA messaggero normale e mutato del gene CASQ1, al fine di misurare elettrofisiologicamente modifiche di corrente ed eseguire studi di live imaging. È infine in corso l'analisi proteomica di estratti cellulari di pazienti e controlli, per la caratterizzazione della proteina mutata, come pure studi genetici in altri casi di iperCKemia familiare e in casi con suscettibilità all'ipertermia maligna per comprendere la prevalenza relativa di mutazioni in CASQ1.

### Ferdinando Fiumara

*Università di Torino*

*Dipartimento di Neuroscienze*

**Ricerca:** Nuove strategie terapeutiche per la distrofia muscolare oculofaringea (OPMD), studiando i meccanismi patologici di aggregazione proteica.

**Aggiornamento:** Stiamo studiando come diverse sostanze e farmaci agiscono sulla struttura che causa l'aggregazione della proteina PABPN1 nella distrofia oculofaringea e sono in

corso esperimenti per identificare sostanze che bloccino questa aggregazione.

## Giovanni Vazza

*Università di Padova  
Dipartimento di Biologia*

**Ricerca:** Studio di una famiglia multigenerazionale affetta da una forma di miopatia distale a eziologia sconosciuta per identificare e caratterizzarne la causa genetica tramite nuove tecnologie di sequenziamento del DNA.

**Aggiornamento:** È stata definita la regione genomica della malattia e identificata un'alterazione nel gene che codifica una porzione del recettore per l'acetilcolina. Tale recettore concorre alla contrazione muscolare e un suo alterato funzionamento potrebbe spiegare la malattia.



## Gian Maria Fimia

*Istituto Nazionale per le Malattie Infettive Lazzaro Spallanzani IRCCS, Roma*

**Ricerca:** Studio dei meccanismi dell'autofagia, processo degradativo che permette alle cellule di sopravvivere in presenza di stress, e suo ruolo nel prevenire malattie legate a disfunzioni metaboliche o ad agenti infettivi, in particolare distrofia dei cingoli 2H (LGMD2H).

**Aggiornamento:** La LGMD2H è una distrofia causata da mutazioni nel gene TRIM32, un membro della famiglia delle E3 ligasi, enzimi che modificano le proteine legando una o più molecole di ubiquitina. Il nostro studio ha permesso di evidenziare come la proteina Trim32 sia in grado di legare e modificare un regolatore positivo dell'autofagia, la proteina Ambra1.

Inoltre abbiamo evidenziato che cellule muscolari in coltura che non esprimono Trim32 presentano difetti nella corretta attivazione del processo autofagico. Lo studio dell'autofagia permetterà di indirizzare la ricerca



verso eventuali correttori farmacologici da proporre su modelli cellulari o animali della malattia.

## Chiara Fiorillo

*IRCCS Stella Maris, Pisa  
Laboratorio di Medicina Molecolare e Malattie Neuromuscolari*

**Ricerca:** Studio di possibili difetti del metabolismo mitocondriale in pazienti con distrofia dei cingoli da deficit di calpaina-3 (LGMD2A); studio di base condotto su cellule muscolari (mioblasti) provenienti da biopsie dei pazienti.

**Aggiornamento:** Abbiamo analizzato popolazioni di cellule muscolari (mioblasti) provenienti da 5 pazienti diversi. Dai risultati preliminari non si apprezza un significativo deficit del numero dei mitocondri rispetto ai controlli, né della loro attività basale. Tuttavia la produzione globale di energia, misurata come livello di ATP, sembra essere inferiore nei pazienti rispetto ai controlli. Per confermare il risultato stiamo misurando altre funzioni mitocondriali come la produzione dei radicali dell'ossigeno.

## Claudio Bruno

*Istituto Gaslini, Genova  
Centro di Miologia e Patologie Neurodegenerative*

**Ricerca:** Ruolo dell'adenosina trifosfato (e-ATP) e dei recettori purinergici nella patogenesi della distrofia muscolare da deficit di alfa-sarcoglicano (LGMD2D), per comprendere i meccanismi patogenetici della distrofia dei cingoli LGMD2D, causata dal deficit di alfa-sarcoglicano (a-SG), per identificare una nuova strategia terapeutica contro l'infiammazione muscolare.

**Aggiornamento:** È in corso di studio l'effetto dell'ATP extracellulare in mioblasti primari di pazienti con difetto di a-SG attraverso l'analisi dei parametri clinici, istopatologici, immunologici dei topi in cui il gene è stato rimosso, dopo che questi sono stati trattati per via sistemica con un'antagonista del recettore purinergico. ■

## Assistenza respiratoria a domicilio

della Sezione UILDM di Udine

Sono 12 i pazienti coinvolti in un **progetto-pilota** di sorveglianza domiciliare, reso possibile grazie a una **borsa di studio** del Reparto di Pneumologia Riabilitativa del Gervasutta, finanziata dalla Sezione **UILDM** di Udine

**D**odici pazienti friulani con malattie neuromuscolari sono coinvolti in un **programma domiciliare innovativo** per migliorare l'assistenza respiratoria, fondamentale in questo tipo di patologie. Il progetto - iniziato lo scorso giugno 2013 grazie a una borsa di studio attivata dal Reparto di Pneumologia Riabilitativa dell'Istituto di Medicina Fisica e Riabilitazione

Gervasutta di Udine e finanziata con 10 mila euro dalla Sezione UILDM della città - si colloca nell'ambito di un programma articolato di valutazione e cura di pazienti affetti da malattie neuromuscolari con ridotta forza nella tosse. Esso consiste nell'accompagnamento costante della gestione domiciliare degli aspetti respiratori, attraverso **un canale di comunicazione diretto** con il Servizio Pneumologico. Come già emerso nei primi mesi, quest'iniziativa comporta anche il beneficio secondario di assicurare i caregiver, garantendo loro un punto di riferimento sicuro cui rivolgersi per ogni evenienza.

«Per un'associazione di volontariato come la nostra» commenta **Daniela Campigotto**, presidente della UILDM di Udine «si tratta di un impegno economico rilevante, che abbiamo affrontato convinti della bontà di questo progetto che affronta un nodo fondamentale dell'assistenza ad adulti e bambini non autosufficienti, colpiti da patologie gravemente invalidanti. Per questo ci auguriamo che l'iniziativa non resti un fatto isolato, ma abbia concrete ricadute sull'organizzazione dell'assistenza respiratoria domiciliare del nostro territorio, valorizzando le competenze e i risultati che matureranno in questi 12 mesi».



**La UILDM e gli specialisti** Da sinistra: Antonio Peratoner (UILDM), Anna Petrello, Vincenzo Patruno, Innocentino Chiandetti e Daniela Campigotto (entrambi UILDM)

### Le difficoltà respiratorie e la tosse

Le persone con malattie neuromuscolari, a causa della progressiva riduzione della forza muscolare, spesso vanno incontro a gravi difficoltà respiratorie. In particolare, l'impossibilità di eliminare con la tosse le secrezioni bronchiali li espone al rischio di infezioni polmonari e di crisi acute di insufficienza respiratoria, che ne possono mettere a rischio la vita stessa e non di rado sono causa di ricoveri ospedalieri. In alcuni casi questa situazione sfocia in interventi di assistenza invasivi che possono peggiorare drasticamente la qualità della vita quotidiana. Tali problemi però si possono evitare **potenziando l'assistenza domiciliare**, garantendo un'adeguata formazione dei pazienti e dei familiari anche nella gestione di apparecchiature come la **Macchina per la tosse**, assicurando un monitoraggio costante e la possibilità di interventi tempestivi in caso di crisi.

«Sono proprio questi» spiega **Vincenzo Patruno**, direttore del reparto di Pneumologia Riabilitativa del Gervasutta e responsabile del progetto, «i contenuti del nostro programma di lavoro. La possibilità di un filo diretto telefonico con un team multidisciplinare e l'eventuale intervento precoce a domicilio di una fisioterapista, con particolari e specifiche competenze nella disostruzione bronchiale nei malati neuromuscolari, potrebbero diminuire il numero di gravi riacutizzazioni, il numero di accessi ospedalieri e l'abuso di antibioticoterapia, traducendo questi obiettivi nel **miglioramento della qualità di vita** dei pazienti e dei loro caregiver, oltre che in una diminuzione dei costi di gestione complessivi».

### La seduta educativa

Il paziente e i caregiver parteciperanno a **una seduta educativa** ambulatoriale o ospedaliera in regime Day Hospital, in cui il fisioterapista e/o il medico pneumologo illustrano le manovre di disostruzione manuale da attuare quotidianamente per prevenire il ristagno di secrezioni (assistenza alla tosse manuale, *Air-stacking* con il pallone Ambu, che è uno strumento per la respirazione artificiale, broncoaspirazione a intervalli regolari se

presente cannula tracheostomica), illustreranno l'utilizzo dell'ausilio meccanico di supporto (In-Exsufflator), e le modalità di contatto per ricevere assistenza in sorveglianza domiciliare telefonica e assistenza specialistica fisioterapica al domicilio.

Al paziente verrà richiesta la disponibilità a rispondere mensilmente a domande telefoniche circa la propria situazione clinica: picco di flusso della tosse (PCF), saturazione ossiemoglobinica, misura della dispnea e dell'ingombro catarrale con scala graduata BORG, eventuali ricoveri ospedalieri, numero di chiamate al medico di medicina generale, numero di chiamate al Servizio di Assistenza Domiciliare Integrato, uso di antibioticoterapia, eventuale presenza di febbre, sonnolenza, cefalea.

### La fisioterapista a domicilio

Per tutta la durata del progetto, inoltre, i pazienti potranno accedere a un pacchetto assistenziale domiciliare che comprende la possibilità di chiamare il numero telefonico del Centro di controllo per segnalazioni o risoluzioni di dubbi inerenti alla gestione clinica. Su richiesta diretta del paziente o su iniziativa del Centro, nel caso fossero rilevati dati che segnalano un'incipiente riacutizzazione, potrà essere disposta la visita a domicilio del fisioterapista. Grazie alla borsa di studio, **Anna Petrello**, fisioterapista respiratoria, potrà dedicarsi per un anno alla sorveglianza domiciliare, consentendo di verificare sul campo l'efficacia del modello proposto.

La visita avverrà entro 24 ore e il fisioterapista procederà al controllo pulso-ossimetrico e all'auscultazione del paziente, alla misura del picco di tosse, alla verifica del settaggio e al controllo della corretta modalità applicativa da parte dell'assistente dell'In-Exsufflator. Previa consultazione con il medico responsabile, il fisioterapista potrà attivare la richiesta di visita medica pneumologica a domicilio o un consulto pneumologico specialistico o, ancora, l'assegnazione di un piano di lavoro al caregiver, qualora la seduta abbia portato a un miglioramento di almeno 1 punto percentuale della saturazione arteriosa di ossigeno molecolare o del benessere del paziente. I dati raccolti verranno inseriti in un database. ■

# Raccomandazioni per l'anestesia

di Tiziana Mongini

Dipartimento di Neuroscienze, Università di Torino

Il depliant con le “Raccomandazioni per l'Anestesia” stampato dalla **UILDM di Torino**, presentato a un recente convegno, sintetizza un elaborato lavoro di confronto tra esperti italiani coordinati da **Fabrizio Racca**

Il binomio “malattia neuromuscolare/anestesia generale” suscita un naturale allarme negli operatori sanitari, e nelle persone con malattie neuromuscolari che affrontano un iter complicato per ottenere certificati, spesso inconcludenti, prima di un'anestesia generale.

Questa diffidenza da parte degli anestesisti deriva in primo luogo dall'esistenza di una rara ma temibile complicazione, causata da alcuni specifici farmaci anestetici su individui portatori di un particolare difetto del muscolo scheletrico: l'**Ipertermia maligna** (a questo proposito si veda alla pagina 43 e seguenti del presente numero di DM, dedicate ai Telethon Exploratory). Tutti conoscono il nome di questa affezione, ma pochi sanno come e quando è veramente necessario adottare le misure precauzionali.

Inoltre l'Ipertermia maligna è solo uno dei potenziali rischi anestesiológicos. Soprattutto in alcune forme di distrofia muscolare o di miopatia si può manifestare un **interessamento multisistemico**, con alto rischio di insufficienza d'organo in condizioni di stress, quale appunto un'anestesia generale. Se aggiungiamo le problematiche osteo-scheletriche, quali le deformità della colonna, i blocchi articolari e del rachide, e le difficoltà all'intubazione, è ben spiegato il motivo per cui non molti anestesisti sono in

grado di gestire con sicurezza questi casi.

Alcuni anni fa, nell'ambito dell'**AIM** (Associazione Italiana di Miologia) e con la spinta delle Associazioni dei pazienti, abbiamo iniziato un percorso di collaborazione con la **SIAARTI** (Società Italiana di Anestesia, Analgesia, Rianimazione e Terapia Intensiva) per offrire alcuni strumenti per ridurre i disagi soprattutto dei pazienti.

Il risultato di tanto lavoro (che ha visto la partecipazione di un alto numero di neurologi, neuropsichiatri infantili e, soprattutto, di anestesisti dell'adulto e del bambino) è stato la pubblicazione ad aprile del 2013, nella prestigiosa rivista di anestesia e rianimazione *Minerva Anestesiologica*, di una serie di *Raccomandazioni* per la gestione perioperatoria dei pazienti neuromuscolari, redatte secondo le evidenze scientifiche pubblicate e raccolte da **Fabrizio Racca** (responsabile della Rianimazione Pediatrica dell'Azienda Ospedaliera di Alessandria) e poi elaborate con il parere di molti esperti italiani.

Si è trattato del primo testo di letteratura scientifica di tale forza, con riferimento alla ricerca bibliografica e all'autorevolezza del gruppo che lo ha presentato, relativo a questa specifica tipologia di pazienti.

Il lavoro è stato riassunto in una più breve scheda 'pieghevole', intitolata *Raccomandazioni per l'anestesia nei pazienti affetti da malattie neuromuscolari* e stampata a cura della **Sezione UILDM di Torino**, per fornire a ciascun paziente le indicazioni pratiche secondo la propria patologia.

Ovviamente il lavoro **non è esaustivo** e si invita alla massima cautela nell'applicazione di queste, che restano indicazioni di massima: è indispensabile che ogni caso venga valutato singolarmente prima di affrontare un intervento chirurgico in anestesia generale. ■

Per avere il depliant, ci si può rivolgere alla Sezione UILDM di Torino (tel. 011/7770034, [uildm.torino@libero.it](mailto:uildm.torino@libero.it)).

# Duchenne e Becker al Centro-Sud

di Clara Barbieri

**Secondo la tesi di laurea della Barbieri la maggior parte delle persone con distrofia di Duchenne e di Becker vive nel Centro-Sud d'Italia. Il risultato è stato ottenuto tramite una Simulazione**

**M**i sono laureata lo scorso settembre alla facoltà di Scienze Matematiche, Fisiche e Naturali dell'Università Cattolica del Sacro Cuore di Brescia in **Matematica**, con una tesi dal titolo *Analisi statistica della distribuzione della distrofia muscolare Duchenne/Becker in Italia e relativi determinanti*. Ho scelto di scrivere su quest'argomento perché mio zio e i miei nipoti sono affetti da distrofia di Becker.

Ho suddiviso il lavoro in tre parti: una descrizione della distrofia muscolare di Duchenne e Becker; l'analisi statistica dei dati raccolti nel Registro Italiano Pazienti Duchenne e Becker dell'associazione Parent Project Italia (l'iscrizione al Registro è volontaria e questo ha presentato un limite all'indagine statistica); uno studio sulla variazione della massa grassa (tessuto adiposo) e della massa magra (muscolo) nei ragazzi Duchenne da 1 a 15 anni, in collaborazione con le dottoresse **Lucia Morandi** dell'Istituto Neurologico Besta e **Maria Luisa Bianchi** dell'Istituto Auxologico Italiano di Milano.

Al momento delle mie analisi il Registro conteneva 433 iscritti: 350 Duchenne, 58 Becker, 8 IMD (Distrofia Muscolare Intermedia) e 17 non hanno specificato. Ho condotto due tipi di analisi: una demografica e l'altra epidemiologica.

**Dall'analisi demografica** è risultato che la

maggior parte dei distrofici vive nel Centro-Sud d'Italia.

Il metodo scelto per verificare la reale incidenza delle distrofinopatie sul territorio italiano è una tecnica, utilizzata per trarre stime tramite un algoritmo, che si chiama *Simulazione Monte Carlo*. Alla domanda "Esiste una preferenza significativa della DMD/BMD per specifiche popolazioni regionali (in termini di frequenza di malattia)?", si è trovata una risposta affermativa, per cui si è stabilito che l'incidenza della patologia è di tipo selettivo.

**Dall'analisi epidemiologica** è risultato che la mutazione prevalente, che causa le distrofie, è la delezione di uno o più esoni; l'assunzione regolare di steroidi influenza positivamente il mantenimento dell'autonomia a deambulare. L'analisi della variazione della massa grassa (tessuto adiposo) e della massa magra (muscolo), nei ragazzi Duchenne da 1 a 15 anni, ha messo in evidenza come il tessuto adiposo aumenti in modo cospicuo ed evidente a dispetto del tessuto muscolare, causando **la distruzione** di quest'ultimo. ■



**Clara Barbieri**

**Il giorno della laurea con una tesi di Analisi Statistica sulle distrofie Duchenne e Becker**

# Un **incidente** di percorso

di Filippo Maria Santorelli

IRCCS Fondazione Stella Maris di Calambrone (Pisa)

**In fase III della sperimentazione le aziende produttrici ritirano il **Drisapersen**, il farmaco che regredisce la distrofia di Duchenne in Becker attraverso una **mutazione genetica**. Alcuni Soci **UILDM** erano coinvolti nel trial**

**L**a distrofia muscolare di Duchenne (DMD) è una malattia neuromuscolare dovuta ad alterata produzione della **distrofina**, una proteina della membrana muscolare. Il gene responsabile della malattia è composto da 70 “mattoncini” (esoni) che traducono l’informazione genetica in una proteina normalmente valida e sana; l’assenza di uno o più esoni impedisce alla cellula di produrre la distrofina e comporta la degenerazione dell’impalcatura di sostegno del muscolo. La gravità della patologia, che si correla alla progressiva perdita di forza muscolare, è in qualche modo condizionata dalla quantità residua di distrofina e dalla possibilità di mobilitare altre proteine alleate o, al contrario, di bloccare l’azione di proteine che di per sé influenzano negativamente l’espressione della distrofina.

### **Exon Skipping, fase III**

La possibilità di modificare geneticamente la distrofina residua rappresenta una delle più eccitanti novità della ricerca scientifica ed è attuata attraverso un originale meccanismo chiamato *Salto dell’esone* (*Exon Skipping*). È questa una tecnica molecolare innovativa che agisce direttamente a livello dell’RNA messaggero ed è possibile grazie all’introduzione di piccole sequenze di nucleotidi (oligonucleotidi

antisense, **AON**), capaci di “far saltare” la delezione e consentire la produzione di una distrofina più corta, ma funzionante, convertendo un quadro severo di DMD nella forma meno grave, la distrofia di Becker.

Come per altre informazioni derivate dal banco di laboratorio o dall’animale sperimentale, il passo al paziente non è stato rapido ma ha permesso di definire nell’uomo sano prima e nel paziente colpito da DMD poi, in studi preclinici e trial terapeutici di fase I e II, la sicurezza e l’efficacia della nuova opportunità terapeutica, quest’ultima valutata come incremento dell’espressione della distrofina nelle fibrocellule muscolari.

Ci troviamo ora nella **fase III** della sperimentazione, che ha come scopo la verifica su larga scala dei dati emersi in fase II, per una più accurata determinazione dell’efficacia terapeutica e della tollerabilità. Si tratta della fase più estensiva e rigorosa di tutto il processo, forse la più “fragile”: al fine di dimostrarne il vantaggio terapeutico, la molecola testata viene messa a confronto con altri farmaci di riconosciuta efficacia o con un **placebo**, e cioè una sostanza inerte, priva di effetti farmacologici, preparata in modo da essere indistinguibile dal farmaco, così che il paziente non sappia se sta assumendo qualcosa di neutro alla malattia o un nuovo possibile agente terapeutico. Si saggiano anche gli schemi posologici per la commercializzazione, e si ricercano eventuali interazioni con altri farmaci. Le ricerche sono condotte in ambito clinico controllato (universitario o ospedaliero), seguendo rigidi protocolli di ricerca. La selezione dei pazienti bada a che essi siano sufficientemente rappresentativi della popolazione di malati, identifica il tipo di paziente più indicato per la cura ed esclude i sottogruppi di quelli a rischio, per non esporli ai pericoli dello studio.

### **Drisapersen: studio interrotto**

**Drisapersen** (anche detto PRO051) è un nucleotide AON specifico, disegnato per saltare l’esone 51 del gene codificante la distrofina ed è stato proposto per soggetti di sesso maschile con DMD

che soddisfino i criteri di reclutamento e che possibilmente beneficino della terapia come da indicazioni emerse dalle precedenti fasi dello studio.

È notizia recente che il trial è stato interrotto volontariamente dalle aziende produttrici, **GSK** (GlaxoSmithKline) e **Prosensa**, in quanto il suo utilizzo in un totale di 186 pazienti opportunamente randomizzati tra i due bracci del disegno sperimentale (in uno era prevista l'assunzione del farmaco, nell'altro di un placebo) non ha soddisfatto il più importante criterio di efficacia, ossia **una significativa modifica migliorativa** (rispetto al placebo) delle abilità ad affrontare un determinato percorso per il tempo di 6 minuti (6 *Minutes Walking Distance*, 6MWD). L'azienda produttrice ha comunicato che il profilo di sicurezza in questo studio è stato generalmente coerente con quanto osservato nelle fasi preliminari e innanzi agli eventi avversi più comuni non vi sono stati reazioni avverse significative. Alcuni organi di stampa indipendente, invece, hanno segnalato casi di reazioni nel sito di iniezione, riscontri di maggiori quantità di proteine nelle urine e anomalie della conta piastrinica (ridotta quantità di piastrine, o trombociti, nel sangue),

tali da aver costretto alcuni pazienti al ricovero temporaneo in ospedale per accertamenti e, successivamente, all'uscita dallo studio clinico.

### Nuovi trial per l'AON

Se da un lato il dato che emerge è scoraggiante, tuttavia vanno premiate la trasparenza e la chiarezza degli organi regolatori dello studio, dell'azienda e dei ricercatori. Va anche considerato che il mancato raggiungimento degli obiettivi primari in uno studio di fase III non comporta il giudizio di inutilità del farmaco in esame. Significa piuttosto che c'è molto ancora da studiare, affinare e sperimentare. Ed è quello che attualmente si stanno prefiggendo i ricercatori e i medici coinvolti nello studio. Ad ora, sebbene i trattamenti siano sospesi, i pazienti DMD non sono stati abbandonati a se stessi e **i monitoraggi di sicurezza e gli altri controlli medici proseguono**.

La ricerca sulle opportunità terapeutiche nella DMD pone grande speranza nella terapia con AON. Nuovi trial sono e saranno in atto, personalizzando la metodica del *Salto dell'esone*. Un insuccesso di oggi (piccolo e parziale) non può essere, né sarà, la sconfitta di domani. ■

## LA NUOVA COMMISSIONE MEDICO-SCIENTIFICA È IN ARRIVO

**Lo Statuto della UILDM** prevede che l'Associazione si avvalga della consulenza di una Commissione Medico-Scientifica, coordinata da uno specifico ufficio, che si occupi dell'informazione, sia generale verso l'esterno sia verso le Sezioni UILDM; dell'aggiornamento in ambito di diagnosi, assistenza e cura; del miglioramento degli aspetti assistenziali; della promozione e/o del sostegno a seminari e convegni organizzati a livello nazionale e locale. È grazie alla consulenza della propria Commissione Medico-Scientifica Nazionale che la UILDM può fornire agli utenti informazioni dirette, riguardanti le specifiche malattie, o indirette, segnalando i principali Centri italiani di riferimento.

La Commissione viene rinnovata dal Consiglio Nazionale UILDM ogni 3 anni. Dall'inizio del 2011 è entrata in carica la Commissione presieduta dallo pneumologo **Paolo Banfi** (vice presidenti **Luisa Politano** e **Filippo Maria Santorelli**).

Mentre chiudiamo in redazione questo numero di DM la Commissione è in fase di rinnovo. Le candidature sono state raccolte e quando il giornale arriverà nelle mani dei lettori la nuova formazione sarà stata resa nota. Nel prossimo numero del giornale sarà nostra cura presentarla e indicarvi eventuali innovazioni nella sua composizione, al Regolamento o di qualsiasi altro tipo. Per ora **ringraziamo** la Commissione scaduta del suo operato e facciamo **i migliori auguri** a quella di prossimo insediamento. ■