

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITÀ

Malattie rare in età pediatrica

A cura di
Domenica Taruscio e Paolo Salerno

*Centro Nazionale Malattie Rare,
Dipartimento di Biologia Cellulare e Neuroscienze*

ISSN 1123-3117

Rapporti ISTISAN

03/43

Istituto Superiore di Sanità

Malattie rare in età pediatrica.

A cura di Domenica Taruscio e Paolo Salerno

2003, iv, 95 p. Rapporti ISTISAN 03/43

Il presente rapporto, basato su esperienze formative svolte presso l'Istituto Superiore di Sanità, si articola in due parti. La prima parte fornisce un quadro dettagliato su aspetti generali propri delle malattie rare e in particolare: le attività del Centro Nazionale Malattie Rare; la normativa vigente a livello nazionale; i problemi assistenziali legati ai DRG (*Diagnosis Related Groups*); la Rete Nazionale delle Malattie Rare, quale modello assistenziale ed epidemiologico; il Registro Nazionale Malattie Rare quale strumento epidemiologico della Rete. Questa parte ha lo scopo di fornire elementi informativi agli operatori sanitari che sono o saranno impegnati nello svolgimento di attività epidemiologiche. La seconda parte è orientata all'attività clinica. In essa vengono trattate alcune patologie rare, o gruppi di queste, da operatori sanitari che effettuano la diagnosi e la terapia in ambito pediatrico. L'obiettivo è di presentare i problemi legati all'assistenza dal punto di vista dell'operatore clinico. Contiene alcuni esempi utili a comprendere i motivi alla base delle risposte di politica sanitaria e sanità pubblica.

Parole chiave: Malattie rare, Registro nazionale malattie rare, Pediatria, Sanità pubblica

Istituto Superiore di Sanità

Rare diseases in paediatric age group.

Edited by Domenica Taruscio and Paolo Salerno

2003, iv, 95 p. Rapporti ISTISAN 03/43 (in Italian)

This report, based on training courses held at the Istituto Superiore di Sanità (the Italian National Institute of Health), consists of two parts. The first part gives a detailed panorama on the general aspects of rare diseases, in particular: the activities of the National Centre for Rare Diseases; the Italian legislation on rare diseases; problems in health assistance related to DRGs (*Diagnosis Related Groups*); the national network of rare diseases as a model for the health assistance and epidemiological activities; the national register of rare diseases as an epidemiological instrument. The scope is to provide information to health professionals who are involved in epidemiological activities. The second part is oriented to clinical activity. Some of the rare diseases or groups of diseases are treated by experts in the diagnosis and treatment of patients in paediatric age. The objective is to highlight the problems of assistance from the health operator's point of view. Examples are presented to understand the rationale behind the health policy and public health measures.

Key word: Rare diseases, National Register of Rare Diseases, Paediatrics, Public health

Si ringrazia Natalia Mancino per l'importante contributo dato alla realizzazione del presente rapporto.

Per informazioni su questo documento scrivere a: taruscio@iss.it

Il rapporto è accessibile online dal sito di questo Istituto: www.iss.it/pubblicazioni.

Presidente dell'Istituto Superiore di Sanità e Direttore responsabile: *Enrico Garaci*
Registro della Stampa - Tribunale di Roma n. 131/88 del 1° marzo 1988

Redazione: *Paola De Castro e Sandra Salinetti*
La responsabilità dei dati scientifici e tecnici è dei singoli autori.

© 2003 Istituto Superiore di Sanità (Viale Regina Elena, 299 - 00161 Roma)

INDICE

Premessa	iii
-----------------------	-----

SANITÀ PUBBLICA

Le malattie rare <i>Domenica Taruscio</i>	3
Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare: stato di applicazione <i>Silvia Arcà, Maria Elena Congiu</i>	7
Malattie rare e DRG <i>Stefano Melagrani, Stefano Caglioti</i>	12
Registro nazionale malattie rare: problemi connessi alla raccolta e all'elaborazione dei dati epidemiologici <i>Paolo Salerno, Agazio Elvira, Moges Seyoum Ido, Gianfranco Tarsitani, Domenica Taruscio</i>	15
Malformazioni congenite: risultati della collaborazione tra Registro Nazionale Malattie Rare e Registri dei Difetti Congeniti <i>Fabrizio Bianchi, Anna Pierini</i>	25

ATTIVITÀ CLINICA

Protocolli per le malattie rare: le immunodeficienze primitive <i>Alessandro Plebani</i>	33
Patologie malformative del polmone <i>Corrado Moretti</i>	38
Malattie metaboliche ereditarie: prevenzione, problemi di diagnosi, terapia oggi <i>Gaetano Sabetta</i>	44
Protocollo di riconoscimento e di trattamento dietetico farmacologico dei neonati in coma iperammoniemico <i>Andrea Bartuli, Carlo Dionisi Vici, Gaetano Sabetta</i>	49
Malattie reumatiche in pediatria: l'esempio della rete Printo <i>Nicolino Ruperto, Alberto Martini</i>	52
Le malattie rare in dermatologia <i>Maya El Hachem, Andrea Diociaiuti</i>	56
Epidermolisi bollose ereditarie <i>Mauro Paradisi, Corrado Angelo</i>	58
Le ittiosi <i>Mauro Paradisi, Corrado Angelo</i>	62

Malattie lisosomiali: aspetti clinico-diagnostici	
<i>Generoso Andria, Bruno Bembi</i>	68
Malattie metaboliche ereditarie ad esordio tardivo	
<i>Maria Alice Donati, Enrico Zammarchi</i>	70
Lo screening delle malattie metaboliche oggi	
<i>Roberto Cerone</i>	86
Lo screening delle malattie metaboliche domani	
<i>Alberto Burlina, Susanna Catuogno, Giuseppe Giordano</i>	89

PREMESSA

La sorveglianza delle malattie rare è indicata dal Piano Sanitario Nazionale (PSN) 1998-2000 e dal PSN 2003-2005. In particolare, viene individuata per le malattie rare la necessità di una diagnosi appropriata e tempestiva indicando tra le azioni da intraprendere la costituzione di una rete di Presidi ospedalieri distribuiti su tutto il territorio nazionale.

Il Decreto del Ministero della Sanità 18 maggio 2001 n. 279, concernente il Regolamento di istituzione della Rete Nazionale delle Malattie Rare raccoglie questi indirizzi.

I Presidi Regionali e i Centri di coordinamento rappresentano i nodi di una rete funzionale, realizzata al fine di affrontare al meglio i problemi assistenziali e di sviluppare l'attività epidemiologica. Infatti, le malattie rare presentano delle criticità nel processo assistenziale, rappresentate in generale dalla difficoltà diagnostica, dalla scarsità delle possibilità terapeutiche, dall'andamento cronico e dagli esiti invalidanti.

Tutte le attività di programmazione, realizzazione e valutazione di interventi di sanità pubblica hanno la necessità di essere guidate da uno strumento epidemiologico in grado di definire le dimensioni del problema e di effettuare attività di monitoraggio.

Il Registro Nazionale Malattie Rare si propone quale strumento per la raccolta dei dati che scaturiscono dell'attività epidemiologica della rete, al fine di orientare le attività di sanità pubblica. La Rete Nazionale delle Malattie Rare, che nasce e si sviluppa per facilitare i percorsi diagnostici e terapeutici dei pazienti, può dotarsi di uno strumento di valutazione e monitoraggio: il Registro Nazionale Malattie Rare.

Gli operatori sanitari che svolgono la loro attività all'interno della rete dovranno essere in grado di svolgere un duplice ruolo, che li vede, allo stesso tempo, impegnati nel processo assistenziale e primi operatori del Registro Nazionale Malattie Rare.

Questa impostazione rende necessarie nuove conoscenze e metodologie di lavoro e quindi la definizione di idonei strumenti formativi.

Sono da interpretare in quest'ottica i due corsi organizzati dal Centro Nazionale Malattie Rare dell'Istituto Superiore di Sanità "Le malattie rare in età pediatrica", svolti presso il medesimo Istituto dal 14 al 16 ottobre e dal 4 al 6 dicembre 2002, i cui contenuti sono stati in ampia misura raccolti in questo rapporto.

In particolare il primo corso è stato strutturato in tre fasi.

Nella prima fase sono stati svolti aspetti normativi, regolamentatori e organizzativi a diversi livelli. Sono stati trattati argomenti inerenti il Regolamento di Istituzione della Rete Nazionale Malattie Rare, il ruolo svolto dalle Regioni, e l'appropriatezza degli attuali sistemi di remunerazione (*Diagnosis Related Groups*, DRG). Successivamente sono stati svolti temi sui modelli organizzativi proposti in sanità pubblica, per affrontare i problemi connessi alle malattie rare ed è stata illustrata l'attività epidemiologica del Registro Nazionale Malattie Rare.

La seconda fase ha svolto argomenti inerenti le difficoltà assistenziali nella pratica medica in riferimento a specifici gruppi di malattie rare e in particolare le malformazioni congenite, le immunodeficienze primitive, le malattie metaboliche ereditarie e le malattie di interesse oculistico.

La terza fase ha visto i relatori impegnati nel tema "il sospetto diagnostico nelle malattie rare in pediatria: quali orientamenti". Il tema è stato posto all'attenzione dei relatori e dei discenti in quanto svolge un elemento di criticità nel processo assistenziale.

Il secondo corso ha riproposto la prima e la terza fase invariate, mentre nella seconda fase l'attenzione su specifici gruppi di malattie rare si è focalizzata sulle malattie reumatiche,

dermatologiche, neuromuscolari, nefrologiche e metaboliche. In particolare, per le malattie metaboliche sono stati affrontati temi riguardanti la diagnosi prenatale e le attività di screening.

L'intento è stato quello di sensibilizzare i discenti ai temi propri delle malattie rare, di fornire strumenti per il trattamento di dati epidemiologici ed in ultimo consegnare a questi rappresentazioni cliniche emblematiche proposte da operatori sanitari impegnati nelle attività di diagnosi e trattamento.

Riteniamo che riportare in questo documento alcuni significativi contributi espressi nel corso di queste nostre attività formative possa amplificarne l'utilità.

Domenica Taruscio
Responsabile del Centro Nazionale Malattie Rare
Istituto Superiore di Sanità

Sanità pubblica

LE MALATTIE RARE

Domenica Taruscio

Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

Definizione e inquadramento

Le Malattie Rare (MR) sono definite sulla base di una bassa frequenza nella popolazione e il loro numero è stimato dall'Organizzazione Mondiale della Sanità intorno a 6.000.

Queste sono, oltre che numerose, molto eterogenee fra loro sia nell'eziopatogenesi sia nel coinvolgimento di organi e apparati dell'organismo umano (1).

Il limite di occorrenza nella popolazione, unico elemento di definizione della condizione di "rarità" risulta diverso nei vari Paesi.

Nella Comunità Europea sono considerate rare le malattie che hanno una prevalenza non superiore a 5 su 10.000 abitanti (2) mentre gli Stati Uniti hanno fissato la soglia di 200.000 casi nella popolazione totale (quindi una malattia con una prevalenza inferiore a circa 7,5 su 10.000) (3). Infine, in Giappone una malattia è definita rara quando la prevalenza è inferiore a 4 su 10.000.

Le MR sono condizioni morbose, spesso croniche e/o invalidanti oppure costituiscono causa di mortalità precoce, poco conosciute, poco studiate e spesso mancanti di una terapia adeguata (4).

Dalle origini della medicina coloro che si sono confrontati con il fenomeno malattia hanno sentito la necessità di descrivere le singole malattie (nosografia) e di classificarle in forme o sottoforme e quindi di ordinarle secondo affinità di gruppo.

Il fine di questa attività è la realizzazione di un sistema nosologico, un ordine sistematico: la classificazione nosologica.

Gli attuali sistemi classificativi delle malattie hanno la caratteristica di essere condivisi a livello internazionale (*International Classification of Diseases*, ICD) e utilizzare per la definizione di categorie nosologiche sia criteri eziologici (es. malattie infettive) che topografici (interessamento di organi, apparati e sistemi; es. malattie del sistema nervoso).

Il sistema di classificazione è ragionevolmente orientato a sviluppare la frazione che utilizza criteri eziologici, a discapito di quella che si basa su criteri topografici. Questa direzione è dovuta al progredire delle conoscenze scientifiche sulle cause delle malattie e ai vantaggi della classificazione eziologica che si concretizzano in sintesi in un ruolo più diretto nei processi clinici (dall'eziologia scaturiscono le opzioni terapeutiche in misura sicuramente maggiore di quanto non sia per la topografia).

I rilievi epidemiologici consentono confronti tra loro solo se si utilizzano riferimenti comuni. La codifica delle varie malattie avviene servendosi dell'ICD.

Le MR rappresentano un gruppo trasversale a tutti i sistemi di classificazione nosologica attualmente in uso. Il criterio di definizione non è né eziologico né topografico, bensì epidemiologico.

Infatti, le MR sono definite sulla base della bassa occorrenza nella popolazione.

Da queste indicazioni scaturiscono due considerazioni:

- la definizione di malattia rara è arbitraria (come è arbitraria la definizione di rarità).
- La definizione sulla base di una misura epidemiologica rende il "contenitore" permeabile: le misure epidemiologiche si modificano; una malattia che oggi è rara potrebbe non esserlo domani e viceversa.

CLASSIFICAZIONE ICD

La classificazione ICD è finalizzata a tradurre in codici alfa-numeriche i termini medici in cui sono espressi le diagnosi di malattia, gli altri problemi di salute e le procedure diagnostiche e terapeutiche.

I caratteri fondamentali della ICD sono i seguenti:

- l'eshaustività: tutte le entità trovano una loro collocazione, più o meno specifica, entro i raggruppamenti finali della classificazione;
- la mutua esclusività: ciascuna entità è classificabile soltanto in uno dei raggruppamenti finali della classificazione;
- il numero limitato di raggruppamenti: circa quindicimila codici consentono la classificazione delle diagnosi, dei problemi di salute e delle principali procedure diagnostiche e terapeutiche;
- la specificità dei raggruppamenti in ragione della rilevanza delle entità nosologiche dal punto di vista della sanità pubblica: le entità nosologiche di particolare importanza per la sanità pubblica o che si verificano con maggiore frequenza sono individuate da una specifica categoria; tutte le altre entità nosologiche sono raggruppate in categorie non strettamente specifiche, che comprendono condizioni differenti, benché tra loro correlate.

La struttura della classificazione ICD è determinata da due assi principali:

- l'eziologia;
- la sede anatomica

I capitoli in cui si articola la classificazione riflettono i due assi principali: il criterio eziologico determina i cosiddetti capitoli "speciali" (malattie infettive, traumi); il criterio anatomico determina i capitoli cosiddetti "locali", ovvero riferiti ad una specifica sede anatomica.

In generale, il criterio eziologico prevale su quello anatomico, per cui le condizioni morbose sono in via prioritaria classificate in uno dei capitoli speciali.

La più recente revisione, la decima, è stata effettuata dall'Organizzazione Mondiale della Sanità nel 1992 e raccoglie 23 categorie principali; tali categorie si suddividono in 470 gruppi di malattie.

Il gruppo, quindi è mal definito: può modificarsi, nello spazio e nel tempo, e non solo per ciò che riguarda il contenuto (malattie in esso collocate) ma anche per ciò che riguarda le dimensioni del contenitore (valore soglia).

In generale, quanto più una definizione è stabile, condivisa e universalmente utilizzata tanto più risulta vantaggiosa per gli scopi per cui è stata realizzata.

Ciò avrebbe dovuto scoraggiare la definizione del gruppo MR che invece trova le sue motivazioni in caratteristiche comuni dei singoli elementi del gruppo.

Queste caratteristiche si rendono evidenti se si considerano tali malattie dal versante assistenziale e in particolare si fa qui riferimento a:

1. difficoltà diagnostiche;
2. scarse opzioni terapeutiche;
3. andamento spesso cronico;
4. esiti spesso invalidanti.

La costituzione di un gruppo di MR consente di programmare e realizzare interventi di sanità pubblica indirizzati a queste nel loro insieme, nella convinzione che siffatte iniziative abbiano un rapporto costi/benefici più basso rispetto ad interventi volti alle singole patologie, e in ciò risiede il razionale della costituzione di questo gruppo.

L'entità malattia rara si propone quindi a fini assistenziali, con ciò intendendo non solo gli aspetti diagnostico-terapeutici ma anche quelli inerenti all'attività di prevenzione e riabilitazione e al sostegno socio-economico.

Malattie rare e problemi di sanità pubblica

Come riportato in precedenza, le MR sono condizioni morbose poco frequenti per definizione, ma anche poco conosciute, poco studiate e spesso mancanti di una terapia adeguata. L'eziologia di molte MR è sconosciuta, così pure per la gran parte di esse, la presenza di eventuali fattori di predisposizione o di rischio.

La rarità di queste patologie in parte determina la difficoltà dei pazienti a ottenere una diagnosi appropriata e tempestiva e un trattamento idoneo.

In particolare, i percorsi diagnostico-terapeutici sono complicati dall'esiguo numero di strutture sanitarie e operatori sanitari (e spesso dalla loro non omogenea distribuzione sul territorio nazionale) in grado di fornire risposte soddisfacenti ai bisogni di salute di pazienti affetti da MR. Ciò è dovuto al fatto che la risposta deve essere di alto livello qualitativo: queste malattie necessitano di un'assistenza ultraspecialistica e multidisciplinare, volendo intendere con ciò il possesso, l'utilizzo e la convergenza di diverse conoscenze ed esperienze specifiche in un ambito che travalica l'aspetto sanitario e coinvolge il versante sociale.

La scarsa disponibilità di conoscenze scientifiche e la difficoltà a condividere esperienze cliniche determinano spesso lunghi tempi di latenza tra esordio della patologia e diagnosi e ciò incide negativamente sulla prognosi del paziente. Inoltre, spesso i criteri diagnostici sono fortemente disomogenei.

La rarità incide anche sulle possibilità della ricerca clinica, in quanto la valutazione di nuove terapie è spesso resa difficoltosa dall'esiguo numero di pazienti arruolabili nei trial clinici. Il ricorso a una casistica multicentrica può, inoltre, diminuire la qualità dello studio, in quanto i criteri di reclutamento e trattamento possono essere disomogenei.

Infine, i pazienti affetti da MR vivono un'esperienza doppiamente dolorosa rappresentata sia dalla condizione morbosa quasi sempre molto severa, sia dal non essere riconosciuti, diagnosticati e curati per quanto si potrebbe.

La Commissione Nazionale degli USA sulle "Orphan diseases" (istituita nel 1985) ha rilevato che per un terzo dei cittadini americani affetti da MR sono stati necessari da 1 a 5 anni per ricevere una diagnosi corretta, e per il 15% di essi, la diagnosi è stata effettuata dopo 6 o più anni. I dati disponibili a livello europeo confermano tale difficoltà nella diagnosi, alla quale contribuiscono diversi fattori, quali ad esempio il mancato riconoscimento da parte degli operatori sanitari, dovuto alla rarità dell'evento, la mancata definizione di percorsi diagnostici adeguati, la mancanza di test (es. test genetici), oppure la mancata validazione dei test eventualmente disponibili (1).

Malattie rare e strategie di sanità pubblica

Gli USA nel 1983 hanno adottato una Legge sui medicinali orfani (*Orphan Drugs Act*) per promuovere lo sviluppo e la commercializzazione di questi prodotti. Nello stesso anno è stata avviata l'attività della *National Organization for Rare Disorders*, che riunisce e sostiene tutti gli organismi di volontariato impegnati nel sostegno delle persone affette da MR (5).

In linea con la decisione del Parlamento e Consiglio della Comunità Europea n. 1295/99 (3), l'Italia ha individuato nelle MR un ambito d'intervento prioritario nelle attività di sanità pubblica (6).

Questo orientamento è evidenziato dai contenuti del Piano Sanitario Nazionale 1998-2000 e 2003-2005.

Attualmente, nel nostro Paese, il substrato legislativo delle azioni indirizzate alle MR è rappresentato dal Decreto Ministeriale n. 279 maggio 2001, "Regolamento di istituzione della Rete Nazionale delle MR e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie" (*Gazzetta Ufficiale* n. 160, del 12.07.2001 Suppl. Ord. n. 180/L) (7). Questo regolamento prevede la realizzazione di una rete clinico-epidemiologica costituita da presidi accreditati, appositamente individuati dalle regioni. Il Regolamento prevedeva che nell'ambito di tali presidi, preferibilmente ospedalieri, fossero individuati i centri interregionali, con Decreto del Ministero della Sanità, su proposta della Regione interessata, d'intesa con la Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome di Trento e Bolzano.

Attualmente l'ambito sovraregionale in tutte le sue funzioni è svolto da un gruppo tecnico interregionale permanente, definito nell'ambito della Conferenza Stato-Regioni.

L'obiettivo di questo gruppo interregionale, al quale partecipano il Ministero della Salute e l'Istituto Superiore di Sanità, e i rappresentanti delle singole Regioni, è rappresentato dall'ottimizzazione del funzionamento delle reti regionali e dalla salvaguardia del principio di equità dell'assistenza per tutti i cittadini.

La Rete nazionale delle Malattie Rare si propone il duplice scopo di migliorare la qualità dell'assistenza e di realizzare la raccolta di dati epidemiologici utili alla programmazione, realizzazione e valutazione di interventi di sanità pubblica.

Allo scopo di contribuire alla realizzazione e allo sviluppo della rete nazionale è stato attivato a partire dal 2000 presso l'Istituto Superiore di Sanità il Centro Nazionale Malattie Rare (CNMR) (8).

Bibliografia

1. Taruscio D, Cerbo M. Malattie rare: concetti generali, problemi specifici e interventi sanitari. *Annali dell'Istituto Superiore di Sanità* 1999;35(2):237-44.
2. Decision n. 1295/EC of the European Parliament and Council of 29 April 1999 (official Journal L 155, 22/06/1999;01).
3. The Orphan Drug Act. Public Law 97-414. Washington DC: January 4, 1983.
4. Taruscio D, Ido MS, Daina E, Schieppati A. Tackling the problem of rare diseases in public health: the Italian approach. *Community Genet* 2003;6(2):123-4.
5. <http://www.rarediseases.org>.
6. Italia. Piano Sanitario Nazionale 1998-2000.
7. Decreto Ministeriale n. 279, maggio 2001 "Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie" *Gazzetta Ufficiale* n. 160, del 12.07.2001, Supplemento Ordinario n. 180/L.
8. Taruscio D, Allegritti A, D'agnolo G, D'ippolito C, Falbo V, Florida G, Greco D, Grilli G, Mancino N, Salerno P, Seyoum Ido M, Salvatore M, Stazi MA, Tosto F. Centro Nazionale Malattie Rare. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2001;14(7/8):3-10.

REGOLAMENTO DI ISTITUZIONE DELLA RETE NAZIONALE DELLE MALATTIE RARE: STATO DI APPLICAZIONE

Silvia Arcà, Maria Elena Congiu

Dipartimento della Programmazione, Ministero della Salute, Roma

Per comprendere i contenuti del Decreto Ministeriale 18 maggio 2001, n. 279/2001 “Regolamento di istituzione della Rete Nazionale Malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo” e capire le ragioni della situazione attuale è necessario fare un passo indietro e spiegare perché si è sentita l’esigenza di un atto normativo quale quello citato in precedenza.

Il Regolamento nasce come integrazione tra i contenuti del Piano Sanitario Nazionale (PSN) 1998-2000 e il Decreto Legislativo n. 124/1998.

Il PSN 1998-2000, individuava, nell’ambito dell’Obiettivo V “Portare la sanità in Europa” l’avvio della sorveglianza delle patologie rare tra le azioni da compiere con i seguenti obiettivi:

- ottenere una diagnosi appropriata e tempestiva;
- facilitare l’accesso ai programmi terapeutici presso centri specialistici;
- avviare l’attività di prevenzione;
- sostenere la ricerca scientifica nello sviluppo di nuove terapie.

Per questa ragione, il PSN individuava alcuni interventi “prioritari”:

- identificazione di centri nazionali di riferimento per patologie e la costituzione di una rete di presidi ospedalieri, ad essi collegati, per la diagnosi e il trattamento di patologie rare (singole o gruppi);
- avvio di un programma nazionale di ricerca finalizzato al miglioramento delle modalità di prevenzione, diagnosi precoce e assistenza, nonché all’identificazione di nuovi approcci terapeutici;
- sviluppo di interventi diretti al miglioramento della qualità della vita dei pazienti affetti da patologie rare;
- realizzazione di programmi di informazione ai pazienti e alle loro famiglie;
- facilitazione nell’acquisizione dei farmaci specifici, allo scopo di agevolare l’approvvigionamento presso i pazienti.

Questi sono i riferimenti di contenuto, che il regolamento riprende interamente.

Dal punto di vista strettamente normativo, il regolamento discende direttamente dal riordino della disciplina delle esenzioni (DL.vo n. 124/1998).

Il DL.vo n. 124/1998, che ha imposto la revisione della disciplina delle esenzioni dalla partecipazione al costo delle prestazioni sanitarie, ha fornito al Ministero della Sanità l’occasione affinché si potesse predisporre il primo provvedimento specifico sulle malattie rare. Infatti, il DL.vo n. 124/1998 aveva previsto che fossero erogate in esenzione tutte le prestazioni, in relazione alla condizione economica del nucleo familiare, e in relazione a particolari condizioni di malattia - malattie croniche e invalidanti e malattie rare – da individuarsi con 2 distinti regolamenti del Ministro della Sanità.

L’occasione offerta da ciò che è stato appena illustrato ha permesso di affrontare, per la prima volta, il problema mediante una strategia complessiva, in una logica d’integrazione tra quanto era previsto dal PSN e quanto prevedeva la disciplina delle esenzioni. È stato elaborato,

quindi, il Decreto Ministeriale 18 maggio 2001, n. 279 “Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie, ai sensi dell’articolo 5, comma 1, lettera b), del decreto legislativo 29 aprile 1998, n. 124”, pubblicato nel Supplemento ordinario della *Gazzetta Ufficiale* n. 160 del 12 luglio 2001.

Tale regolamento individua le malattie rare che danno diritto all’esenzione, definisce le modalità d’esenzione dalla partecipazione al costo delle prestazioni sanitarie, prevede l’istituzione di una rete assistenziale dedicata, istituisce il Registro Nazionale delle Malattie Rare.

Ad oggi, non esiste una definizione universalmente accettata di malattia rara.

Ai fini dell’esenzione si è fatto riferimento alle indicazioni del Programma d’azione comunitario sulle malattie rare 1999-2003, il quale definisce rare le malattie che hanno una prevalenza inferiore a 5 casi per 10.000 abitanti nell’insieme della popolazione comunitaria.

Le malattie e i gruppi di malattie sono state individuate:

- secondo i criteri definiti dall’articolo 5 del DL.vo 29 aprile 1998 n. 124 (la gravità clinica, il grado di invalidità ad esse associato, l’onerosità della quota di partecipazione al costo del trattamento e la prevalenza inferiore a 5 ogni 10000 abitanti);
- sulla base dei dati italiani, che è stato possibile reperire, e, inoltre, dati europei, statunitensi e di letteratura.

Il regolamento individua, per ora, 284 malattie e 47 gruppi di malattie rare. L’elenco non è definitivo, in quanto il decreto prevede che, con aggiornamenti successivi, possano essere aggiunte le eventuali patologie che saranno riconosciute in seguito all’evoluzione delle conoscenze scientifiche in questo settore.

L’esenzione riguarda tutte le prestazioni, incluse nei livelli di assistenza, appropriate ai fini del monitoraggio ed efficaci nella prevenzione degli ulteriori aggravamenti.

Inoltre, l’esenzione riguarda anche le prestazioni volte all’accertamento di ciascuna malattia rara, ma secondo precise condizioni.

In particolare, a condizione che vi sia un sospetto diagnostico formulato da uno specialista del Servizio Sanitario Nazionale.

Il Decreto dispone, ancora, che siano erogate in esenzione le indagini genetiche dei familiari dell’assistito, qualora si rendano necessarie per la diagnosi di malattia rara di origine ereditaria, eseguite dai presidi della rete.

Infatti, la maggior parte delle malattie rare è di origine genetica e l’accertamento può richiedere indagini, anche costose, sui familiari della persona affetta, per confermarne la diagnosi. In ogni caso, l’accertamento deve essere effettuato presso presidi della Rete qualificati per la diagnosi della specifica malattia o del gruppo di malattie cui la stessa afferisce.

La selezione delle prestazioni erogabili in regime di esenzione per ciascuna delle specifiche malattie è affidata al medico di fiducia, in collaborazione con il presidio competente della Rete, secondo protocolli clinici definiti e condivisi.

Questo per far sì che le prestazioni siano appropriate per il trattamento e il monitoraggio della patologia ed efficaci ai fini della prevenzione degli ulteriori aggravamenti.

La prescrizione delle prestazioni erogabili in regime di esenzione dalla partecipazione al costo deve riportare il codice della malattia rara per la quale è prevista l’esenzione, oppure del gruppo di malattie alla quale la malattia appartiene.

L’idea di istituire una rete assistenziale dedicata, in coerenza con quanto asseriva il PSN 1998-2000 che, come abbiamo detto, costituiva la fonte principale dei contenuti del regolamento, nasce con l’intento di facilitare le azioni di prevenzione, attivare la sorveglianza, migliorare gli interventi volti alla diagnosi e alla terapia e promuovere l’informazione dei cittadini e la formazione degli operatori.

Allo stato attuale esiste una certa discrepanza tra le indicazioni del Decreto Ministeriale n. 279/2001 e la realizzazione e sviluppo della Rete Nazionale delle Malattie Rare.

In particolare, la rete nazionale disegnata dal decreto è costituita da presidi accreditati, appositamente individuati dalle regioni quali centri abilitati ad erogare prestazioni finalizzate alla diagnosi e al trattamento delle malattie rare.

Tra questi, era previsto che il Ministro della Sanità, d'intesa con la Conferenza permanente per i rapporti tra lo Stato, le Regioni e le Province Autonome, individuasse i Centri interregionali di riferimento.

Il regolamento definisce espressamente i criteri per l'individuazione dei presidi della rete sulla base delle esigenze assistenziali peculiari di tali malattie. In particolare:

- la documentata esperienza di attività diagnostica o terapeutica specifica per i gruppi di malattie o per le singole malattie rare;
- l'idonea dotazione di strutture di supporto e di servizi complementari, ivi inclusi, per le malattie che lo richiedano, servizi per l'emergenza e per la diagnostica biochimica e genetico- molecolare.

L'enunciazione di tali criteri da parte del regolamento non impedisce che ne siano individuati ulteriori, eventualmente più selettivi, da parte delle Regioni, nel corso delle procedure necessarie per adempiere tale compito.

Anche le funzioni dei presidi sono espressamente enunciate dal regolamento e consistono sia in attività di assistenza sanitaria al paziente secondo protocolli clinici concordati con i Centri Interregionali di riferimento, sia in attività di collaborazione con i medici di famiglia e i servizi territoriali.

Nelle intenzioni del Decreto Ministeriale n. 279/2001, ai Centri di riferimento di livello interregionale è affidato, oltre che lo svolgimento delle funzioni tipicamente assistenziali già previste per i presidi, il coordinamento dei presidi secondo metodologie condivise. Soprattutto, però, essi sono individuati come fulcro delle attività di sorveglianza (devono tenere i registri interregionali) e del flusso delle informazioni, sia provenienti da altri centri e organismi, sia dirette alla popolazione e agli operatori.

I Centri interregionali, inoltre, forniscono consulenza e supporto ai medici del Servizio Sanitario Nazionale; collaborano alle attività formative degli operatori sanitari e del volontariato; forniscono informazioni alle associazioni dei malati e ai loro familiari.

A fronte di tutto ciò, sono indispensabili alcune considerazioni.

Il Decreto Ministeriale n. 279/2001 inizia il suo percorso amministrativo nel 1998 e, dopo una serie di ritardi, dovuti all'adeguamento di alcuni suoi contenuti alle osservazioni dell'Autorità Garante per la tutela dei dati personali, è stato pubblicato nella *Gazzetta Ufficiale* il 12 luglio 2001.

Da quel momento in poi, molto è cambiato nell'assetto che stabilisce gli equilibri tra le istituzioni centrali e le istituzioni regionali e ciò ha comportato, inevitabilmente, anche modifiche nell'applicazione Regolamenti quale quello che riguarda le malattie rare.

Si fa qui riferimento alla modifica del Titolo V della Costituzione apportata dalla Legge Costituzionale 18 ottobre 2001, n. 3 – Modifiche al Titolo V della parte seconda della Costituzione (*Gazzetta Ufficiale* n. 248 del 24 ottobre 2001).

Tale Legge ha definito le materie su cui lo Stato ha competenza esclusiva e quelle su cui lo Stato e le Regioni hanno una competenza concorrente, stabilendo che spetta alle Regioni la potestà legislativa su ogni materia non espressamente riservata alla legislazione dello Stato.

In particolare, lo Stato ha competenza esclusiva (cioè legislativa e regolamentare) solo nella definizione dei livelli essenziali di assistenza, mentre nella materia della "tutela della salute" (di competenza concorrente) lo stato può solo fissare con legge i principi generali, mentre le

Regioni devono tradurre tali principi in norme operative attraverso leggi e regolamenti regionali.

Questo, inevitabilmente, porta a rivedere in una nuova ottica alcuni dei contenuti del regolamento che ci interessa.

In generale, come prima cosa, poiché la definizione dei livelli essenziali di assistenza rientra nell'ambito della potestà legislativa esclusiva dello Stato, sembra piuttosto logico non mettere in discussione il contenuto degli articoli che definiscono il livello di assistenza per i soggetti affetti da malattie rare, vale a dire gli articoli che attribuiscono e specificano il diritto all'esenzione (art. 5 "Diagnosi della malattia e riconoscimento del diritto all'esenzione") né, come conseguenza, tutto ciò che al livello di assistenza definito è collegato.

Parliamo più precisamente della parte normativa che riguarda i presidi della rete, la cui individuazione, peraltro, era già stata affidata alle Regioni dal Decreto Ministeriale n. 279/2001. I presidi, infatti, costituiscono i punti saldi delle procedure che portano al riconoscimento del diritto all'esenzione, in quanto spetta loro la diagnosi della malattia rara ai fini dell'esenzione e l'erogazione, in esenzione, delle prestazioni utili alla diagnosi.

D'altro canto, appare facilmente comprensibile come si possa considerare "superata" l'individuazione dei centri interregionali di riferimento da parte del Ministro della Salute (art. 2) ed è proprio su questo fronte che le previsioni del decreto sono state riconsiderate.

Infatti, anche se la valenza interregionale che il decreto attribuiva ai Centri di riferimento imponeva, già all'epoca della predisposizione dell'atto, che vi fosse un accordo tra le Regioni, prevedendo che tale riconoscimento dovesse avvenire "su proposta della regione interessata e d'intesa con la Conferenza Stato Regioni", in realtà il Regolamento stabiliva che fosse l'autorità centrale ad istituirli, con un proprio Decreto.

Le Regioni hanno condiviso l'opportunità di una gestione integrata dei diversi aspetti che interessano le malattie rare e, da subito, si è ritenuto che dovessero essere condivisi dalle Regioni anche i criteri per l'individuazione dei Centri interregionali di riferimento.

Dalla logica descritta, è scaturito l'Accordo Stato Regioni siglato l'11 luglio 2002.

In particolare, in tale accordo, le Regioni convengono sulla necessità di garantire il coordinamento e l'operatività in rete dei presidi individuati dalle regioni per la diagnosi e il trattamento delle malattie rare; convengono sulla necessità di sviluppare, in collegamento con le sedi istituzionali scientifiche nazionali e internazionali, percorsi diagnostici e terapeutici condivisi, convengono sulla necessità di dare attuazione alla sorveglianza epidemiologica delle malattie rare e di assicurare la diffusione delle informazioni relative alle caratteristiche e alla dislocazione dei presidi individuati dalle Regioni, convengono sulla necessità di assicurare la collaborazione con le associazioni dei malati.

A questo scopo, l'accordo prevede "l'istituzione di un gruppo tecnico interregionale permanente, cui partecipano il Ministero della Salute e l'Istituto Superiore di Sanità, che assicura il monitoraggio delle attività assistenziali, al fine di "ottimizzare il funzionamento delle reti regionali e salvaguardare il principio di equità dell'assistenza per tutti i cittadini".

Altro punto fondamentale previsto dal Regolamento è l'Attivazione del Registro Nazionale delle Malattie Rare presso l'Istituto Superiore di Sanità.

Il registro ha lo scopo di centralizzare la sorveglianza delle malattie rare in modo da ottenere a livello nazionale un quadro complessivo della loro diffusione e della loro distribuzione sul territorio. Grazie alle informazioni ottenute sarà anche possibile cooperare alle iniziative di livello internazionale.

A medio-lungo termine, inoltre, sarà utile a verificare sia l'efficienza organizzativa, sia l'efficacia delle azioni intraprese e costituirà, quindi, un indispensabile strumento di sanità pubblica nel campo delle malattie rare.

Tra le previsioni del decreto n. 279/2001 c'è anche quella del comma 5 dell'articolo 2, in cui si dice che il Ministro della Salute cura la diffusione dell'elenco nazionale dei presidi sanitari inclusi nella rete e riferisce sulla relativa attività nell'ambito della relazione sullo stato sanitario del Paese.

Questo presuppone che il Ministero della Salute disponga delle informazioni utili sui contenuti degli atti regionali di individuazione dei presidi.

Al momento, sull'organizzazione della Rete Nazionale delle Malattie Rare, risulta una grande diversità di interpretazione del regolamento e da qui scaturisce una grande diversità nella sua applicazione. Alcune Regioni hanno correttamente interpretato e dato seguito alle intenzioni che stavano alla base di quanto era stato disposto. Queste regioni (es. Regione Veneto e Regione Lombardia) hanno quasi subito avviato una ricognizione delle strutture che operano nel loro territorio nell'ambito delle malattie rare. Coinvolgendo le Aziende USL in questa ricognizione, in tempi relativamente brevi hanno potuto rilevare quale tipo di assistenza viene effettivamente erogata nell'ambito territoriale di competenza e, a questo punto, hanno formalizzato con una Delibera di Giunta Regionale le competenze che le strutture già avevano. Questo è stato un modo molto efficace di procedere in quanto tramite le disposizioni del Regolamento si sarebbe dovuto semplicemente mettere ordine nella materia, riconoscendo formalmente le competenze medico-scientifiche già esistenti. Si è partiti dalla convinzione che, per quanto le malattie rare siano un terreno in larga parte inesplorato, oggi, anche nel nostro Paese, vi sia una ricchezza di conoscenze e di attività svolte il cui solo problema è una carenza di organizzazione e di comunicazione che impedisce che si crei una collaborazione tra diverse figure di professionisti e tra le diverse strutture.

Per questo, il significato della rete nazionale era la riorganizzazione e la razionalizzazione dell'esistente, senza che fossero create nuove competenze. È in questa logica che il requisito fondamentale previsto dal Decreto Ministeriale n. 279/2001 è la documentata esperienza di attività diagnostica o terapeutica specifica per i gruppi di malattie o per le singole malattie rare.

Altre Regioni, invece, hanno individuato una o anche più strutture nel loro territorio accentrandovi tutte le competenze per le malattie rare contemporaneamente (es. Marche).

Delle intenzioni di altre Regioni ancora non si ha nessuna idea.

Questo comporta gravi difficoltà perché crea delle enormi disparità in termini di riconoscimento dei diritti alle prestazioni da parte dei cittadini affetti. Infatti, anche se il diritto all'esenzione è riconosciuto senza problemi, ormai, in tutte le Regioni d'Italia, per le prestazioni che devono essere erogate a coloro che hanno una malattia già diagnosticata, riceviamo ancora numerose segnalazioni da parte di cittadini che non vedono riconosciuto il loro diritto alla gratuità della fase diagnostica presso quelle regioni in cui non è stata individuata ancora una rete regionale.

Ancora, esistono ritardi applicativi per questo aspetto, anche in quelle Regioni che hanno proceduto correttamente all'individuazione dei presidi ma che si trovano costrette a fare riferimento all'ambito extraregionale per le malattie per le quali non vi sono competenze nel loro territorio.

Tutto ciò dovrebbe indurre le regioni ad utilizzare al più presto lo strumento del gruppo di lavoro interregionale previsto dall'accordo. Riponiamo fiducia che tale gruppo di lavoro possa realizzare un'intesa per adottare una regola comune che consenta di superare le difficoltà qui presentate.

MALATTIE RARE E DRG

Stefano Melagrani (a), Stefano Caglioti (b)

(a) Azienda Ospedaliera "G. Salesi", Ancona

(b) Agenzia Regionale Sanitaria – Marche, Ancona

La gestione assistenziale delle Malattie Rare comporta oneri importanti per le strutture che se ne fanno carico, in termini di oneri economici propriamente detti, di impegno diagnostico-terapeutico, di personale e di attrezzature. È quindi fondamentale che le suddette strutture ricevano un'adeguata remunerazione per lo svolgimento di un'attività da tutti considerata rilevante e impegnativa.

Parlare di DRG (*Diagnosis Related Groups*), e quindi di tariffe nell'ambito delle malattie rare può apparire una contraddizione anche in termini giuridici. Infatti l'art. 8 sexies del DL.vo n. 229/99 inserisce le malattie rare tra quelle forme più complesse di assistenza che devono essere remunerate alle strutture in base ai costi di produzione dei programmi di assistenza; ciò diversamente dalle prestazioni di cui al 3° comma del suddetto articolo che per tutte le prestazioni che non fanno riferimento al comma precedente prevede una remunerazione in base a tariffe massime prefissate (tariffe per prestazioni ambulatoriali e tariffe dei DRG).

In attesa della definizione dei costi standard di produzione dei programmi di assistenza alle malattie rare allo stato attuale diviene gioco forza fare riferimento agli aspetti tariffari per le prestazioni ambulatoriali e di ricovero.

Rimane, comunque, importante verificare l'appropriatezza del regime di erogazione delle prestazioni connesse alle malattie rare, le quali, costituendo un numeroso e variato insieme di differenti patologie possono prevedere forme differenziate di approccio diagnostico-terapeutico e nelle diverse fasi del ciclo della malattia in rapporto al sistema di erogazione delle prestazioni stesse.

I DRG sono nati negli Stati Uniti una trentina di anni fa per misurare la complessità della casistica trattata presso un Ospedale. Sono stati successivamente collegati ad un sistema di remunerazione delle strutture sanitarie, che si è esteso progressivamente anche al di fuori delle strutture "pubbliche" nelle quali era stato inizialmente utilizzato. Va precisato che il DRG remunera in America la complessità della struttura ospedaliera ma non i professionisti che vi operano, che sono pagati al di fuori del DRG; remunera prestazioni per pazienti acuti ed esclusivamente in regime di degenza ordinaria (*in-patient*; per gli americani il paziente in *day hospital* o in *day-surgery* è un *out-patient* al pari del paziente ambulatoriale). Il numero e la tipologia dei DRG varia da Stato a Stato negli USA e negli altri Paesi nord-americani e in Australia come pure le tariffe che sono modificate con frequenza annuale. Nel nostro Paese è stato introdotto il cosiddetto "sistema HCFA DRG" e le tariffe dei DRG sono state modificate una volta a partire dal 1996, a fronte di costi crescenti delle strutture ospedaliere e a fronte di almeno due nuovi contratti sia per la Dirigenza medica e sanitaria sia per il comparto.

Mentre all'estero, nelle realtà sopra menzionate, il sistema dei pesi e delle tariffe dei DRG va di pari passo, al contrario in Italia, per strategie di politica di offerta delle prestazioni, non vi è in tutti i casi una stretta corrispondenza tra pesi e tariffe di DRG stessi, con possibili conseguenze di aumento del peso della casistica trattata a discapito della minore redditività delle tariffe e viceversa.

Il sistema dei DRG rappresenta un sistema di classificazione delle prestazioni assistenziali in regime di ricovero "iso-risorse" a differenza di altri sistemi di classificazione "iso-gravità". Se questi ultimi potrebbero essere considerati più idonei a classificare patologie quali le malattie

rare, va ricordata la loro intrinseca complessità sia in fase di raccolta dei dati sia di elaborazione della classificazione stessa. Il grande pregio del sistema DRG è che si attiva con un numero minimo di dati anagrafici e sanitari che possono essere concentrati sul frontespizio della cartella clinica e pertanto di facile reperimento e gestione.

Si può affermare che mentre i sistemi iso-gravità sono sistemi con finalità di classificazione “clinica”, i sistemi iso-risorse sono a finalità maggiormente “amministrativa” e, in questo caso, utili al nostro obiettivo di remunerazione delle prestazioni erogate.

Come molti sistemi di classificazione di prestazioni sanitarie i DRG risultano più chiaramente specifici e omogenei per classificare le patologie più frequenti e importanti diventando progressivamente disomogenei e aspecifici nelle patologie meno frequenti, quali appunto le Malattie Rare, che rischiano di confluire in categorie residuali (DRG valigia).

Inoltre è nota la difficoltà dell’attuale sistema dei DRG italiani a classificare la patologia in età pediatrica ed evolutiva (è stato effettuato in questo biennio un apposito studio volto a definire un sistema idoneo di classificazione dei DRG pediatrici che ha visto come struttura pilota l’Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico (IRCCS) Bambino Gesù di Roma al quale hanno partecipato alcune importanti strutture pediatriche italiane) che rende ancora più critico l’approccio dei DRG delle malattie rare in età pediatrica.

Come è noto l’algoritmo che elabora le patologie in DRG prende avvio dalle diagnosi delle “patologie” secondo i codici ICD.9.CM nella 14a revisione.

Non tutte le malattie rare dispongono di uno specifico codice ICD.9.CM (*International Classification of Diseases* 9^a edizione) che descrive la malattia rara stessa. Pertanto alcune Malattie Rare sono riconducibili esclusivamente a codici ICD.9.CM inappropriati e che quindi non descrivono con chiarezza la situazione patologica considerata.

A questo punto è opportuno premettere che, a nostro giudizio e come proposta applicativa generale, il codice ICD.9.CM delle malattie rare debba essere sempre riportato sulla SDO (Scheda di Dimissione Ospedaliera). Come diagnosi principale, nel ricovero finalizzato alla diagnosi, alla terapia specifica e al follow-up; come diagnosi secondaria, in caso di ricovero diverso dalle fattispecie precedenti.

Dallo studio effettuato su un campione di diagnosi di malattie rare (n. 584 patologie) si è potuto stimare la presenza di un codice appropriato solo nel 65% dei casi, mentre nel restante 35% dei casi si è reso necessario, ai fini di classificazione ICD.9.CM ricorrere a diagnosi non specifiche o non utilmente appropriate.

Quando si è poi proceduto, nel campione di 584 malattie rare, a utilizzare codici ICD.9.CM, per ottenere i DRG corrispondenti, si è evidenziato, nell’elaborazione da noi condotta, la definizione di 40 tipologie di DRG (avendo proceduto a eliminare il fattore età e le complicazioni, il numero reale dei singoli DRG risulta di fatto superiore, seppure di poco).

Né a questo scopo possono comunque essere utilizzate le classificazioni delle malattie rare presenti nei Decreti Ministeriali n. 329/1999 e n. 378/2000 elaborate esclusivamente ai fini di esenzione dal costo delle prestazioni, ma che rispondono, in sostanza e per quella finalità a criteri di mutua esclusività dei codici elaborati con le singole malattie rare o gruppi di malattie rare.

Risulta, inoltre, evidente, nella maggior parte dei DRG prodotti e salvo specifiche eccezioni, la generale aspecificità degli stessi, che si riferiscono a DRG “valigia”, come verificabile nelle schede allegate.

Ne deriva anche che alcuni di questi DRG risultano tra quelli ricompresi nei DRG a rischio di non appropriatezza in funzione del regime ordinario di ricovero, rendendo ancora più caotica la loro remunerazione, senza l’introduzione di specifici criteri di valutazione.

Può essere avanzata la considerazione che allo stato attuale, per la gestione classificatoria delle malattie rare, se il sistema della codifica ICD.9.CM non risulta pienamente idonea allo

scopo, il sistema dei DRG per classificare le malattie rare risulta ancora di più inappropriato, anche se le tariffe di alcuni DRG valigia può risultare, per l'intrinseca tipologia di situazioni cliniche che ricomprendono, maggiormente favorevole rispetto ad altri DRG riferiti a condizioni morbose più specifiche o definite e per il fatto che questi sono nati per altri scopi.

Al fine di garantire pertanto alle strutture che gestiscono le malattie rare una idonea remunerazione per le specifiche attività svolte, emerge con chiarezza la necessità di individuare un sistema diverso dagli attuali DRG, muovendosi nell'ottica di definire i costi standard di riferimento, come ricordato in premessa.

Uno studio finalizzato a queste strutture può essere articolato coinvolgendo i principali Centri nazionali che gestiscono le malattie rare, definendo protocolli diagnostico-terapeutici e di follow-up per le malattie rare più frequenti e più importanti. Per questo si dovrà procedere a definire i costi diretti e indiretti di produzione, per giungere ad una stima il più possibile reale dei costi di produzione.

In fase intermedia in attesa di una definizione di costi standard, rimane obbligatorio continuare a muoversi all'interno del sistema tariffario, utilizzando i DRG per le prestazioni di ricovero, e concordando in sede nazionale una opportuna iniziativa che produca linee guida alla codifica delle malattie rare.

Diventa auspicabile che i DRG che derivano dalla gestione delle malattie rare non siano soggetti ad alcuna previsione di abbattimento tariffario o di altra natura; al limite potrebbe esserci peraltro un incremento percentuale delle tariffe stesse.

Ultima ipotesi, sempre in via transitoria, appare quella di finanziare con quote extra DRG le strutture che gestiscono le malattie rare, per remunerare forfettariamente la complessità della struttura preposta al trattamento delle stesse.

REGISTRO NAZIONALE MALATTIE RARE: PROBLEMI CONNESSI ALLA RACCOLTA E ALL'ELABORAZIONE DEI DATI EPIDEMIOLOGICI

Paolo Salerno, Agazio Elvira, Moges Seyoum Ido, Gianfranco Tarsitani, Domenica Taruscio
Centro Nazionale Malattie Rare, Istituto Superiore di Sanità, Roma

I temi della salute, della qualità della vita e dell'ambiente sono strettamente legati tra loro e assumono una collocazione sempre più incisiva all'interno del piano programmatico sanitario elaborato dal Governo e dalle Istituzioni. Per attuare un piano di intervento concreto e sinergico occorre osservare, seguire e studiare la frequenza e le relazioni di certi fenomeni con le attività svolte nel territorio di riferimento.

I Servizi Sanitari dovrebbero essere organizzati in modo da poter rispondere adeguatamente e tempestivamente ai bisogni di salute della popolazione. Tuttavia, poiché le risorse sono limitate, le autorità di sanità pubblica, hanno la necessità di definire le priorità di intervento, sulla base della natura ed entità dei problemi. La conoscenza della distribuzione delle malattie nello spazio e nel tempo si configura quale elemento fondamentale nel processo decisionale che porta a definire le priorità, e in quest'ottica i Registri di patologia possono apportare notevoli contributi.

Registri di patologia

Un registro di patologia è un sistema di raccolta di dati. Questa deve essere effettuata in modo regolare e continuo, su pazienti che hanno una caratteristica in comune, rappresentata dalla patologia stessa, e della quale si intende definire per lo meno alcune misure epidemiologiche quali l'incidenza e/o la prevalenza, oltreché la distribuzione geografica.

L'attività di registrazione, che si configura come continua nel tempo, può portare alla realizzazione di uno strumento di grande rilevanza per la sorveglianza epidemiologica di una patologia. I dati di morbosità possono essere molto utili per la programmazione e realizzazione di interventi di sanità pubblica, per orientare l'attività di ricerca, per migliorare le attività di formazione degli operatori sanitari. Si tratta di un investimento a lungo termine, ma che può dare frutti in tutti i settori. L'operatività di un registro rende possibile, inoltre, una verifica della qualità del sistema "diagnosi-terapia" e valuta l'efficienza organizzativa e l'efficacia delle azioni intraprese.

I registri possono essere classificati in relazione alla natura degli eventi che intendono rilevare. Nella maggior parte dei casi si tratta di specifiche patologie, ma possono essere rilevati specifici trattamenti (Registro dei soggetti trattati con radioterapia, Registro di effetti avversi da medicinali) o rischi potenziali (Registro dei Rischi Occupazionali) o infine risorse (Registri di donatori), ecc. (1).

Registro Nazionale Malattie Rare

Le caratteristiche proprie delle malattie rare, le problematiche connesse agli aspetti preventivi, diagnostici, terapeutici e, più in generale, assistenziali comportano un impegno notevole di risorse umane, tecnologiche e finanziarie. In questo contesto è pertanto, evidente il ruolo dell'approfondimento epidemiologico, in senso descrittivo e analitico, quale indispensabile presupposto per la definizione dei fattori di rischio oltre che come guida alla scelta, programmazione, organizzazione e gestione dei servizi sanitari.

L'istituzione presso l'Istituto Superiore di Sanità (ISS) del Registro Nazionale Malattie Rare (DM del 24 aprile 2000, *Gazzetta Ufficiale* n. 131 del 7 giugno 2000 e DM 18 maggio 2001, n. 279, *Gazzetta Ufficiale* n. 160, del 12 luglio 2001 Suppl. Ord. n. 180/L) (2, 3) ha lo scopo di ottenere informazioni epidemiologiche (in primo luogo il numero di casi di una determinata malattia e relativa distribuzione sul territorio) utili a definire le dimensioni del problema. Il registro è uno strumento che ha lo scopo di definire la prevalenza/incidenza delle malattie rare, identificare i possibili fattori di rischio, supportare la ricerca clinica e promuovere il confronto tra operatori sanitari per la definizione di criteri diagnostici. In particolare permette di:

- *ampliare la finestra di osservazione delle malattie rare*
la singola casistica o aggregazioni parziali di eventi a bassa frequenza assumono di norma rilievo scientifico inferiore ad una aggregazione nazionale su grande popolazione (quale quella italiana) e con metodologie standardizzate;
- *aumentare le conoscenze sulla storia naturale delle malattie rare*
un registro nazionale consente lo sviluppo di studi combinati tra epidemiologia e biomedicina per evidenziare i determinanti eziologici di malattie rare e i fattori di rischio ad esse associate.
- *migliorare le conoscenze sulla diagnosi, trattamento e assistenza delle malattie rare*
un'aggregazione nazionale di esperienze, con il necessario confronto internazionale, consente di esprimere una massa critica di ricerca sufficiente a superare molti degli ostacoli che contrastano lo sviluppo di approcci diagnostici, terapie e modalità assistenziali indipendenti dagli interessi di mercato;
- *realizzare e rafforzare una rete di collaborazioni*
le attività del registro permetteranno di operare su casistiche quanto più ampie possibili sulla base della popolazione nazionale e potranno essere un importante sostegno ad ampie iniziative interdisciplinari;
- *diffondere l'informazione*
i dati del registro saranno consultabili sul sito web dell'ISS dedicato alle malattie rare – la disponibilità di dati pubblici e ottenuti a livello nazionale sarà importante per rafforzare l'interazione fra le differenti realtà che operano nel campo delle malattie rare e comprendono la comunità scientifica, gli operatori socio-sanitari, le associazioni dei pazienti e dei familiari (4).

Il Registro Nazionale si propone di rilevare i casi incidenti di malattie rare a partire da gennaio 2001. L'attività di registrazione è basata sulla Scheda di arruolamento, divisa in due parti (A e B) e che prevede la raccolta di alcune informazioni (5).

Nella parte A vengono rilevati:

- dati personali del paziente affetto dalla specifica MR – per assicurare la riservatezza delle informazioni, i dati anagrafici sono raccolti in linea con i requisiti della normativa vigente (Legge n. 675/1996 e successive integrazioni);

- dati di interesse socio economico – quali il grado di istruzione e la professione del paziente o dei genitori qualora il paziente abbia un'età inferiore a 25 anni.

Nella parte B vengono rilevati i dati sanitari:

- nome della malattia;
- esami utilizzati per effettuare la diagnosi (clinici, strumentali, di laboratorio);
- data di esordio della sintomatologia;
- data della diagnosi;
- ente e reparto che ha effettuato la diagnosi;
- criteri diagnostici utilizzati dalla struttura sanitaria nella definizione di “caso” per definire la patologia descritta.

Nella parte A e nella parte B sono richieste dati dell'operatore sanitario e dell'istituzione (ASL, Ospedale, IRCCS, Centro universitario, ecc.) che invia le informazioni (vedi Allegato).

Le due parti della Scheda di arruolamento vengono mantenute separate in tutte le fasi del trattamento dei dati (trasmissione, archiviazione ed elaborazione), rispondendo alle disposizioni di legge della normativa vigente (Legge n. 675/1996 e successive integrazioni) per la tutela della riservatezza del paziente.

Sono previste tre versioni della scheda di arruolamento: la versione cartacea, online e programma locale. Quest'ultimo consiste di un programma che viene installato sul disco rigido del computer e tutte le fasi della compilazione delle schede si svolgono senza collegarsi con Internet.

Nella versione cartacea le due parti devono essere inviate in buste separate, mentre nelle altre versioni l'invio dei dati avviene in maniera automatizzata.

Oltre a dati di incidenza e/o prevalenza, la Scheda di arruolamento si propone di acquisire informazioni relativamente ai tempi di latenza tra esordio della sintomatologia e diagnosi, alle risorse impiegate nella diagnosi ed all'utilizzazione di criteri diagnostici nella definizione di caso.

Problemi connessi alla raccolta e all'elaborazione di dati epidemiologici

Qualsiasi dato deve avere alcune caratteristiche che lo rendono attendibile e utile per prendere una decisione. Gli elementi che sono comuni a tutti dati e che indicano la qualità in ogni contesto potrebbero essere riassunti come segue:

– *Precisione*

Esprime il concetto di quanto dettagliatamente il fenomeno è stato misurato. È un indicatore della qualità dello strumento e di quanto sia raffinata la sua lettura. Un'altezza di un individuo può essere misurata in termini di metri o centimetri o anche millimetri; allo stesso modo, il peso corporeo può essere misurato in chilogrammi, o in grammi o in milligrammi.

– *Validità*

Si riferisce alla capacità di misurare il fenomeno che intendiamo studiare – per esempio, se vogliamo conoscere la massa magra del corpo, dovremo utilizzare tecniche come la *bioelectrical impedance analysis*, la misura di spessore della cute (*skinfold thickness*), e il confronto tra il potassio totale del corpo e la massa corporea senza grasso determinata tramite analisi *dual energy X-ray absorptiometry*, invece del peso corporeo grezzo

ottenuto utilizzando come strumento di misura la bilancia. Tuttavia, data la difficoltà di utilizzare le prime tecniche e la corrispondenza fra il peso corporeo grezzo e la massa magra si può sostituire abbastanza soddisfacentemente la seconda con il primo. Quindi, il peso corporeo grezzo può essere una misura valida per conoscere la massa magra del corpo di un individuo.

– *Affidabilità*

Si riferisce alla consistenza dei dati osservati. Qualunque sia lo scopo, è fondamentale che tutti i dati rilevati siano affidabili. Una volta che i dati sono rilevati (prodotti) e riportati dopo una osservazione, se ripetiamo la stessa osservazione dovremo idealmente ottenere un risultato simile al precedente, a meno che le circostanze in cui le osservazioni vengono ripetute, siano differenti. Ottenere risultati più o meno simili rende attendibili i dati raccolti.

Tradizionalmente la qualità dei dati si riferisce principalmente ai diversi data set (insieme degli elementi informativi) e al processo della raccolta di dati. Riguardo i risultati attesi (desiderati), gli standard a disposizione oggi per accertare la qualità di dati non sono cambiati, ma semplicemente sono stati ampliati grazie alla tecnologia informatica. Si utilizzano computer per acquisire, revisionare, archiviare e analizzare i dati e scrivere rapporti. Poiché ciascuno di questi punti può essere automatizzato, l'esigenza dell'intervento umano e della revisione manuale è minimizzata. Di conseguenza, il potenziale dei dati non validi che raggiunge la fase d'analisi aumenta significativamente. Per ridurre questo potenziale, gli sforzi devono essere rivolti all'elaborazione di procedure automatizzate che prevedono ogni possibilità di convalida.

In genere, è necessario distinguere fra i due aspetti della raccolta ed elaborazione di dati: l'aspetto informatico e l'attività di routine di raccolta e analisi dei dati. In questo documento verrà trattato soltanto il secondo aspetto.

L'analisi dei problemi connessi alla raccolta ed elaborazione dei dati e il controllo di qualità si indirizzano su due elementi: quello del processo di raccolta dei dati e della qualità o validità dei dati raccolti. Per processo si intendono tutte le attività da compiere, dalla generazione dei dati grezzi fino alla diffusione dei risultati ottenuti dal registro: le fonti primarie, il flusso dei dati, l'archiviazione centrale e/o periferica dei dati, l'analisi dei dati raccolti, e la diffusione dei risultati. La qualità dei dati comprende diversi elementi: la validità, la precisione, l'affidabilità (l'attendibilità), la completezza, e la tempestività.

Per garantire la qualità del processo di raccolta dati è necessaria un'attività continua, per la quale bisogna individuare alcuni parametri che indicano l'andamento non ottimale del processo e stabilire un range all'interno del quale, questi indicatori possono oscillare. Quando i valori superano il limite superiore o inferiore è necessario effettuare misure correttive. I limiti sono stabiliti semplicemente con una stima media \pm due o tre volte l'errore standard. Ad esempio, se la proporzione dei data item (voce, variabile, elemento informativo) compilati raggiungono una media del 90%, e ogni mese si prevede di registrare 100 casi, stabilendo un errore standard di 3%, ci si potrebbe aspettare un'oscillazione di completezza dei data item tra l'84% e il 96%. Perciò, se l'indicatore è inferiore all'84%, bisognerà attivare subito il meccanismo di correzione. Un registro di buona qualità deve avere un elevato livello di completezza durante tutto il periodo di attività.

Ogni dato raccolto con qualsiasi metodo dovrebbe avere le caratteristiche suddette. Pertanto, cerchiamo di esaminare i problemi legati alla raccolta e analisi dei dati di un registro, utilizzando come esempio i dati del Registro Nazionale Malattie Rare.

L'obiettivo principale, di un registro, è conoscere quanti individui sono affetti dalla malattia. Poiché ci riferiamo al numero di casi, sembra non essere necessario considerare la precisione dell'informazione. Spesso, sono rilevate dai registri variabili quantitative, come ad esempio

parametri ematochimici, peso, età, ecc., che saranno analizzati in fasi successive. Se i “record” riportano misure precise solo in parte, saremo obbligati per svolgere l’analisi lavorare su “record limitati”, perdendo quindi alcune informazioni.

Tuttavia, l’elemento principale di notevole “peso” è la validità, vale a dire, l’esattezza (l’accuratezza) della diagnosi e indica quanto siamo certi che gli individui che stiamo reclutando siano affetti da quella specifica malattia. Ci si riferisce alla invariabilità della definizione di caso da adottare da tutti coloro che segnalano casi al registro. A seconda dello scopo di un registro, la definizione di caso può essere restrittiva (come nel caso di trial clinici) o inclusiva (studi epidemiologici per scopi di sanità pubblica). Il problema è di difficile risoluzione quando non sono disponibili definizioni di caso univoche o quando gli operatori sanitari, che inviano i casi al registro, non riescono ad attenersi alla definizione stabilita. A tale riguardo, i registri che si occupano di molte malattie, affrontano un problema di dimensioni amplificate per ciò che riguarda il controllo della qualità. È in pratica impossibile assicurare l’accuratezza di tutte le diagnosi effettuate nei vari Centri.

La prima e la più elementare misura da adottare è valutare la capacità tecnica e le risorse anche strumentali disponibili presso le strutture che segnalano i casi. Tuttavia, questo non escluderà le possibilità che si verifichino errori diagnostici. Di conseguenza, diventa essenziale disporre di meccanismi di controllo, anche se è evidente che va oltre la capacità del Registro Nazionale delle Malattie Rare poter effettuare un controllo di qualità in un ambito tanto vasto.

Spesso, si utilizzano indicatori interni che rilevano, in qualche modo, la qualità dell’intera attività di registrazione. Nel caso dei registri di tumori, la percentuale della diagnosi basata sull’istologia, la percentuale di un tipo di cancro fra tutti i tumori (es. linfoma di Burkitt tra la popolazione di età > 14 anni, ecc); similmente, i registri di malformazioni congenite impiegano la proporzione delle malformazioni sindromiche *vis-à-vis* rispetto a quelle isolate.

Per affidabilità, in questo contesto, s’intende quanto correttamente i dati di ogni data item del registro, sono stati registrati e trasferiti dalla fonte primaria al registro. Gli errori possono verificarsi quando la persona che compila la scheda per la raccolta dei dati non interpreta esattamente le informazioni richieste, quando il compilatore è una persona diversa da quella che elabora la cartella clinica o quando chi inserisce i dati nel registro ha difficoltà a leggere quello che è stato segnalato dai centri che inviano i dati. Quindi, le informazioni come l’età, il sesso, residenza ecc. potranno essere diversi dai veri valori comportando delle discrepanze notevoli fra le informazioni reali e quelle registrate.

Gli altri parametri che dobbiamo considerare sono la completezza e la tempestività. Per completezza di un data item s’intende quanto spesso questi dati sono riportati. Per esempio, il 20% dei casi segnalati ad un registro possono non avere informazioni sull’età o sulla data della diagnosi. Nel primo caso, pur mancando di informazioni, si potrà procedere lo stesso all’elaborazione dei dati, ma nella seconda eventualità, i casi saranno automaticamente esclusi dall’analisi. Oltre alla completezza dei data item è importante rilevare tutti i casi di malattia. Se non abbiamo informazioni sulla copertura della nostra popolazione o se non siamo sicuri di avere individuato tutti i casi, diventa difficile fornire stime valide della malattia. Di conseguenza è indispensabile la partecipazione di tutte le possibili fonti primarie e se necessario si dovrà prevedere una ricerca attiva dei casi.

Elemento importante per un registro è la tempestività con cui è notificato il caso, e l’intervallo di tempo dipenderà dall’obiettivo del registro. Se questo svolge un ruolo di sorveglianza, è necessario che i dati siano segnalati in tempo utile in relazione alla caratteristica della malattia da osservare. Tuttavia, la tempestività è importante anche quando il registro che non ha come obiettivo primario la sorveglianza; diventa impossibile attendere per molto tempo i casi diagnosticati negli anni precedenti. I dati raccolti dovranno essere elaborati contemporaneamente ed è possibile d’altra parte che i dati segnalati in ritardo siano di scarsa qualità

Secondo il Regolamento di Istituzione della Rete Nazionale delle Malattie Rare il Centro Nazionale delle Malattie Rare dovrà ricevere dati da Presidi regionali o dai Centri di coordinamento regionali. Attualmente, i dati primari pervengono al Registro Nazionale direttamente da varie strutture sanitarie. È importante che le strutture periferiche segnalino i casi tempestivamente, al momento dell'accertamento diagnostico e in maniera continua. Tuttavia, le strutture sanitarie possono inviare i casi ad un certo intervallo di tempo, dipendente dal loro programma lavorativo. Le strutture che preferiscono trasmettere i dati via e-mail, sono fornite di un sistema locale che permette di raccogliere le informazioni man a mano che sono diagnosticati nuovi casi di malattie rare. Il Registro Nazionale riceve le schede inviate dalle strutture con intervallo predeterminato da queste (*batch processing*).

La numerosità delle strutture che partecipano e delle malattie segnalate al Registro non permettono di stabilire un intervallo fisso per il *batch processing*. Conviene pertanto, per invogliare le strutture a segnalare i casi, definire l'intervallo di tempo nel programma di lavoro. Spesso si delineano i tempi entro i quali la segnalazione di un caso è considerata valida. Diventa cruciale la domanda: qual è il periodo di tempo massimo accettabile che intercorre tra l'accertamento diagnostico e la segnalazione?

Un altro problema che può presentarsi nell'analisi di dati è rappresentato dalla nomenclatura delle malattie e dalla loro classificazione e codifica.

La nomenclatura è un sistema di termini usati nell'arte o nella scienza; nel campo della medicina è la procedura di assegnazione dei nomi alle conoscenze nosologiche. Abbiamo la necessità di raccogliere le conoscenze mediche nel contesto locale e di confrontarle a livello internazionale.

Nomenclature o codici limitano la possibilità di esprimere al massimo le conoscenze e i concetti; d'altronde, è difficile utilizzare le informazioni espresse per esteso. Diventa importante perciò trovare il modo di rappresentare concetti complessi con terminologie adatte e specifiche, rispettando sia l'espressività sia la facilità d'impiego.

La classificazione può essere definita come un sistema di categorie al quale sono assegnate, in base ad alcune caratteristiche comuni, dei fenomeni. Indica il bisogno di organizzare e strutturare i concetti complessi e la capacità di misurarli. Spesso la classificazione è utilizzata, all'assegnazione di simboli numerici o alfa numerici ai gruppi di una classificazione.

Non ci sono sistemi specifici per la classificazione e per la codifica di malattie rare, e i sistemi esistenti (inclusi i sistemi ICD.10 e ICD.9.CM) non sono adeguati per la classificazione delle malattie rare. I problemi derivano dalla mancanza dei termini o codici che esprimono un significato unico e specifico (es. il codice ICD.9.CM 759.89 – Altre anomalie specificate – comprende molte malattie come la sindrome di Noonan, la sindrome di Costello, la sindrome di Beckwith-Wiedemann, ecc.) oppure dalla duplicazione di termini (es. Malattia di Steiner vs Distrofia miotonia) che esprimono lo stesso concetto o fenomeno. Infine, dobbiamo tener conto anche della variabilità individuale nella comprensione e nell'interpretazione delle terminologie e dei codici. Diventa importante perciò, riportare la descrizione del compilatore per esteso prima di raggrupparla in un sistema di classificazione. Questo ci permette di avere un data base con minimi errori ma nello stesso tempo rende difficile l'elaborazione dei dati raccolti.

Bibliografia

1. Weddell JM. Registers and registries: a review. *Int J Epidemiol* 1973;2(3):221-8.
2. Italia. Decreto Ministeriale 24 aprile 2000. Adozione del progetto obiettivo materno-infantile relativo al "Piano Sanitario Nazionale per il triennio 1998-2000". *Gazzetta Ufficiale* n. 131 del 7 giugno 2000, Supplemento Ordinario n. 89.

3. Italia. Decreto Ministeriale maggio 2001, n. 279. Regolamento di istituzione della rete nazionale delle malattie rare e di esenzione dalla partecipazione al costo delle relative prestazioni sanitarie. *Gazzetta Ufficiale* n. 160 del 12 luglio 2001. Supplemento Ordinario n. 180/L.
4. Taruscio D, D'Agnolo G, Greco D. Registro Nazionale delle Malattie Rare. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2000;13(8):1-5.
5. Taruscio D, Allegritti A, D'Agnolo G, *et al.* Centro Nazionale Malattie Rare. *Notiziario dell'Istituto Superiore di Sanità* 2001;14(7/8):3-10.

ALLEGATO

Schede di arruolamento del Registro Nazionale delle Malattie Rare

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
REGISTRO NAZIONALE MALATTIE RARE



SCHEDA DI ARRUOLAMENTO
Arruolamento di singoli casi per la realizzazione del Registro Nazionale Malattie Rare
in collaborazione con i registri già operanti sul territorio

PARTE A

a₁) DATA DI COMPILAZIONE

COMPILATORE

a₂) COGNOME a₃) NOME

a₄) TELEFONO a₅) FAX a₆) E-MAIL

a₇) ENTE:

a₈) DIVISIONE o REPARTO o U.O.

a₉) INDIRIZZO a₁₀) CAP [] [] [] [] a₁₁) CITTA'

DATI PAZIENTE	a ₁₂) [] [] (prime due lettere del Cognome) a ₁₃) [] [] (prime due lettere del Nome)
	a ₁₄) SESSO [] (M/F) a ₁₅) ANNO DI NASCITA [] [] [] []
	a ₁₆) COMUNE DI NASCITA a ₁₇) PROV. [] [] a ₁₈) STATO
	a ₁₉) COMUNE di RESIDENZA a ₂₀) PROV. [] [] a ₂₁) CAP [] [] [] []
	a ₂₂) SCOLARITA' a ₂₃) PROFESSIONE
	SE IL PAZIENTE HA MENO DI 25 ANNI:
	a ₂₄) SCOLARITA' PATERNA a ₂₅) PROFESSIONE PATERNA
	a ₂₆) SCOLARITA' MATERNA a ₂₇) PROFESSIONE MATERNA

La raccolta ed il trattamento dei dati saranno effettuati secondo la normativa vigente (Legge 675/96 e successive integrazioni)

ISTITUTO SUPERIORE DI SANITA'
REGISTRO NAZIONALE MALATTIE RARE



SCHEDA DI ARRUOLAMENTO
Arruolamento di singoli casi per la realizzazione del Registro Nazionale Malattie Rare
in collaborazione con i registri già operanti sul territorio

PARTE B

b₂₀) CODICE SCHEDA MR

b₂₁) NOME DELLA "MALATTIA RARA"

DEFINIZIONE DI CASO (Indicare i criteri clinici e/o strumentali e/o di laboratorio
che sono utilizzati nella sua struttura per formulare la diagnosi della patologia descritta)

b₂₂) Criteri clinici :

b₂₃) Criteri strumentali :

b₂₄) Criteri di laboratorio :

Avvertenza: si rammenta che nella PARTE B della scheda non è consentito riportare alcun elemento identificativo del paziente.
La raccolta e il trattamento dei dati saranno effettuati secondo la normativa vigente (Legge 675/96 e successive integrazioni)

Responsabile del Registro Nazionale Malattie Rare
Dott.ssa Domenica Taruscio
Istituto Superiore di Sanità, Viale Regina Elena 299, 00161 Roma.
Tel 06-49902805, Fax 06-49387140; e-mail taruscio@iss.it

MALFORMAZIONI CONGENITE: RISULTATI DELLA COLLABORAZIONE TRA REGISTRO NAZIONALE MALATTIE RARE E REGISTRI DEI DIFETTI CONGENITI

Fabrizio Bianchi, Anna Pierini

*Reparto di Epidemiologia e Ricerca sui Servizi Sanitari, Istituto di Fisiologia Clinica del CNR, Pisa;
Registro Toscano Difetti Congeniti*

Per molte anomalie congenite, specie se rare, le conoscenze epidemiologiche (incidenza e prevalenza) sono spesso tutt'oggi insufficienti, soprattutto in "termini di robustezza" dei dati su cui sono basate e di rappresentatività di popolazione, o sono comunque riferite a dati non aggiornati, poco utili a fare previsioni e programmazioni. In questo tipo di fenomeni la disponibilità di dati aggiornati assume grande importanza, in considerazione dei rapidi e rilevanti mutamenti nella diagnostica, in particolare prenatale, che hanno prodotto considerevoli cambiamenti sull'impatto della diagnosi prenatale e del ricorso all'interruzione e quindi sulla quota di eventi osservati alla nascita, oltre che nel trattamento e nella gestione dei pazienti.

Lo scopo principale del presente rapporto è quello di fornire tassi di prevalenza nei nati e nelle interruzioni di gravidanza per anomalie rare, basati su un numero rilevante di eventi sorvegliati in un periodo di tempo sufficientemente lungo e recente, in modo da offrire indicatori stabili e aggiornati, utili, se non indispensabili, sia per la programmazione e gestione della salute sia come basamento informativo per la ricerca scientifica.

È stato ritenuto importante impiegare un modello di analisi statistiche dei dati, indirizzato alla descrizione della distribuzione e alla verifica della omogeneità nel tempo, nello spazio (ambiti regionali) e dell'interazione spazio-tempo, in modo da distinguere le condizioni omogenee da quelle eterogenee e da formulare ipotesi interpretative o investigative per l'approfondimento sulle differenze emerse.

Le analisi statistiche utilizzano i dati dei Registri Difetti Congeniti (RDC) italiani, relativi a 44 Malformazioni Congenite Rare (MCR) rilevate nei nati e nelle Interruzioni Volontarie di Gravidanza a seguito di diagnosi prenatale di MCR (IVG^a) nel periodo 1992-1999, su un totale di 1.440.712 nati sorvegliati.

Sono state analizzate:

1. le differenze tra Registri, tra anni e l'interazione Registri-anni mediante modelli lineari generalizzati, con distribuzione poissoniana della variabile dipendente, e testate mediante Statistica Rapporto di Verosimiglianza (SRV);
2. le evoluzioni temporali della prevalenza delle MCR tramite test chiquadrato della linearità e del trend;
3. le eterogeneità spaziali entro Registro mediante la "mappatura" dei rischi relativi delle MCR effettuata utilizzando il rapporto standardizzato di morbosità (*Standardized Mortality Ratio*, SMR) e il modello bayesiano gerarchico di convoluzione gaussiana che, a differenza del SMR, tiene conto dell'informazione relativa alla distribuzione nello spazio del fenomeno e fornisce stime dei rischi relativi più stabili. I metodi sono stati applicati ai soli dati del Registro Toscano Difetti Congeniti (RTDC) per mostrare, semplicemente, le potenzialità del modello bayesiano gerarchico di convoluzione gaussiana.

Le analisi statistiche sono state effettuate con STATA 7, Winbugs 1.3 e SAS 6.12.

I risultati ottenuti mediante l'analisi di Poisson per tassi e SRV (Statistica Rapporto di Verosimiglianza) fanno emergere le seguenti considerazioni:

- per alcune MCR oggetto di studio sono emerse differenze significative tra le prevalenze osservate dai vari Registri riconducibili sostanzialmente alle seguenti cause:
 - diversità di codifica delle MCR nei Registri,
 - diversa capacità diagnostica pre- e neonatale dei Registri,
 - presenza di centri specializzati in casi sindromici nel territorio di sorveglianza di alcuni Registri;
- alcune MCR passano da una condizione di eterogeneità (nell'analisi dei soli nati) ad una condizione di omogeneità (nell'analisi dei casi totali); quindi con l'aggiunta delle IVG^a alcune eterogeneità scompaiono. Da ciò si evidenzia l'importanza della rilevazione delle IVG^a e di conseguenza delle diagnosi prenatali;
- alcune MCR presentano prevalenze nei nati e totali omogenee tra i Registri; per queste sono di notevole importanza le prevalenze calcolate sul totale dei Registri perché sono utilizzabili come stime della prevalenza a livello nazionale.

I risultati dell'analisi del trend, oltre a fornire spunti per l'effettuazione di approfondimenti in alcuni Registri (dove sono risultati trend positivi o negativi), mettono in risalto l'importanza della rilevazione delle IVG^a per la conoscenza di una quota di casistica che, per talune MCR, si presenta assolutamente necessaria a fini di sorveglianza epidemiologica; infatti l'inclusione delle IVG^a stabilizza l'andamento temporale per diverse MCR, sia analizzando i singoli Registri che il totale dei Registri.

L'analisi spaziale mediante modello bayesiano gerarchico di convoluzione gaussiana su base comunale nella Regione Toscana è stata effettuata a scopo esplorativo al fine di evidenziare e valutare:

- vantaggi del modello bayesiano rispetto a quello classico (SMR) che sono dovuti sostanzialmente alla stabilità delle stime dei rischi relativi;
- andamenti caratteristici ovvero aggregazioni di Comuni con tratto particolare (pattern);
- contributo differenziale della diagnosi prenatale seguita da IVG^a: in tutte le MCR oggetto di studio, l'aggiunta delle IVG^a aumenta l'eterogeneità spaziale e fa emergere alcune aree comunali con rischi relativi particolarmente superiori all'unità. Questi eccessi, nella maggior parte dei casi, sono ascrivibili ad una elevata copertura della registrazione delle IVG^a o ad una non esaustiva registrazione delle IVG^a in alcune aree comunali.

I risultati del presente studio possono essere di utilità per:

- fornire un valido quadro informativo sull'epidemiologia delle MCR;
- distinguere le MCR con tassi di prevalenza omogenei, osservati dai vari RDC (i tassi di prevalenza calcolati sul totale dei Registri di queste MCR sono utilizzabili come stime del tasso di prevalenza a livello nazionale), da quelle con tassi di prevalenza eterogenei tra i diversi RDC, e formulare ipotesi interpretative o investigative per l'approfondimento sulle eterogeneità ottenute;
- valutare il ruolo delle sottoregistrazioni delle IVG^a nelle differenti aree comunali e quindi enfatizzare l'importanza della registrazione delle IVG per incrementare la completezza del RDC e permettere una effettiva sorveglianza epidemiologica;
- confermare i vantaggi del modello bayesiano gerarchico di convoluzione gaussiana rispetto al SMR che sono dovuti sostanzialmente alla stabilità delle stime dei rischi relativi;
- proporre un modello di analisi da impiegare a vasto raggio, in settori per i quali si riscontrino le caratteristiche e le finalità del presente studio;
- svolgere approfondimenti su possibili interazioni salute-ambiente.

Bibliografia

- A EUROCAT Working Group. *Eurocat report 7: 15 years of surveillance of congenital anomalies in Europe 1980-1994*. Brussels: Scientific Institute of Public Health- Louis Pasteur; 1997.
- Agresti A. *An introduction to categorical data analysis*. New York: J. Wiley & Sons; 1995.
- Armitage P. Test for linear trend in proportions and frequencies. *Biometrics* 1955;11:375-86.
- Armitage P, Berry G. *Metodi statistici per la ricerca in medicina*. 1^a edizione italiana a cura di Bolzan M. Milano: McGraw-Hill; 1996.
- Azzalini A. *Inferenza statistica: un'introduzione basata sul concetto di verosimiglianza*. Berlino: Springer-Verlag; 1992.
- Benzecri JP, et al. *Analyse des correspondances : exposé élémentaire in pratique de l'analyse des données*. Paris: Dunod; 1980.
- Bernardinelli L, Clayton DG, Monopoli C. Bayesian estimate of disease maps: how important are priors? *Statistics in Medicine* 1995;14:2411-31.
- Bernardinelli L, Montomoli C, Ghislandi M, Pascutto C. Analisi Bayesiana di studi ecologici. *Epidemiologia e prevenzione* 1995;19:175-89.
- Besag J, York J, Mollié A. Bayesian image restoration, with application in spatial statistics. *Annals of the Institute of Statistical Mathematics* 1991;48(1):1-59.
- Bianchi F, Mastroiacovo P. Epidemiologia descrittiva dei difetti congeniti alla nascita in Italia. *Epidemiologia e prevenzione* 1991;48-49:94-103.
- Breslow N, Day N. *Statistical methods in cancer research. Vol. II. The design and analysis of cohort study*. Lyon: IARC; 1987.
- Breslow N. Extra-Poisson variation in Log-Linear Models. *Applied Statistics* 1984;33:38-44.
- Breslow N, Clayton DG. Approximate inference in generalized linear mixed model. *Journal of the American Statistical Association* 1993;88:9-25.
- Chatfield C. *The analysis of time series: an introduction*. Fifth edition. Suffolk: St Edmundsbury Press Ltd; 1996.
- Clausen SE. Applied correspondence analysis: an introduction. Sage university papers; *Quantitative applications in the social sciences* 1998;121.
- Cressie N. *Statistics for spatial data*. New York: Wiley; 1991.
- Dobson AJ. *An introduction to generalized linear model*. London: Chapman & Hall; 1991.
- Edwards JH. The recognition and estimation of cyclic trends. *Annals of Human Genetics* 1961;25:83-86.
- Flynt JW, Hay S. International Clearinghouse for Birth Defect Monitoring System. *Contributions to Epidemiology and Biostatistics* 1979;1:44-52.
- Grassi M. *Statistica in medicina: un approccio basato sulla verosimiglianza*. Milano: McGraw-Hill; 1994.
- Geman S, Geman D. Stochastic relaxation, Gibbs distributions and the Bayesian restoration of images. *I.E.E.E. Trans. pattern analysis machine intelligence* 1984;6:721-741.
- Gilks WR, Richardson S. *Markov Chain Monte Carlo in Practice*. London: Chapman & Hall; 1996.
- Gilks WR, Wild P. Adaptive rejection sampling for Gibbs Sampling. *Applied Statistics* 1992;41:337-48.
- Gruppo di Lavoro per le Malformazioni Congenite. *Documento per un sistema nazionale di registrazione dei difetti congeniti*. Ministero della Sanità; 1998.
- Haining R. *Spatial data analysis in the social and environmental sciences*. Cambridge University Press; 1990.

- Hornbeck RW. *Numerical methods*. New York: Quantum Publishers, Inc.; 1975.
- International Clearinghouse for Birth Defect Monitoring System. *Annual report 2000 with data 1998*. Roma: International Centre of Birth Defect; 2000.
- Istituto Centrale di Statistica. *Classificazioni delle malattie traumatiche e cause di morte, IX revisione*. Roma: Istituto Centrale di Statistica; 1984.
- Lawson A, Biggeri A, Böhning D, Lesaffre E, Viel JF, Bertolini R. *Disease mapping and risk assessment for public health*. New York: Wiley J. & Sons, LTD.; 1999.
- Lawson AB. *Statistical methods in spatial epidemiology*. Chichester: Wiley, J. & Sons, LTD.; 2001
- Jekel JF, Elmore JG, Katz LD. *Epidemiologia, Biostatistica e Medicina preventiva*. Napoli: EdiSES; 1999.
- Mastroiacovo P, et al. *Difetti congeniti e sindromi malformative*. Milano: McGraw-Hill; 1990.
- McCullagh P, Nelder JA. *Generalized Linear Model*. 2nd edn. London: Chapman & Hall; 1989.
- Meli P, Spagnolo A, Gruppo collaborativo dei registri italiani sulle malformazioni congenite. *Sorveglianza delle malformazioni congenite in Italia (1986-90). Revisione e standardizzazione delle metodologie di rilevamento e risultati dell'esperienza collaborativa con i Registri italiani*. Roma: Istituto Superiore di Sanità, Laboratorio di Epidemiologia e Biostatistica; 1993. p. 1-81.
- Mollié A. Bayesian mapping of disease. In: Gilks WR, Richardson S (Ed.). *Markov Chain Monte Carlo in Practice*. London: Chapman & Hall; 1996.
- Registro Toscano Difetti Congeniti. *Manuale d'istruzioni*. Firenze: Dipartimento Sicurezza Sociale, Regione Toscana; 1992.
- Pace LE, Salvan S. *Introduzione alla statistica - II. Inferenza, verosimiglianza, modelli*. Padova: Cedam; 2001.
- Previtera A. *Elementi di biostatistica*. Vol. I. Sarzana: Santini; 1976.
- Ripley BD. *Spatial statistics*. New York: Wiley & Sons; 1981.
- SAS Institute Inc. *SAS/GRAPH User's Guide. Version 6*. Cary, NC: SAS Institute; 1990
- Silverman BW. *Density estimation for statistics and data analysis*. London: Chapman & Hall; 1986.
- Snedecor GW, Cochran WG. *Statistical methods*. Eighth Edition. Iowa State University Press; 1989.
- Smans M, Estève J. Practical approaches to disease mapping. In: Elliot P (Ed.). *Geographical and environmental epidemiology*. Oxford: Oxford University press; 1996.
- Spiegelhalter DJ, Thomas A, Best NG, Gilks WR. *BUGS: Bayesian inference Using Gibbs Sampling, Version 0.5 (version ii)*; 1996. Disponibile all'indirizzo: <http://www.mrc-bsu.cam.ac.uk/bugs/documentation/contents.shtml>; ultima consultazione 22/03/02.
- Sribney W, STATA Corporation. *A comparison of different tests for trend. STATA FAQ Statistics*. Haward; 1996. Disponibile all'indirizzo: www.stata.com/support/faqs/stat/trend.html.
- STATA Corporation. *STATA Reference Manual Release 7. Volume 1-5*. College Station, Texas: Stata press; 2001.
- STATA Corporation. *STATA Graphics Manual Release 7*. College Station, Texas: Stata press; 2001.
- Tapia RA, Thompson R. *Nonparametric probability density estimation*. Baltimore: Johns Hopkins University Press; 1978.
- The British Paediatric Association. *BPACD: British Paediatric Association Classification of Diseases*. London: The British Paediatric Association; 1979.
- Upton GJG, Fingleton B. *Spatial data analysis by example*. New York: Wiley & Sons; 1985

- Walter SD. The ecologic method in the study of environmental health. I. Overview of the methods. *Environmental Health Perspectives* 1991;94:61-5.
- Weatherall JAC. *EUROCAT Report 1: Registration of congenital abnormalities and multiple births*. Brussels: Catholic University of Louvain, Department of Epidemiology; 1981.
- Weatherall JAC. *The beginning of EUROCAT*. Brussels: Catholic University of Louvain, Department of Epidemiology; 1985

Attività clinica

PROTOCOLLI PER LE MALATTIE RARE: LE IMMUNODEFICIENZE PRIMITIVE

Alessandro Plebani

Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Brescia, Brescia

Con il termine di immunodeficienze primitive intendiamo le malattie congenite del sistema immune che predispongono i pazienti affetti ad una aumentata suscettibilità alle infezioni, anche mortali. La tipologia delle infezioni (Tabella 1), la loro gravità, l'età di esordio dei sintomi, e i fattori prognostici variano a seconda del tipo di immunodeficienza. La prevalenza delle immunodeficienze primitive è inferiore, se escludiamo il difetto selettivo di IgA, a 5 casi per 10.000 abitanti e pertanto queste malattie vengono considerate a tutti gli effetti delle malattie rare.

Tabella 1. Immunodeficienze primitive: tipologia delle infezioni in funzione del difetto immunologico

Difetto immunologico	Tipologia di infezione	Esempio di infezione
Linfociti B	Infezioni ricorrenti da patogeni capsulati	Otiti, bronchiti, broncopolmoniti, ecc.
Linfociti T	Infezioni virali e da patogeni opportunisti	Diarrea cronica, polmoniti interstiziali
Granulociti	Infezioni batteriche e fungine	Ascessi cutanei, linfadeniti, polmoniti, ecc.
Fattori del complemento	Infezioni da patogeni capsulati	Sepsi, meningiti, ecc.

Le varie forme di immunodeficienza possono essere classificate sulla base del difetto cellulare coinvolto. Nel caso il difetto comporti un blocco nella differenziazione dei linfociti B si parlerà di immunodeficienze a prevalente difetto dell'immunità umorale, mentre nel caso il difetto comporti un blocco nella differenziazione dei linfociti T e B oppure un difetto numerico e/o funzionale anche dei soli linfociti T si parlerà di immunodeficienze combinate (CID o SCID *Combined ImmunoDeficiencies* o *Severe Combined Immunodeficiencies*). Anche difetti funzionali dei granulociti o difettiva sintesi di alcuni fattori del complemento danno luogo a condizioni di immunodeficienza congenita (Tabella 2). In questi ultimi anni i progressi della biologia cellulare e molecolare hanno consentito di definire i meccanismi molecolari e in molti casi di identificare il gene difettivo responsabile di queste malattie (Tabella 2).

Come per molte malattie rare, i fattori prognostici sono fortemente dipendenti da una diagnosi precoce e da un tempestivo e corretto approccio terapeutico. Purtroppo, la rarità di queste malattie e inevitabilmente la scarsa conoscenza delle stesse da parte della maggioranza dei medici, nonché la mancanza di protocolli diagnostici e terapeutici omogenei ha contribuito in passato ad una disomogenea e spesso inadeguata gestione clinica di questi pazienti, con conseguente complicanze a breve e lungo termine, che, quando non hanno portato a morte, hanno inciso significativamente sulla qualità di vita dei pazienti.

Tabella 2. Classificazione semplificata delle varie forme di immunodeficienza

Tipo	Ereditarietà	Gene difettivo
Immunodeficienze a prevalente difetto dell'immunità umorale		
Ipo/agammaglobulinemia X-recessiva (Malattia di Bruton o XLA) con assenza di linfociti B	XR	BTK
Ipo/agammagammaglobulinemia autosomica recessiva con assenza di linfociti B	AR	m, I5, Iga, BLNK
Ipogammaglobulinemia Comune Variabile con presenza di linfociti B	?	?
Immunodeficienza con Iper-IgM (HIGM)		
*HIGM1	XR	CD40 L
HIGM2	AR	AID
*HIGM3	AR	CD40
HIGM	XR	NEMO
Immunodeficienze combinate (CID o SCID)		
SCID T- B-	AR	RAG1/RAG2, Artemis
SCID T- B+	XR	IL-2R γ
	AR	JAK 3
	AR	IL7 Ra
SCID T+ B+		
difettiva espressione antigeni HLA classe II	AR	RFX-5
	AR	RFX-AP
	AR	RFX-ANK
	AR	CIITA
difettiva attivazione dei linfociti	AR	ZAP 70
	AR	P56lck
Immunodeficienze da difetto funzionale dei granulociti		
Malattia Granulomatosa Cronica		
alterazione gp91 phox	XR	CYBB
alterazione p22 phox	AR	CYBA
alterazione p47 phox	AR	NCF1
alterazione p67 phox	AR	NCF2
Difetto delle proteine di adesione (LAD)		
LAD1	AR	CD18
LAD2	AR	Fucosilazione dei carboidrati

*attualmente si tende a considerare queste forme di immunodeficienza come delle forme di tipo combinato.

Partendo da queste considerazioni e rifacendosi a precedenti esperienze dei protocolli nazionali per le malattie oncoematologiche in età pediatrica, si è costituito, all'interno dell'Associazione Italiana di Ematologia e Oncologia Pediatrica (AIEOP), un comitato scientifico strategico coordinato dal prof. Alberto Ugazio dell'Ospedale Bambin Gesù di Roma, con l'intento di sviluppare dei protocolli multidisciplinari di diagnosi e terapia per le varie forme di immunodeficienza da applicare su tutto il territorio nazionale. Questi protocolli sono stati elaborati da un gruppo ristretto di specialisti sulla base di Consensus internazionali e poi sono stati discussi con i responsabili dei vari centri ospedalieri distribuiti sul territorio nazionale dove afferiscono pazienti con queste malattie. In ogni protocollo, ad una descrizione delle

caratteristiche della malattia (definizione della malattia in oggetto, sintomi di esordio che devono orientare verso il sospetto diagnostico, i meccanismi patogenetici), segue una parte dedicata agli aspetti diagnostici in cui vengono illustrate e commentate le varie metodiche di laboratorio che consentono di porre una diagnosi certa di malattia. Per le forme di immunodeficienza per le quali è stato identificato il gene responsabile, la diagnosi di certezza si pone con il sequenziamento del gene che causa la malattia. Considerato il costo e la complessità, queste analisi genetico-molecolari non possono venire eseguite che presso pochi laboratori specialistici che operano sul territorio nazionale e che sono stati identificati sulla base della riconosciuta competenza ed esperienza. Presso questi laboratori è possibile inviare un campione di sangue per le analisi molecolari del caso e le risposte verranno inviate al centro richiedente in tempo reale. Nell'ultima parte del protocollo viene trattato in modo esteso l'aspetto terapeutico. La condivisione di un protocollo terapeutico elaborato sulla base di indicazioni e direttive internazionali, consente ai pazienti di venire trattati secondo i migliori schemi terapeutici anche presso il proprio ospedale evitando frequenti e faticosi spostamenti presso centri specialistici con disagi sia di tipo umano che economico.

L'adesione al protocollo comporta la compilazione da parte del medico che segue il paziente di una scheda in cui vengono riportati i dati anagrafici, clinici e immunologici del paziente dalla diagnosi all'arruolamento; una scheda analoga viene compilata annualmente dall'arruolamento per tutto il tempo del follow-up. La raccolta di questi dati e la loro elaborazione consentono una migliore definizione della storia naturale di queste malattie; inoltre, la conoscenza delle complicanze a medio e lungo termine aiuta nella elaborazione e nella proposta di schemi terapeutici sempre più efficaci.

Ad ogni centro partecipante viene fornita una password tramite la quale è possibile inserire i dati dei pazienti via Internet presso la banca dati del CINECA utilizzando un programma dati elaborato dal Prof. Pession e dal Dr. Rondelli. Ogni centro, pertanto, può avere l'accesso ai soli dati dei propri pazienti mentre il coordinatore e il responsabile del protocollo possono avere l'accesso a tutti i dati. Il programma è formulato in modo da rispettare la privacy del paziente.

Al momento attuale sono stati attivati i protocolli per l'agammaglobulinemia X-recessiva (XLA), per la malattia granulomatosa cronica (CGD) e per la ipogammaglobulinemia comune variabile (CVID). Per ognuno di questi protocolli è stato identificato un medico responsabile e precisamente per la XLA è responsabile il Prof. A. Plebani della Clinica Pediatrica di Brescia, per il CGD è responsabile il Prof. D. De Mattia della Clinica Pediatrica di Bari, e della CVID è responsabile la dott.ssa I. Quinti del Policlinico Umberto I di Roma.

Il protocollo sulla XLA (immunodeficienza caratterizzata dall'incapacità dei pazienti affetti di produrre anticorpi, da qui la condizione di assenza di immunoglobuline nel siero, per un arresto nella differenziazione dei linfociti B. Questa forma di immunodeficienza è dovuta a mutazioni del gene BTK che codifica per una proteina essenziale per la differenziazione dei linfociti B) è stato il primo a partire e i risultati ottenuti sono lusinghieri. Considerando le regioni di residenza dei pazienti si può dire che vi sia stata l'adesione di tutte le regioni italiane con un coinvolgimento di 53 centri sul territorio nazionale. Sono stati arruolati 116 pazienti (di cui 3 non residenti in Italia) che rispondevano ai criteri di inclusione (Figura 1). L'analisi di mutazione del gene BTK ha consentito di porre diagnosi certa di XLA in 92 dei 102 pazienti finora analizzati. Questo significa che circa il 10% dei pazienti sono affetti da forme autosomiche recessive di agammaglobulinemia. Distinguere tra le forme X-recessive dalle autosomiche recessive è importante per potere offrire alle famiglie un corretto consiglio genetico e per meglio definire i fattori prognostici di queste due forme.

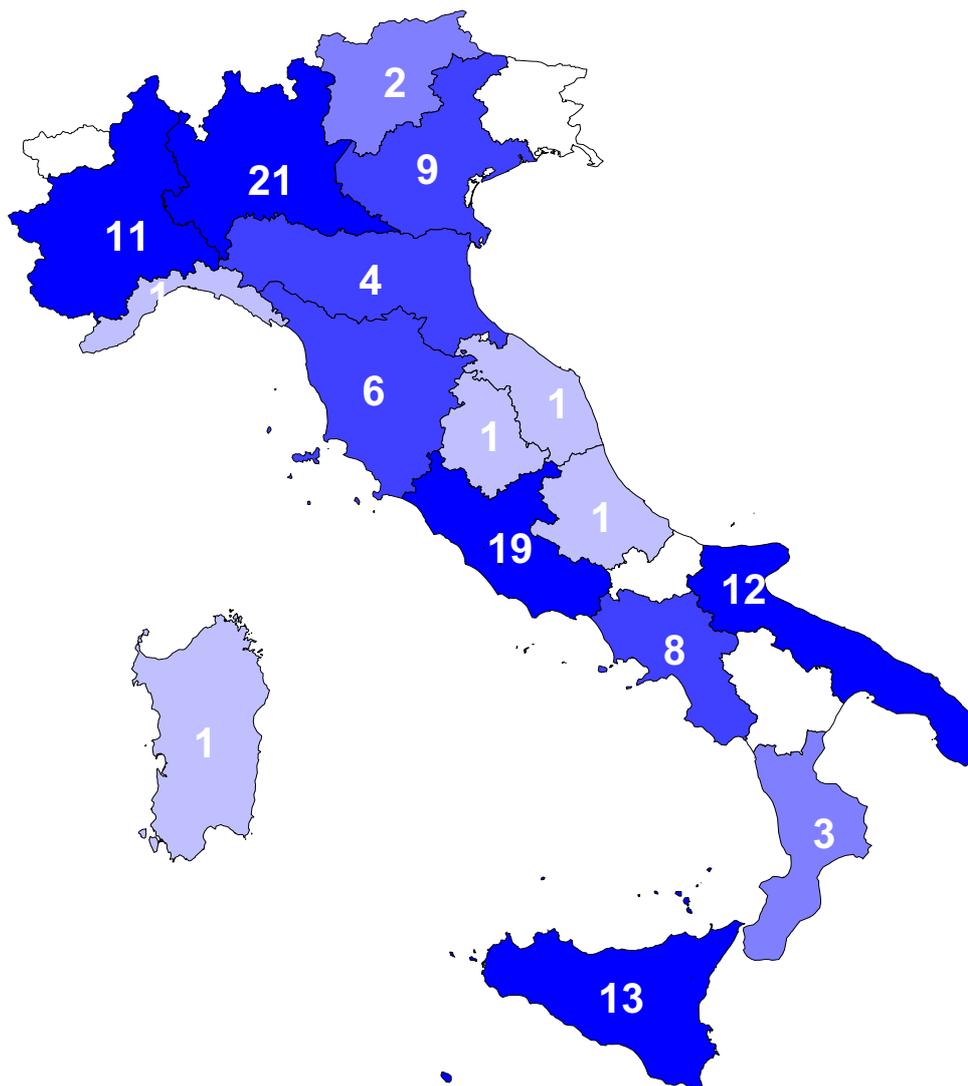


Figura 1. Protocollo AIEOP della XLA. Distribuzione dei casi per regione di residenza

L'analisi dei dati anagrafici e clinici ha messo in evidenza una maggiore attenzione da parte dei medici per queste malattie che ha consentito di formulare delle diagnosi più precoci rispetto alle decadi precedenti. Questo si può dedurre dalla Figura 2 che mostra la correlazione tra l'età alla diagnosi e la data di nascita. Tuttavia va rilevato che ancora piuttosto ampio è l'intervallo di tempo che intercorre tra l'età di esordio dei sintomi e l'età alla diagnosi. L'importanza di ridurre ulteriormente questo intervallo è suggerita anche dall'osservazione che quanto più tardiva è la diagnosi tanto più elevato è il rischio che questi pazienti presentino già alla diagnosi una broncopneumopatia cronica.

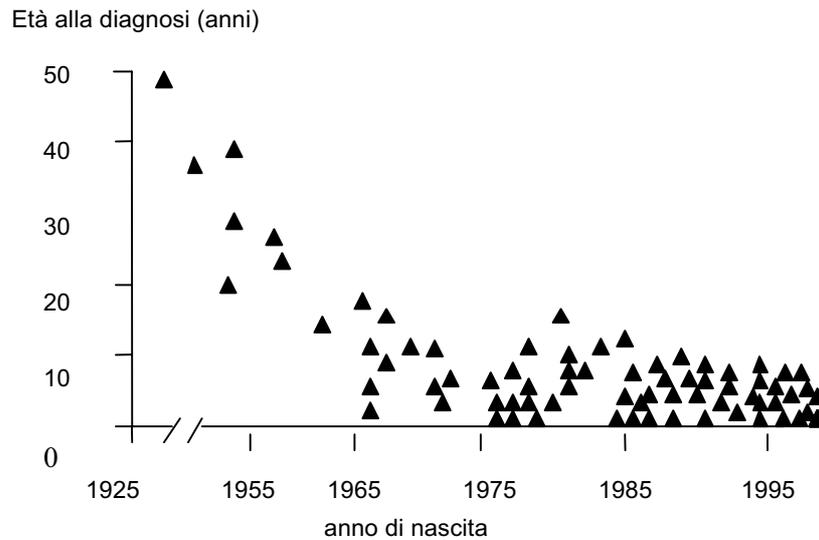


Figura 2. Protocollo AIEOP della XLA. Relazione tra età alla diagnosi e anno di nascita

Una diagnosi precoce è indispensabile per potere iniziare precocemente la terapia sostitutiva con immunoglobuline per via endovenosa, che è la terapia di elezione. Al fine di garantire a tutti i pazienti un controllo ottimale degli episodi infettivi è importante che la terapia sostitutiva venga eseguita ad un dosaggio che consenta di raggiungere livelli sierici di IgG considerati protettivi (500 mg/dl). È interessante rilevare che mentre all'arruolamento il 20% dei pazienti presentavano livelli di IgG preinfusione inferiori a questo livello soglia, durante il follow-up tutti i pazienti arruolati si sono portati a livelli protettivi di IgG. Questo dimostra che tutti i centri hanno adottato le indicazioni riportate nel protocollo e costituisce una garanzia per i pazienti che possono così venire trattati in modo adeguato anche presso il proprio ospedale. Tuttavia, l'analisi dei dati di follow-up di questi pazienti, ci ha permesso di confermare che le immunoglobuline da sole non bastano per ridurre gli episodi infettivi soprattutto delle vie aeree, la cui ricorrenza, a dispetto di una adeguata terapia sostitutiva, è la causa dell'insorgenza di una broncopneumopatia cronica che può essere considerata la complicanza tardiva più severa in questi pazienti. Pertanto è necessario associare alla terapia sostitutiva una terapia di supporto (fisioterapia, profilassi antibiotica continuativa o a cicli, ecc.). Al riguardo sono in fase di preparazione alcuni protocolli/linee guida per una più razionale applicazione delle misure terapeutiche di supporto.

Il protocollo del CGD è iniziato da 2 anni mentre quello della CVID ha preso l'avvio quest'anno. L'impostazione dei protocolli e le modalità di raccolta dati per queste altre due forme di immunodeficienza sono sovrapponibili a quelle della XLA. L'applicazione di un protocollo già collaudato a queste altre due forme di immunodeficienza ha consentito di ridurre la gravosità del lavoro e di abbreviare il tempo di raccolta dati, nonché di facilitare la proposta di protocolli per altre forme di immunodeficienza. La raccolta dati e la loro elaborazione per il CGD e la CVID sono in corso.

La validità di questi protocolli è confermata dalla richiesta del Comitato della *European Society for Immunodeficiency Diseases* di verificare la possibilità di applicare i nostri protocolli anche a livello europeo.

PATOLOGIE MALFORMATIVE DEL POLMONE

Corrado Moretti

Clinica Pediatrica, Università degli Studi di Roma "La Sapienza", Roma

La conoscenza delle varie fasi dello sviluppo polmonare analizzate nel primo capitolo ci permette di comprendere la fisiopatologia delle differenti malformazioni congenite di quest'organo, molte delle quali, grazie al notevole sviluppo dell'ultrasonografia prenatale, possono essere diagnosticate già durante la vita fetale. Queste patologie possono manifestarsi clinicamente a qualsiasi età, sia con un grave distress nell'immediato periodo postnatale, sia come reperto casuale di un esame radiologico nelle età successive. La presenza di masse intratoraciche può rappresentare un rischio anche durante la vita fetale: la compressione dell'esofago, infatti, può determinare la comparsa di polidramnios e indurre un parto prematuro per la conseguente distensione dell'utero, mentre l'ostruzione della vena cava può essere alla base di un idrope con ascite e idrotorace. Dopo la nascita, la diagnosi differenziale tra le molteplici malformazioni congenite del polmone non è sempre agevole, e l'impiego della Tomografia Assiale Computerizzata (TAC) o della Risonanza Magnetica (RM), o dell'angiografia o dell'ultrasonografia con Doppler, possono essere d'aiuto.

Agenesia e aplasia polmonare

Sono stati descritti vari livelli di mancanza del tessuto polmonare; la severità del difetto è tanto più grave quanto più precoce è il momento in cui avviene l'arresto di sviluppo.

L'agenesia polmonare unilaterale è caratterizzata da una trachea che si continua con un solo bronco e dall'assenza della carena. Nell'aplasia polmonare, che è la variante più comune, sono presenti la carena e lo stampo dei bronchi, ma è assente il polmone distale. Da un punto di vista funzionale le due malformazioni sono sovrapponibili; l'unico polmone è di dimensioni maggiori del normale per un'iperplasia compensatoria e non per enfisema. Il quadro radiologico è caratterizzato da un'omogenea densità del lato interessato, da uno spostamento del mediastino e dalla deviazione della trachea. Più rare sono l'agenesia e l'aplasia lobare, che di solito interessano al contempo il lobo superiore e medio di destra.

È frequente l'associazione con altre malformazioni congenite cardiache, gastrointestinali, genitourinarie e dello scheletro. La prognosi dipende dal grado di coinvolgimento del tessuto polmonare e dalla gravità delle malformazioni associate.

Cisti polmonari congenite

Le cisti congenite polmonari rappresentano un anomalo sviluppo del sistema broncopolmonare; sono classificate in broncogene, alveolari o miste secondo la loro origine. Le cisti, singole o multiple, sono usualmente localizzate in un solo polmone e non si associano ad altre patologie di tipo cistico nell'organismo.

La patogenesi delle cisti broncogene va fatta risalire ad un'anomala gemmazione verificatasi a livello dell'albero tracheobronchiale, il cui sviluppo ha luogo durante le prime 16 settimane di

età gestazionale. La loro localizzazione dipende dall'epoca della comparsa: se la gemmazione irregolare è precoce la cisti si colloca nel mediastino, se più tardiva si sviluppa perifericamente localizzandosi nel parenchima polmonare.

La parete delle cisti broncogene è sottile, ed è tappezzata da un epitelio cilindrico colonnare che può contenere nel suo spessore cartilagine, ghiandole bronchiali, tessuto muscolare liscio e cellule nervose, ma non è mai presente tessuto alveolare poiché questa patologia ha origine prima della formazione della zona destinata allo scambio dei gas. Il contenuto della cisti può essere aereo, mucoso, sieroso o misto. Nelle cisti che originano molto precocemente si può rinvenire anche epitelio esofageo, e in tal caso sono difficilmente differenziabili dalle duplicazioni esofagee intramurali; considerando la comune origine embriologica, la prossimità anatomica e le similitudini istologiche, è verosimile che queste due patologie abbiano la stessa origine.

Le cisti broncogene mediastiniche sono le più comuni e sono generalmente singole, uniloculari, di forma sferica, e con un diametro variabile tra 2 e 10 cm; più frequentemente sono localizzate a destra e possono essere situate a livello della carena, della trachea, dell'ilo o in prossimità dell'esofago; raramente comunicano con l'albero bronchiale.

Le cisti broncogene polmonari sono localizzate soprattutto nei lobi inferiori, senza distinzione fra lato destro e sinistro, e al pari delle cisti mediastiniche sono raramente connesse con le vie aeree.

Le cisti congenite possono dare una sintomatologia respiratoria già nel periodo neonatale, ma più frequentemente si manifestano nell'infanzia poiché s'infettano, o per un occasionale controllo radiologico del torace. Le cisti broncogene possono dare sintomi secondari alla compressione della trachea o dei bronchi principali, quali tosse e *wheezing*, soprattutto durante il pianto; talvolta possono provocare un enfisema lobare.

Le cisti alveolari, in genere singole e multiloculari, di diametro superiore ad un centimetro e localizzate alla periferia di uno dei lobi inferiori, sono generalmente comunicanti con le vie aeree e possono manifestarsi clinicamente con un ingravescente distress in caso di distensione per l'instaurarsi di un meccanismo a valvola. Raramente possono essere causa di pneumotorace in epoca neonatale, evenienza che è più frequente nelle età successive. Le cisti alveolari, talvolta, possono anche risolversi spontaneamente, ma è necessario considerare il rischio di rottura e d'infezione. La terapia definitiva è la resezione chirurgica.

La diagnosi differenziale tra cisti alveolari e le cisti acquisite che complicano l'enfisema interstiziale o la BPD può essere difficile, ma in tal caso è la differente storia clinica a dirimere il dubbio. Al contrario, può essere particolarmente complessa la diagnosi differenziale tra una voluminosa cisti polmonare e un enfisema lobare, e in tal caso la TAC può essere d'aiuto.

Sequestro polmonare

Il termine di sequestro polmonare fu introdotto da Pryce nel 1946, prendendo suggerimento dal latino *sequestrare* che significa "separare", per definire una porzione di tessuto polmonare che non è né funzionante, né comunicante con l'albero bronchiale. Tale struttura, inoltre, è fornita di una propria vascolarizzazione che usualmente origina dall'aorta toracica o addominale, ma che può anche nascere da un altro ramo arterioso. La patogenesi è presumibilmente riferibile ad un'anomalia di sviluppo della primitiva gemma polmonare, con formazione di una struttura accessoria che ha conservato l'originale rifornimento arterioso e che può accrescersi all'interno della cavità pleurica in stretto contatto con il polmone normale (sequestro intralobare), oppure restarne separata ed essere avvolta da una propria pleura (sequestro extralobare).

Il sequestro intralobare è il più frequente, ed è localizzato di solito nei lobi inferiori. Può accadere che il lobo sequestrato e quello normale abbiano un anomalo drenaggio venoso che va a confluire nella vena cava inferiore, peculiarità che alla radiografia del torace appare come un'ombra falciforme localizzata nella parte infero-mediale del polmone destro; da questa caratteristica deriva il nome di tale condizione, definita sindrome della scimitarra.

Il sequestro extralobare è localizzato quasi costantemente a destra, tra il diaframma e il lobo inferiore, esternamente alla pleura viscerale. In ambedue i casi, il tessuto patologico è cistico, non aerato e poco organizzato, di tipo alveolare, bronchiale, cartilagineo ed epiteliale.

Solo una piccola percentuale di bambini con un sequestro intralobare ha una sintomatologia caratterizzata da un distress respiratorio nel periodo neonatale. Più frequentemente il quadro clinico è caratterizzato da infezioni polmonari ricorrenti, secondarie alla presenza di una fistola tra il sequestro e le vie aeree. Al contrario, il sequestro extralobare dà raramente sintomi respiratori, ma è frequentemente associato ad altre malformazioni congenite, e in particolare all'ernia diaframmatica.

Nel sospetto di un sequestro polmonare è possibile avere informazioni precise sulla sua localizzazione mediante la TAC o la RM, ma il test patognomonico è l'arteriografia o l'ultrasonografia Doppler. Quest'ultima permette anche la diagnosi prenatale, quando si visualizza un flusso da un'arteria sistemica verso il polmone, caratteristica patognomonica di questa patologia. La terapia è chirurgica.

Malformazione adenomatoide cistica

Questa patologia è caratterizzata da una proliferazione adenomatoide dei bronchioli terminali con formazione di masse solide, cistiche o miste all'interno del parenchima polmonare, senza che avvenga la successiva differenziazione alveolare; la patogenesi, alla cui base vi sono fattori che agiscono nelle fasi precoci del periodo pseudoghiandolare, è sconosciuta. Questa lesione è di solito unilaterale, senza prevalenza destra o sinistra, e colpisce un singolo lobo; la vascolarizzazione ha origine dalla circolazione bronchiale, ma raramente può dipendere da un vaso anomalo sistemico. Le cisti, che comunicano sia tra loro sia con l'albero bronchiale, contengono nello spessore della parete una notevole quantità di tessuto elastico, ma sono prive di tessuto cartilagineo di supporto a livello della connessione con i bronchi. Queste caratteristiche strutturali facilitano l'instaurarsi di un meccanismo a valvola, con iperespansione polmonare, compressione del polmone normale e comparsa di un grave distress. Il lobo polmonare colpito presenta spesso anche un'alterata clearance mucociliare, causa di ricorrenti infezioni polmonari. Questo rischio, associato a quello di una degenerazione maligna del tessuto adenomatoide in rhabdomyosarcoma, va considerato nella decisione se trattare o meno chirurgicamente un paziente asintomatico. La malformazione adenomatoide cistica (CCAM) è stata classificata da Stocker in base al quadro clinico e istologico in tre tipi:

- I tipo (50%)
cisti multiple e grandi, con un diametro superiore a 2 cm, o singola grande cisti circondata da numerose cisti più piccole. L'epitelio che tappezza le cisti è colonnare ciliato o colonnare pseudostratificato; sono presenti anche cellule secernenti muco;
- II tipo (42%)
cisti multiple e di piccole dimensioni, la maggior parte inferiori ad 1 cm, tappezzate da epitelio cuboidale e colonnare senza la presenza di cellule secernenti muco. Questo tipo di lesione è frequentemente associato (26% circa dei casi) ad altre malformazioni congenite;

- III tipo (3%)
malformazione formata da numerose piccole cisti dal diametro inferiore a 0,5 cm con un epitelio cuboidale e con pareti il più delle volte collabite, così da costituire nel suo complesso una massa solida. Il quadro istologico è simile a quello del periodo pseudoghiandolare dello sviluppo fetale. È la forma più rara e a prognosi peggiore, con notevole incidenza di prematurità e di idrope fetale per compressione cardiaca e ostruzione venocavale.

Il quadro radiologico e la sintomatologia clinica della malformazione adenomatoide cistica possono essere facilmente confusi con quelli dell'ernia diaframmatica: il posizionamento di un sondino nasogastrico e l'istillazione d'alcuni ml di mezzo di contrasto può essere utile per la localizzazione dello stomaco, e facilitare così la diagnosi differenziale.

Può accadere che la ventilazione di questi pazienti determini una progressiva distensione delle cisti, con spostamento del mediastino, compressione del polmone sano, e intrattabile insufficienza respiratoria. È necessario considerare in tal caso la ventilazione selettiva del polmone sano, che permette di risolvere l'insufficienza respiratoria e consente al neonato di arrivare ben equilibrato all'intervento chirurgico di lobectomia.

Enfisema lobare congenito

È una rara causa d'insufficienza respiratoria in epoca neonatale, ma nella maggior parte dei pazienti la diagnosi è fatta prima dei sei mesi di vita. I lobi più interessati sono il superiore sinistro (47%), il medio destro (28%), il superiore destro (20%); i lobi inferiori sono colpiti solo nel 5% dei casi. Il coinvolgimento bilaterale è possibile ma raro. La patogenesi è secondaria all'instaurarsi di un meccanismo a valvola, o per un alterato sviluppo della struttura cartilaginea bronchiale o per compressione esterna da parte di vasi anomali o masse, quali le cisti broncogene. Questa patologia si accompagna anche ad un'aumentata incidenza di cardiopatie. La diagnosi differenziale con l'enfisema lobare acquisito, spesso conseguenza di una BPD, si basa prevalentemente sulla diversa storia clinica. La sintomatologia può essere molto sfumata e il reperto radiologico casuale; in tal caso si può adottare un atteggiamento conservativo. I casi più gravi, con notevole distress durante il periodo neonatale, sono caratterizzati da un'elevata mortalità; in tal caso deve essere rapidamente eseguito il trattamento chirurgico di lobectomia.

Ipoplasia polmonare

L'ipoplasia polmonare è stata descritta come l'anomalia più frequente tra i bambini deceduti nel periodo neonatale: i polmoni ipoplasici sono caratterizzati da un ridotto numero di ramificazioni bronchiali e vascolari, e da un alterato sviluppo alveolare. Da rilevare che la diagnosi di questa patologia può essere ipotizzata in base all'anamnesi, alla sintomatologia e al quadro radiologico del neonato, mentre la conferma è possibile ottenerla solo post mortem, in rapporto al peso dei polmoni e alla diminuzione del contenuto totale di DNA che riflette la riduzione del numero di cellule.

Lo sviluppo del polmone durante la vita fetale, al contrario di quanto avviene per gli altri organi maggiori, dipende anche da fattori ambientali oltre che da un intrinseco potenziale di crescita; tali fattori agiscono soprattutto attraverso forze meccaniche, la cui alterazione condiziona negativamente lo sviluppo di quest'organo.

La patogenesi dell'ipoplasia polmonare può quindi dipendere da molteplici cause, giacché per il corretto sviluppo del polmone in utero sono necessari una gabbia toracica adeguata per

dimensioni e struttura, movimenti respiratori fetali (FBM) regolari per intensità e durata, e una normale produzione e quantità di liquido polmonare e amniotico.

Le condizioni che riducono lo spazio all'interno del torace (ernia diaframmatica congenita, malformazione adenomatoide cistica, versamento pleurico), o che aumentano il contenuto addominale (ascite), o che deformano la gabbia toracica (distrofia toracica asfissiante), possono quindi determinare un'alterata crescita polmonare. Quest'ultima può essere secondaria anche a difetti della parete addominale anteriore (onfalocele, gastroschisi); tali patologie, infatti, sono caratterizzate da un diminuito contenuto di viscere all'interno della parte superiore dell'addome, condizione che può comportare un difettoso sviluppo della gabbia toracica.

Anche i FBM sono importanti per un corretto sviluppo del sistema respiratorio; una loro ridotta forza è implicata nella patogenesi dell'ipoplasia polmonare, come avviene in particolari condizioni che compromettono la funzionalità del diaframma, quale l'ernia di Bochdalek o i difetti della parete anteriore dell'addome, o in alcune patologie neurologiche o neuromuscolari che possono manifestarsi già in utero, quale la malattia di Werdnig-Hoffmann, la distrofia miotonica, o l'agenesia del nervo frenico. I FBM possono essere ostacolati anche attraverso un meccanismo di compressione del torace, come avviene in caso di oligoidramnios (prematura rottura delle membrane, agenesia renale nella sindrome di Potter, ostruzioni al deflusso urinario), ma questa non è un'associazione costante.

L'ipoplasia polmonare è stata messa in relazione anche alla perdita di liquido amniotico in seguito a rottura prematura delle membrane (PROM), in particolare se quest'ultima è avvenuta durante il periodo canalicolare, cioè prima della 24^a-26^a settimana di EG, ma non è una sua conseguenza costante. L'incidenza di questa patologia è tanto più elevata quanto più è precoce la rottura delle membrane, e raggiunge l'80% quando alla PROM si associa un grave oligoidramnios (liquido amniotico dello spessore inferiore ad 1 cm) della durata superiore ai 14 giorni. È possibile che la prolungata perdita di liquido amniotico determini l'ipoplasia influenzando il volume del liquido polmonare fetale. È stato ipotizzato, infatti, che l'ipoplasia del polmone collegata all'oligoidramnios sia la conseguenza di un'eccessiva perdita di liquido polmonare; quest'ultima sarebbe provocata dall'aumento del gradiente di pressione alveolare-amniotico, a sua volta secondario alla riduzione della pressione all'interno della cavità amniotica.

L'ipoplasia polmonare è stata messa in relazione anche ad una ridotta perfusione polmonare associata ad alcune cardiopatie congenite (tetralogia di Fallot, cuore destro ipoplasico, agenesia delle arterie polmonari), e può essere presente nella trisomia 13, 18 e 21. La forma primitiva d'ipoplasia polmonare è molto rara, tuttavia sono stati descritti al riscontro autoptico polmoni strutturalmente normali ma con volume ridotto e senza altre patologie associate.

Linfangectasia polmonare congenita

La patogenesi della linfangectasia polmonare primaria è riconducibile ad un errore congenito del sistema linfatico, il cui sviluppo inizia alla 5^a settimana di gestazione, con un certo ritardo rispetto al sistema cardiovascolare. L'origine dei linfatici non è chiara, ma sembra che possano formarsi in situ dal mesenchima o possano originare come evaginazioni dall'endotelio delle vene; i primitivi tessuti linfatici si uniscono l'uno con l'altro a formare i canali linfatici e sei sacchi linfatici. I primi due sacchi che si formano, verso la fine della 5^a settimana di EG, sono i due giugulari, che drenano la linfa dagli arti superiori, dalla parte superiore del tronco, dalla testa e dal collo. Alla 6^a settimana di EG si sviluppano altri quattro sacchi, che ricevono la linfa dal tronco e dagli arti inferiori: due iliaci, uno retroperitoneale e, dorsalmente a quest'ultimo, la cisterna del chilo. Due canali principali, il dotto toracico destro e sinistro, congiungono i sacchi giugulari con la cisterna del chilo, e presto si formano tra loro delle anastomosi. Il dotto

toracico, che si sviluppa dalla porzione distale del dotto toracico destro e dalla porzione craniale del sinistro, origina sulla linea centrale a livello della seconda vertebra lombare, dalla cisterna del chilo, ove si raccoglie la linfa prodotta nell'intestino, ed entra quindi nel torace attraverso lo iato aortico. A livello della quarta vertebra toracica si porta a sinistra, per collegarsi al sistema venoso nel punto di giunzione tra la vena giugulare interna di sinistra e la vena succlavia.

La linfoectasia polmonare congenita è caratterizzata, all'esame anatomopatologico, da dilatazioni cistiche dei linfatici polmonari e pleurici, di solito bilateralmente; i polmoni appaiono compatti e poco distendibili. La sintomatologia clinica è caratterizzata da chilotorace, ipoplasia polmonare e insufficienza respiratoria; in caso di sopravvivenza può svilupparsi un malassorbimento.

La radiografia del torace può in alcuni casi essere diagnostica, presentando una granularità accentuata determinata dalla dilatazione dei linfatici; più spesso può dare un quadro sovrapponibile a quello di una tachipnea transitoria o di una RDS. Per la diagnosi sono spesso necessarie la toracotomia e la biopsia polmonare.

Il trattamento del chilotorace è basato sulla toracentesi o sul posizionamento di un tubo di drenaggio toracico. Fino a quando non si arresta il flusso dal drenaggio, questi pazienti devono essere nutriti con latte contenente grassi esclusivamente sotto forma di trigliceridi a media catena (MCT). Nell'intestino, infatti, gli acidi grassi a lunga catena passano nel sistema linfatico come chilomicroni, dopo essere stati riesterificati a trigliceridi; al contrario, gli acidi grassi a media catena (10 atomi di carbonio o meno) passano direttamente nel sistema portale. Nel caso anche questo tentativo non dia risultati nel controllo del chilotorace, è necessario ricorrere alla nutrizione parenterale totale ed eventualmente al posizionamento di un drenaggio pleuro-peritoneale esterno unidirezionale. Quest'ultima è un'interessante soluzione nel neonato, meno invasiva della toracotomia e della pleurectomia; il principio è di permettere il riassorbimento del chilo a livello peritoneale, limitando così le perdite e dando tempo per lo sviluppo di nuovi canali linfatici a livello del torace. Si riconosce anche una forma secondaria di linfoectasia polmonare, dovuta a patologie che alterano il drenaggio linfatico, come ad esempio cardiopatie del cuore sinistro caratterizzate da un ostacolo al deflusso venoso polmonare; quest'ultima è l'eventualità più frequente in età pediatrica.

Linfangioma cistico

I linfangiomi sono proliferazioni focali di tessuto linfatico ben differenziato, dall'aspetto multicistico o spugnoso; secondo la loro struttura istologica si distinguono in linfangiomi capillari, cavernosi o cistici, ma non vi è tra loro una netta suddivisione e possono frequentemente coesistere. La patogenesi è riconducibile alla persistenza di residui embrionali di tessuto linfatico che non si è connesso ai canali efferenti, o che nasce da porzioni dei sacchi linfatici sequestrate durante lo sviluppo; molti linfangiomi, infatti, si sviluppano nel sito dei sacchi linfatici primordiali. Il linfangioma cistico, definito anche igroma cistico, è formato da grandi cisti ben circoscritte, multiloculate e ripiene di un liquido sieroso. Il 75% dei linfangiomi cistici è localizzato a livello del collo, ove si presentano come una massa soffice ed elastica, e il 20% a livello ascellare. Il rimanente 5% è localizzato a livello del mediastino, nella zona retroperitoneale o nella pelvi. I linfangiomi del collo si estendono frequentemente nella cavità orale e possono coinvolgere le alte vie aeree e interferire con la ventilazione; nel 2-3% dei casi possono svilupparsi anche a livello mediastinico e provocare un chilotorace o un chilopericardio. I linfangiomi della lingua e del pavimento della bocca sono i più pericolosi per il rischio d'ostruzione e per la difficoltà di trattamento. La terapia è chirurgica.

MALATTIE METABOLICHE EREDITARIE: PREVENZIONE, PROBLEMI DI DIAGNOSI, TERAPIA OGGI

Gaetano Sabetta

Divisione di Patologia Metabolica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Dopo gli anni '60 la medicina e la ricerca medica si sono particolarmente interessate alle malattie rare genetiche e non. Erano, infatti, a quei tempi sostanzialmente diminuite, nei Paesi evoluti, le malattie infettive e quelle da infezioni batteriche o da carenze ed errori alimentari grazie a vaccini, ad antibiotici, ad altri nuovi prodotti farmaceutici e ad un'alimentazione più completa, nonché alla conoscenza più approfondita delle regole dietetiche.

Ad accrescere l'interesse in quel periodo per tali malattie si aggiunse la dimostrazione del carattere ereditario di un elevato numero di patologie e, contemporaneamente, furono messi a punto metodi di analisi nuovi ed efficaci per giungere ad una diagnosi sempre più certa.

Le malattie metaboliche ereditarie sono tra queste e, anche se rare, sono numerose. Il loro numero è, infatti, aumentato in questi ultimi 25 anni con una crescita però anche dei casi curabili.

La caratteristica di "rara" è data dal fatto che non sono fortunatamente numerosi i singoli casi di ciascuna malattia ereditaria.

Questo fattore (la rarità) determina però di conseguenza che vi sia anche un numero esiguo di medici e di centri che si occupano in maniera sistematica di tali patologie, per questo definite "orfane", e sono orfane a volte anche sotto il profilo terapeutico perché in taluni casi, pur se sono stati identificati farmaci capaci di combattere queste malattie, le case farmaceutiche sono restie a produrli perché, essendo riservati ad un numero esiguo di pazienti, vengono giudicati antieconomici.

La velocità con cui procedono le scoperte è in continua accelerazione. La scoperta che la fenilchetonuria, un errore congenito del metabolismo degli aminoacidi che causa un grave ritardo mentale, può essere trattata con tale successo da prevenire il ritardo mentale, ha determinato un modello di trattamento delle malattie genetiche e la necessità di fare la diagnosi il più presto possibile. Questo ha condotto a programmi di screening nei Paesi più sviluppati per scoprire tempestivamente questa eventuale malattia in ogni bambino.

Le malattie genetiche del metabolismo non soggette a screening, invece, possono manifestarsi con una sintomatologia a carattere di intossicazione acuta, quasi subito dopo la nascita dopo pochi giorni o dopo qualche settimana, in seguito ad un aumento più o meno rapido di metaboliti che, a causa di un ben definito difetto enzimatico, non vengono metabolizzati. Questi, quando superano una determinata soglia, alterano il normale sviluppo dell'encefalo e di altri organi e tessuti. Il neonato o il bambino affetto da una malattia da errore congenito del metabolismo intermedio, cioè degli aminoacidi, degli acidiorganici, dei carboidrati, dell'ossidazione degli acidi grassi e nelle iperammonemie ereditarie, già dalle prime giornate di vita presenta anoressia, vomito, ipotonia, letargia, convulsioni cui fanno seguito ipertonia, a volte ittero, ipotermia e dopo un certo periodo, un più o meno grave deficit psicomotorio. Per questi motivi la tempestività della diagnosi riveste un'importanza vitale per evitare l'instaurarsi di danni irreversibili ai vari organi.

Le malattie rare, ad eccezione della fibrosi cistica non rara e che è ben conosciuta e ha una legge nazionale *ad hoc* e Centri di Riferimento Regionali ben strutturati, costituiscono un

eterogeneo gruppo di malattie individualmente rare ma complessivamente numerose. Per fornire un *know-how* sintetico e chiaro sulla situazione attuale, sia epidemiologica che legata al trattamento farmaceutico e dietoterapeutico, si riportano i seguenti dati:

- 1) Innanzitutto occorre premettere che negli ultimi tempi innumerevoli sono i contributi forniti dalla genetica molecolare, che ha permesso di identificare i geni responsabili di numerosissime malattie di cui era noto solo il difetto biochimico, rendendo per molte di esse disponibile l'indagine pre-natale.
- 2) Senza affrontare nel dettaglio gli aspetti tecnici delle varie applicazioni, un enorme contributo per la definizione nosografica, la precoce individuazione e la prevenzione di numerose malattie, è stato fornito dalle nuove tecniche di dosaggio dei metaboliti nei liquidi biologici (come per esempio la gas-cromatografia accoppiata a tandem e spettrometria di massa), nonché dall'impiego di strumenti per l'immagine sempre più sofisticati, come la risonanza magnetica spettroscopica, che ha permesso di misurare in vivo le anomalie biochimiche dei pazienti.
- 3) Il campo della terapia di queste complesse malattie ha visto un'espansione notevolissima delle conoscenze e di nuove applicazioni. Numerosi sono gli esempi da citare: fra questi le terapie enzimatiche sostitutive, i trapianti d'organo, l'impiego di nuovi farmaci ad azione specifica, l'applicazione sistematica di protocolli per il trattamento degli scompensi acuti, nonché lo sviluppo nel settore della dietoterapia.

Le attuali normative, anche europee, in merito al programma d'azione sulle malattie rare, mettono in evidenza che le malattie metaboliche costituiscono uno degli obiettivi prioritari di queste iniziative nel campo della sanità pubblica.

L'oggettivazione della dimensione quantitativa e qualitativa rappresenta, quindi, una premessa indispensabile per la programmazione degli interventi e per la razionalizzazione dell'impiego delle risorse in questo peculiare settore.

Come chiaramente indicato nel recente rapporto finale della Commissione "Malattie Metaboliche Ereditarie", e da quella sulle malattie rare, del Centro Studi Ministero della Sanità (97-98), la riorganizzazione sul territorio dei programmi assistenziali necessita di nuovi modelli che curino soprattutto l'approccio multidisciplinare al paziente con malattia rara, con particolare riguardo alle malattie metaboliche, attraverso l'azione coordinata di Centri ad alta qualificazione e di comprovata esperienza dotati di servizi e delle strumentazioni indispensabili per la "presa in carico" dei pazienti. I punti salienti di questo rapporto sono quelli relativi alla diagnostica prenatale, allo screening neonatale, all'organizzazione dell'assistenza dei laboratori sul territorio, oltre ai necessari provvedimenti legislativi in materia di erogazione di presidi dietoterapeutici e farmacologici ed eventuali altri sostegni di tipo sociale.

La programmazione degli interventi sul territorio deve in ogni caso basarsi sull'*expertise* degli operatori e sul raggiungimento di una massa critica di pazienti tale da giustificare l'istituzione di un centro di riferimento regionale o nazionale. È inoltre auspicabile la creazione di una rete di connessione per canalizzare il flusso di informazioni tra elaboratori e centri clinici. L'organizzazione dell'assistenza deve tenere conto del fatto che le malattie metaboliche presentano problematiche cliniche e di trattamento molto diverse fra loro.

Una ragionevole suddivisione prevede almeno quattro differenti tipologie:

- a) malattie curate fondamentalmente con approcci dietoterapeutici e/o farmacologici a rischio di scompenso metabolico acuto (acidemie organiche, difetti del ciclo dell'urea);
- b) malattie curate con approcci dietoterapeutici e/o farmacologici senza rischio di scompenso acuto (fenilchetonuria);

- c) malattie responsabili di instabilità cronica trattabili con approcci sintomatici e riabilitativi (malattie lisosomiali e perossisomiali);
- d) malattie per le quali sono in studio terapie sperimentali (trapianti, terapie enzimatiche sostitutive, ecc.).

Un settore di vitale importanza è quello della ricerca, sia clinica sia di base, che necessita di una razionalizzazione nell'impiego delle risorse e deve puntare a risultati ad ampia ricaduta ottenibili solo grazie all'attiva collaborazione fra diversi Centri operanti sul territorio nazionale e comunitario.

Le considerazioni che si possono trarre da questo panorama indicano chiaramente come tali malattie rappresentino una sfida per il futuro nel settore della ricerca e dell'assistenza in un campo della patologia umana così complesso ma anche ricco di risvolti scientifici, sociali ed etici.

L'impegno dell'Ospedale del Bambino Gesù per le malattie metaboliche ereditarie

Il Reparto di Patologia Metabolica dell'Ospedale del Bambino Gesù non solo è uno di quei pochi Centri che si occupano di tali patologie ma ha assunto anche una posizione di rilievo, ovvero di coordinamento, per tutti gli altri Centri nell'ambito regionale.

L'impegno del nostro Ospedale per questi bambini e per la loro grave malattia intende quindi travalicare gli ostacoli di carattere pratico nella gestione di tali patologie e, anzi, ha lo stimolo della ricerca e della necessità di associare alle indispensabili capacità clinico-scientifiche più aggiornate anche un sostanziale apporto di umanità e di etica.

È difficile comunicare l'esistenza di una patologia che può portare alla morte o a gravi insufficienze mentali ad una coppia di giovani genitori; ancor più difficile è spiegare cosa sia l'errore genetico trasmesso al loro bambino per ereditarietà: solo la consapevolezza dell'utilità, che un impegno costante per la giusta e tempestiva diagnosi e la ricerca della terapia più appropriata per poter prevenire o limitare al massimo i danni conseguenti a tali patologie, ci può sostenere nel nostro lavoro.

In tutto il periodo dagli anni '90 fino ad oggi, il Reparto di Patologia Metabolica è stato in perfetta correlazione con la crescita culturale-scientifica internazionale nel campo delle malattie metaboliche ereditarie, e il continuo aggiornamento teorico-pratico dei suoi Operatori hanno migliorato fortemente le cure e ottenuto risultati assistenziali, che hanno dato dignità e speranza alle famiglie e hanno fatto conseguire al modello operativo dell'Ospedale Bambino Gesù un ruolo di guida e di riferimento nazionale. Tale modello, per la necessaria interrelazione tra diverse discipline e servizi del nostro Istituto, è stato ufficialmente riconosciuto non solo al Reparto di Patologia Metabolica, ma a tutto l'Ospedale del Bambino Gesù, per l'assistenza e la ricerca in questo campo.

L'impegno assistenziale sia umano sia economico si è rivelato, fino a non molti anni fa, piuttosto scarso per le malattie rare ed è proprio negli Stati Uniti che è stato recentemente coniato quel termine di *orphan patient* riferito a questi pazienti con evidenti risvolti etici e psicologici.

È significativo che solo per il fatto di aver accolto e raccolto pazienti da tutta Italia e anche da altre parti del mondo, si è avuto un importante incremento della casistica che ha permesso non solo un miglioramento della diagnostica e della terapia, ma anche un aumento della fiducia delle famiglie nell'Istituzione sanitaria del Bambino Gesù. Di pari passo si è avuta una crescita dell'esperienza assistenziale e delle conoscenze mediche, che sono tuttora punto di riferimento

per altri centri europei. Ancora più importante è il fatto che è cresciuta la solidarietà delle famiglie colpite tra di loro e la sollecitazione delle altre ad avere fiducia nella ricerca e nell'assistenza medica presso il nostro Istituto.

Tale fiducia però non va mai disattesa e occorre sempre adoperarci per garantire i migliori livelli possibili di qualità.

Attualmente questi piccoli malati possono trovare nell'Ospedale del Bambino Gesù tutte le competenze necessarie per la gestione della loro condizione patologica. In queste condizioni, spesso, l'unico conforto per le famiglie è l'aiuto a comprendere e a sopportare la patologia.

Nella fase cronica si pone l'evidenza delle gravi sequele che coinvolgono intere famiglie. Infatti, oltre al rischio sempre presente di una riacutizzazione con pericolo di vita, c'è per queste famiglie il pericolo della rassegnazione, che si verifica non per egoismo, che spinge all'abbandono della persona all'handicap, ma spesso per una ghettizzazione dovuta alla miopia e all'ostinazione di una società che esalta la superefficienza e che celebra non la salute ma, attraverso gli stereotipi creati dai media, il trionfo del corpo sano e bello allontanando gli altri dai disabili. Le famiglie quindi vivono immerse in un razzismo culturale che si distingue solo tra vincenti e perdenti, quasi che lo spirito dell'uomo sia l'erede di Federico Nietzsche. Si ammira il ricco, il sano, il bello e il vincitore: la distinzione non è tra buoni e cattivi, tra saggi e ignoranti, ma tra vincenti e perdenti. Agli occhi di una società dominata dalla cultura di una competizione esagerata, questi bambini sono considerati perdenti. Fortunatamente questa fase cronica è vissuta dalla famiglia con la volontà e la fede e si assiste al miglioramento progressivo di questi malati. Infatti, aldilà del rischio sempre presente di una riacutizzazione è sicuro che, da una parte le complicanze gravi delle fasi di acuzie e la morte improvvisa riescono ad essere evitate o ridotte drasticamente perché opportunamente affrontate, e che dall'altra, la fase cronica viene vissuta serenamente perché tra enormi difficoltà in questi ultimi anni stiamo osservando progressivi miglioramenti.

In senso squisitamente umano e oggettivo, un progetto organizzativo di gestione di questi malati dovrebbe tener conto più delle loro esigenze che delle aspirazioni dei ricercatori in funzione del miglioramento della ricerca medica, anche se da Ippocrate in poi è risultato evidente che è compito di ogni medico verificare e sviluppare le conoscenze ereditate e trasmetterle ampliate di nuove informazioni o condite di nuovi stimolanti dubbi o quesiti.

Il nostro lavoro ha dunque i seguenti orientamenti:

1) *Scambio di informazioni*

Scambio di informazioni selezionate sui vari aspetti della patologia basati su una fattiva collaborazione con tutti i centri specialistici del Mondo, stabilendo forme di "convenzioni" non legate ad interessi corporativi né ad esibizionismi scientifici.

2) *Scelta e formazione degli operatori*

Sono imperniate sulla sintesi tra cultura scientifica e umanità assistenziale. È indispensabile formare unità specializzate ben amalgamate tra loro e con le famiglie, in grado di intervenire in modo efficace, rapido e umano su ogni singolo paziente, qualunque sia la complessità del suo caso e a qualsiasi ora del giorno o della notte.

3) *Lavoro di équipe*

È indispensabile – ai fini dell'equilibrio psicoemotivo degli operatori che un reparto di tal genere impone – perseguire uno spirito di lavoro di gruppo anche nel quotidiano, ricercando la collaborazione attiva e solidale di tutte le sue componenti.

4) *"Prise en charge"*

Ovvero l'assunzione di tutte le problematiche che coinvolgono la sfera psicofisica ed emotiva del paziente e della sua famiglia, costituisce un elemento essenziale. Gli operatori di questo settore devono avere un rapporto molto stretto con il bambino e la sua

famiglia, rapporto che deve coinvolgere il medico curante e l'ambito familiare, fino a conoscerne gli eventi che si succedono giorno dopo giorno. È in questo contesto che si inseriscono le figure esperte e partecipi dello psicologo, della dietista, della fisioterapista, dell'assistente sociale e del sacerdote.

5) *Assistenza del malato a domicilio*

Attraverso l'impegno di medici motivati ed esperti, che può consentire anche di ridurre la spesa globale.

PROTOCOLLO DI RICONOSCIMENTO E DI TRATTAMENTO DIETETICO FARMACOLOGICO DEI NEONATI IN COMA IPERAMMONIEMICO

Andrea Bartuli, Carlo Dionisi Vici Gaetano Sabetta
Patologia Metabolica, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

L'ammonio prodotto dal catabolismo proteico viene trasformato in urea e acqua da una catena di enzimi che formano, nel loro insieme, il ciclo dell'urea. Alcuni difetti genetici determinano la riduzione dell'attività di uno di questi enzimi, una ridotta efficienza del ciclo dell'urea e l'accumulo di ammonio nell'organismo con comparsa di sintomi di intossicazione a carico del sistema nervoso centrale e di altri organi. Le iperammoniemie si distinguono in difetti primitivi del ciclo dell'urea (ridotta attività di uno degli enzimi che formano il ciclo) e difetti secondari (inibizione dell'attività enzimatica per intossicazione da parte dei metaboliti accumulati nelle acidurie organiche, nella malattia delle urine a sciroppo d'acero e nei difetti della (ossidazione). Nei 2/3 dei casi l'esordio di queste patologie avviene in epoca neonatale a causa del carico metabolico indotto dall'azione combinata dell'intenso catabolismo proteico post-natale e dell'inizio dell'alimentazione. L'ammonio, altamente diffusibile nei liquidi biologici, determina danni irreversibili a carico del SNC con pericolo di morte o di gravi lesioni permanenti dopo esposizione a livelli tossici per più di 48 ore; nelle iperammoniemie secondarie, all'azione tossica dell'ammonio si aggiunge quella degli altri metaboliti accumulati con effetti prevalentemente sul midollo osseo, sul tessuto epatico, su quello muscolare e nervoso. Lo Scompenso Metabolico Acuto Iperammoniemico (SMAI) neonatale insorge tipicamente dopo un intervallo libero da sintomi che varia da alcune ore a pochi giorni; la sintomatologia, inizialmente sfumata con rifiuto dell'alimentazione, torpore e vomito, diventa poi rapidamente drammatica per la comparsa dei sintomi secondari alla sofferenza del Sistema Nervo Centrale (SNC) con convulsioni, edema cerebrale fino a coma e morte. La prevenzione dell'insorgenza di tali lesioni neurologiche e morte nel neonato con SMAI curabile, è strettamente legata alla rapidità di diagnosi e all'efficacia del trattamento instaurato. Lo scopo di un corretto approccio diagnostico terapeutico è la massima riduzione del tempo di esposizione ai metaboliti tossici tramite il riconoscimento e il trattamento dietetico-farmacologico e/o dialitico precoce del neonato con SMAI. Il risultato atteso è la prevenzione dello sviluppo di danni neurologici permanenti oltre che il miglioramento della prognosi *quoad vitam* dei neonati affetti. Il primo approccio terapeutico è il trattamento dietetico-farmacologico che ha come obiettivo la limitazione del catabolismo proteico, con soluzioni ipertoniche di glucosio e insulina somministrate per via parenterale e infusione enterale di miscele gluco-lipidiche prive di proteine, nonché la parziale depurazione dell'organismo dai metaboliti accumulati attraverso l'infusione di arginina, carnitina e vitamina B12 ad alte dosi. Solo nei casi accertati di difetto primitivo del ciclo dell'urea è utile la somministrazione di chelanti dei precursori dell'ammonio (sodio benzoato e fenilbutirrato) altrimenti inefficaci nelle iperammoniemie secondarie. L'assenza di risposta al trattamento medico richiede la rapida rimozione dei metaboliti tossici accumulati attraverso tecniche di dialisi. Dal 1996 l'Unità Operativa di Patologia Metabolica dell'Ospedale Bambino Gesù di Roma, in collaborazione con il Dipartimento Medico-Chirurgico di Neonatologia e il Dipartimento di Nefrologia e Dialisi, ha sviluppato un protocollo che ha consentito la realizzazione di diverse tecniche di depurazione dialitica nel neonato e in particolare, grazie all'acquisizione di macchinari di dialisi specificamente concepiti

per i neonati, l'emodiafiltrazione continua veno-venosa. Sono stati trattati, ad oggi, 22 neonati affetti da SMAI. In accordo con quanto descritto in letteratura, la revisione della nostra casistica mostra che, ai fini della prognosi, è indispensabile ridurre al massimo i tempi di esposizione all'ammonio riconoscendo e trattando, nel minore tempo possibile, i neonati affetti.

Elementi di orientamento diagnostico

Gli elementi di orientamento diagnostici sono:

– *Anamnesi*

Consanguineità dei genitori, pluriabortività materna, precedenti morti con diagnosi incerta in epoca neonatale o infantile, patologia neurologica familiare ricorrente o ritardo psicomotorio “sine causa”, periodo asintomatico tra nascita e inizio della SMAI.

– *Dati clinici*

Rifiuto dell'alimentazione, vomito, convulsioni, alterazioni del sensorio, disturbi del tono e movimenti anomali (“boxing”, “pedalage”), stridore laringeo, accessi di iperventilazione, dermatite, macro/microcefalia, epatomegalia, odore caratteristico di cute e urine con assenza di spiegazioni plausibili per il quadro clinico presentato dal paziente.

– *Dati ematochimici*

Iperammoniemia, alterazioni dell'equilibrio acido-base, ipo/iperglicemia, iperuricemia senza insufficienza renale, insufficienza epatica acuta, alterazione della crasi ematica (neutropenia, coagulopatia, piastrinopenia, anemia megaloblastica), aumento della CK plasmatici, alterazioni del profilo degli aminoacidi plasmatici, iperlattacidemia, alterazioni del profilo delle acilcarnitine.

– *Dati urinari*

Chetonuria massiva, assenza di chetonuria in presenza di ipoglicemia, positività della reazione alla 2-4 dinitrofenilidrazina, mioglobinuriaoroticoaciduria, organicoaciduria, tubulopatia.

– *Dati strumentali*

cardiomiopatia (telecuore-ecocardio), epatomegalia, steatosi epatica (ecografia epatica), Burst-suppression, depressione elettrica, edema cerebrale, epilessie intrattabile e B6-sensibili (elettroencefalogramma), miopatia (elettromiografia), retinite, ipertensione endocranica (fundus oculi, eco encefalo), edema cerebrale, leucodistrofia, calcificazioni endocraniche, tromboembolie, agenesia del corpo calloso (TC o RMN cranio).

– *Diagnosi differenziale*

con sepsi, emorragie endocraniche, malformazioni congenite cardiache e del circolo portale, epatopatie (rare), sofferenza perinatale, infezioni prenatali (TORCH).

– *Diagnosi metabolica orientativa*

- iperammoniemia severa con alcalosi e assenza iniziale di chetonuria
diagnosi più probabile: difetto del ciclo dell'urea
- iperammoniemia non necessariamente severa con chetoacidosi, chetonuria ed eventuali anomalie della crasi ematica
diagnosi più probabile: acidemia organica
- iperammoniemia modesta, assenza di acidosi, ipoglicemia moderata, reazione 2-4DNPH positiva
diagnosi più probabile: leucinosi

- iperammoniemia modesta, ipoglicemia con assenza di chetonuria, sofferenza epatica e/o muscolare
diagnosi più probabile: difetto della beta ossidazione.

Trattamento

Prima di iniziare qualsiasi terapia raccogliere i campioni biologici necessari per le indagini diagnostiche:

- 5 cc di urine fresche in provetta tappata subito conservate (vanno congelate in freezer);
- 3 cc di siero (vanno congelati in freezer);
- spot test su carta da filtro (conservato a temperatura ambiente);
- 6 cc di sangue intero in EDTA per valutazione genetica se previste trasfusioni (vanno conservati in frigo).

Il trattamento prevede:

- *Accessi vascolari*
Accesso vascolare tale da permettere l'infusione di soluzioni parenterali ipertoniche di glucosio; non pungere e/o utilizzare le femorali, necessarie per l'eventuale dialisi.
- *Infusione parenterale*
Glucosata al 10% 80-100 ml/kg (a seconda se presente contemporanea infusione enterale) + arginina 250 mg/kg + Carnitina 200 mg/kg nelle 24 ore; bolo di arginina 250 mg/kg + 1 g di Carnitina nelle prime 2 ore solo se già diagnosticato difetto del ciclo dell'urea; Na benzoato 250 mg/kg a bolo endovena in 2 ore e poi 250 mg/kg/die e/o Fenilbutirrato 200 mg/kg/die (*per os*) in 3 somministrazioni.
- *Alimentazione enterale*
50 ml/kg di acqua + integratore calorico aproteico (BASIC P Milupa, PROTEIN FREE Mead Johnson, POLYCOSE Abbot, DUOCAL SHS e FANTOMALT Nutricia, NEC Medifood) alla concentrazione massima del 20% in enterale continua nelle 24 h. Non utilizzare integratori con lipidi, nel sospetto di un difetto della beta ossidazione.
- *Terapia parenterale*
Neocytamen 1000 fl: 1 fl intramuscolo monodose e ½ fl endovena ogni 12 ore. Biotina 10 mg in monodose intramuscolo o endovena.
- *Valutazioni biochimiche*
Ammoniemia al termine del bolo iniziale di arginina (o arginina e benzoato nei difetti primitivi accertati del ciclo dell'urea) e poi ogni 4 ore glicemia ogni 2 ore (mantenere < a 200 mg/dl eventualmente con insulina fino a 1 U ogni 3 g di glucosio nella sacca di infusione). Acetest sulle urine ogni 4 ore.

Se il neonato è in immediato pericolo di vita: effettuare biopsia di cute prelevata sterilmente in terreno di coltura o soluzione fisiologica (conservata a temperatura ambiente e coltivata entro 24 ore) e biopsia epatica conservata a secco (freezer a -20°); prelevare 6 cc di sangue intero in EDTA per valutazione genetica (vanno conservati in frigo)

Se il neonato non risponde al trattamento dietetico-farmacologico con un miglioramento dei parametri clinici ed ematochimici (riduzione dei valori di ammonio dopo le prime 4 ore di trattamento) è necessario impostare un trattamento dialitico.

MALATTIE REUMATICHE IN PEDIATRIA: L'ESEMPIO DELLA RETE PRINTO

Nicolino Ruperto, Alberto Martini

Pediatria II, Istituto G. Gaslini, Genova e Dipartimento di Pediatria, Università di Genova

Introduzione

Le malattie reumatiche del bambino comprendono un eterogeneo gruppi di affezioni alcune specifiche del bambino e altre invece simili a quelle che si osservano nell'adulto. Sono tutte malattie rare. La più frequente di essa, l'artrite idiopatica giovanile (AIG), che non rappresenta una vera e propria malattia ma una condizione eterogenea nell'ambito della quale sono classificate differenti tipi di artriti croniche, interessa meno di un bambino su mille e quindi la sua frequenza nella popolazione generale è largamente inferiore a 5/10.000. Inoltre molte delle malattie che sono incluse sotto il termine di AIG sono caratteristiche del bambino e non si osservano o si osservano solo molto raramente nell'adulto. Ne consegue che farmaci che si sono dimostrati efficaci nell'artrite reumatoide dell'adulto possono non esserlo nell'AIG (1, 2).

Problemi generali

I bambini colpiti da malattie simili a quelle dell'età maggiore vengono frequentemente trattati con gli stessi farmaci usati per la popolazione adulta. Spesso le malattie pediatriche portano ad importante disabilità, sono in genere molto costose e richiedono un lungo periodo di tempo per essere curate con la conseguenza di consumare notevoli risorse dal punto di vista sociale, di perdere molti giorni di scuola (e giorni di lavoro per i genitori) e di diminuire l'indipendenza delle famiglie.

Sicuramente tutte queste malattie croniche potenzialmente molto disabilitanti dovrebbero essere al centro di intense ricerche aventi lo scopo di migliorarne il decorso e possibilmente curarle. Ogni terapia per i bambini dovrebbe infatti avere come obiettivo primario la cura o almeno il controllo della malattia, la prevenzione della disabilità e il miglioramento della qualità di vita.

Tuttavia, per svariate ragioni, è estremamente difficile trovare fondi per effettuare delle sperimentazioni per valutare l'efficacia dei farmaci in età pediatrica. Le case farmaceutiche, per esempio, hanno uno scarso interesse a finanziare studi di farmaci in età pediatrica: il mercato di questi farmaci è piccolo, la maggior parte delle malattie pediatriche sono "malattie orfane", la durata di questi studi è in genere molto lunga mentre le case farmaceutiche richiedono tempi brevi per l'esecuzione.

Il risultato è che molti dei farmaci attualmente in uso non sono mai stati sperimentati in età pediatrica o sono stati sperimentati solo parzialmente. La maggior parte dei farmaci viene quindi prescritta senza che vi sia, sul foglietto illustrativo, l'indicazione specifica per l'uso in età pediatrica.

Interventi legislativi: la regola pediatrica

Nel tentativo di risolvere questi problemi la *Food and Drug Administration* (FDA) degli Stati Uniti ha emesso la cosiddetta “direttiva pediatrica”. Questa direttiva, in funzione dal 1 aprile 1999 specifica le “Regole richieste ai produttori per assicurare la sicurezza ed efficacia di nuovi farmaci e prodotti biologici in età pediatrica” (3-5). Questa direttiva richiede alle case farmaceutiche di studiare nei bambini tutti quei prodotti con possibile rilevanza in età pediatrica così che le informazioni sull’utilizzo di questi prodotti sia disponibile per tutti.

Le stesse difficoltà hanno portato la *European Medical Evaluation Agency* (EMA) ad emettere nel 1997 la direttiva europea per le sperimentazioni sui farmaci in età pediatrica (6;7), ma questa direttiva incoraggia semplicemente le case farmaceutiche interessate alla sperimentazione di nuovi farmaci a sperimentarli, se appropriato, nei bambini. In altre parole non esiste alcun obbligo per le case farmaceutiche per studiare i farmaci in età pediatrica. Recentemente la Commissione Europea è ritornata sull’argomento (8), affinché anche l’EMA adotti una legislazione assai simile alla direttiva pediatrica americana e che dovrebbe anche includere incentivi, per incoraggiare studi pediatrici per i farmaci già in commercio e di largo impiego nel bambino.

La rete PRINTO

Per far fronte a questi problemi nel maggio 1996 è stata fondata una rete internazionale chiamata *Paediatric Rheumatology InterNational Trials Organisation* (PRINTO, Organizzazione Internazionale per Sperimentazioni in Reumatologia Pediatrica) con base in Genova presso l’IRCCS G. Gaslini. PRINTO, inizialmente composto da 14 Paesi europei, comprende ora 43 Paesi nel mondo intero (128 centri e 178 soci effettivi). L’obiettivo fondamentale di PRINTO è di facilitare e coordinare lo sviluppo, la gestione, l’analisi delle sperimentazioni con farmaci in bambini con malattie reumatiche. PRINTO è stato costituito con l’idea di eseguire delle sperimentazioni sui farmaci con o senza il sostegno economico delle case farmaceutiche.

L’organo direttivo di PRINTO, composto da 5 reumatologi pediatrici di chiara fama internazionale, ha il compito di identificare le linee di ricerche da adottare. Esiste poi un coordinatore nazionale per ciascuno dei Paesi facenti parti di PRINTO con il compito di legare il centro di coordinamento internazionale (con sede a Genova presso l’IRCCS G. Gaslini) e i centri facenti parti del network.

Il primo grosso problema affrontato da PRINTO è stato l’individuazione di un core set e una definizione di miglioramento per la valutazione della risposta ai farmaci per i bambini con AIG (9, 10). È importante notare come tale core set sia stato ufficialmente adottato dalla FDA per la valutazione dei farmaci da utilizzare nell’AIG. Il core set dell’AIG ha costituito la premessa fondamentale per la successiva realizzazione di trial clinici.

A tal fine nel 1997 PRINTO ha ottenuto, nell’ambito del quarto programma quadro, un primo finanziamento triennale dall’Unione Europea (contratto BMH4-983531 CA) per svolgere una sperimentazione clinica dal titolo “Una sperimentazione clinica randomizzata e controllata attivamente per valutare l’efficacia del metotrexate in dosi medie verso alte in bambini con artrite cronica giovanile che non hanno risposto a dosi standard di metotrexate”. È importante sottolineare a questo riguardo che i fondi per la conduzione di questo studio provengono interamente dall’Unione Europea senza quindi alcun sostegno da parte di case farmaceutiche. Questa sperimentazione è stata progettata sugli standard correnti di cura in modo tale che il costo

dell'assicurazione, i farmaci, le visite ambulatoriali, il monitoraggio di laboratorio vengano pagati con il consueto metodo di rimborso sanitario esistente in ciascuno dei Paesi partecipanti allo studio (es. il Servizio Sanitario Nazionale in Italia). Al termine dello studio PRINTO è stato in grado di arruolare 633 pazienti da 20 Paesi in tutto il mondo. Lo studio ha dimostrato che, a parità di tollerabilità, l'effetto plateau del MTX, per quanto riguarda l'efficacia, si raggiunge con un dosaggio di 15 mg/m²/settimana e che successivi aumenti di dose non apportano alcune beneficio ulteriore. È interessante notare che l'approvazione da parte del comitato etico è stata rifiutata in altri 5 Paesi per le seguenti motivazioni: mancanza di copertura assicurativa (coperta dai singoli ospedali nei Paesi partecipanti), mancanza di fornitura gratuita del farmaco (rimborsato dal sistema sanitario nazionale dei vari Paesi partecipanti), mancanza di sostegno da parte di una casa farmaceutica! Sempre nell'ambito di questo primo finanziamento PRINTO è poi riuscito a portare a termine un secondo progetto internazionale, con il fine di adattare culturalmente e validare due questionari per la valutazione della qualità di vita: il *Childhood Health Assessment Questionnaire* (CHAQ) (11) e il *Child Health Questionnaire* (CHQ) (12). Grazie al finanziamento europeo siamo stati in grado di raccogliere 6644 bambini (di cui circa la metà con AIG e la restante metà sani) e ottenere 32 traduzioni del CHAQ e del CHAQ (13, 14).

Al fine di completare lo spettro delle malattie reumatiche PRINTO ha inoltre ottenuto un secondo finanziamento triennale dall'Unione Europea (contratto QLRT-1999-30514) per definire le misure d'esito da utilizzare in future sperimentazioni di farmaci nel LESG e nella DMG.

Con un terzo finanziamento dell'Unione Europea (contratto 2001CVG4-808) PRINTO si occuperà di creare un sito web, tradotto per ognuno dei Paesi facenti parti di PRINTO, contenente informazioni sulla malattie reumatiche e una mappa aggiornata dei centri di reumatologia pediatrica e delle associazioni di aiuto alle famiglie.

Esistono poi numerosi rapporti di collaborazione con case farmaceutiche a livello di progettazione del protocollo e della scheda raccolta dati, individuazione dei centri partecipanti e analisi dei risultati.

I problemi affrontati da PRINTO (15), e sicuramente da altre organizzazioni pediatriche (16), nel reperire fondi e collaborare con le case farmaceutiche, sottolineano chiaramente le difficoltà relative alla progettazione e gestione pratica di sperimentazioni nelle malattie rare pediatriche e in pediatria in generale, specie se l'obiettivo è la registrazione presso le autorità di controllo (EMA o Ministero della Sanità Italiano).

Bibliografia

1. Brewer EJ, Giannini EH, Kuzmina N, Alekseev L. Penicillamine and hydroxychloroquine in the treatment of severe juvenile rheumatoid arthritis: Results of the USA - USSR double-blind, placebo controlled trial. *N Engl J Med* 1986;314:1269-76.
2. Giannini EH, Brewer EJ, Kuzmina N, Shaikov A, Wallin B, for the Pediatric Rheumatology Collaborative Study Group. Auranofin in the treatment of juvenile rheumatoid arthritis. Results of the USA - USSR double-blind, placebo controlled cooperative trial. *Arthritis Rheum* 1990;33:466-76.
3. Food and Drug Administration (FDA). Food and Drug Administration Modernization Act of 1997. Food and Drug Administration Modernization Act of 1997 1997;USA Public Law 105-115 Nov. 21, 1997.
4. Food and Drug Administration (FDA). Regulations requiring manufacturers to assess the safety and effectiveness of new drugs and biologic products in pediatrics patients (21 CFR Parts 201, 312, 314, and 601). *Federal Register* 1998;63.

5. Connor JD. A look at the future of pediatric therapeutics: an investigator's perspective of the new pediatric rule. *Pediatrics* 1999;104:610-3.
6. European Medicines Evaluation Agency - EMEA. *Report on the experts round table on the difficulties related to the use of new medicinal products in children held on 18 December 1997*. London: EMEA; 1998. (27164/98 Rev. 1).
7. European Medicines Evaluation Agency - EMEA. *Note for guidance on clinical investigation of medicinal products in children*. London: EMEA; 1997.
8. European Medicines Evaluation Agency - EMEA. *Better Medicines for Children. Proposed regulatory actions on Paediatric medicinal products*. European Commission 2 A.D.
9. Giannini EH, Ruperto N, Ravelli A, Lovell DJ, Felson DT, Martini A. Preliminary definition of improvement in juvenile arthritis. *Arthritis Rheum* 1997;40:1202-9.
10. Ruperto N, Ravelli A, Falcini F, Lepore L, De Sanctis R, Zulian F, *et al*. Performance of the preliminary definition of improvement in juvenile chronic arthritis patients treated with methotrexate. *Ann Rheum Dis* 1998;57:38-41.
11. Singh G, Athreya B, Fries JF, Goldsmith DP. Measurement of health status in children with juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1994;37:1761-9.
12. Landgraf JM, Abetz L, Ware JE. *The CHQ User's Manual*. Boston, MA: The Health Institute, New England Medical Center, 1996.
13. Ruperto N, Ravelli A, Pistorio A, Malattia C, Cavuto S, Gado-West L, *et al*. Cross-cultural adaptation and psychometric evaluation of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ) in 32 countries. Review of the general methodology. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:S1-S9.
14. Ruperto N, Ravelli A, Pistorio A, Malattia C, Viola S, Cavuto S, *et al*. The Italian version of the Childhood Health Assessment Questionnaire (CHAQ) and the Child Health Questionnaire (CHQ). *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:S91-S95.
15. Ruperto N, Martini A, for the Paediatric Rheumatology International Trials Organization (PRINTO). Use of unlabelled and off licence drugs in children. A European paediatric rule is needed to protect children. *BMJ* 2000;320:1210-1.
16. Conroy S, Choonara I, Impicciatore P, Mohn A, Arnell H, Rane AR, *et al*. Survey of unlicensed and off label drug use in paediatric wards in European countries. *BMJ* 2000;320:79-82.

LE MALATTIE RARE IN DERMATOLOGIA

Maya El Hachem, Andrea Diociaiuti
Dermatologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma

Nell'incontro del 5 dicembre 2002 presso l'Istituto Superiore di Sanità si è discusso delle patologie rare che coinvolgono più organi tra i quali la cute. Il nostro Istituto si è occupato da sempre della gestione di quelle patologie rare sia dermatologiche che quelle in cui le manifestazioni cutanee sono spia di patologia sistemica.

Riportiamo, dunque, un elenco di malattie per le quali il nostro Centro ha già un'esperienza clinica di lunga data:

- neurofibromatosi
- sclerosi tuberosa
- collagenopatie
- dermatosi bollosa ad Ig A lineari
- incontinenza pigmenti
- pseudo xantoma elastico
- sindrome di Ehlers Danlos
- sindrome di Goltz
- sindrome di Sweet
- xeroderma pigmentoso
- sindrome di Rothmund-Thomson
- epidermolisi bollose ereditarie
- ittioli
- displasia ectodermica.

Le manifestazioni cutanee ed extracutanee delle patologie sopracitate sono le seguenti:

- *Sindromi neurocutanee*
 - macchie caffè-latte
 - macchie acromiche
 - fibrangiomi
 - nevi elastici
 - nevi epidermici
 - neurinomi e neurofibromi
 - disturbi SNC
 - disturbi oculari
 - anomalie scheletriche.
- *Incontinenza pigmenti*
 - lesioni bollose, papulo cheratosiche e pigmentarie
 - interessamento oculare (fibroplasia retrolentale, cataratta)
 - interessamento del SNC (ritardo mentale, epilessia, idrocefalo)
 - anomalie dentarie
 - anomalie scheletriche
 - anomalie cardiache.

- *Pseudoxantoma elastico*
Anomalia genetica delle fibre elastiche
 - papule giallastre
 - interessamento oculare (strie angioidi)
 - interessamento vascolare (aneurismi, arterite degli arti inferiori)
 - interessamento del apparato gastroenterico (emorragie).
- *Sindrome di Ehlers Danlos*
Anomalia genetica delle fibre collagene
 - iperestensibilità cutanea e articolare
 - contusioni ed ecchimosi superficie estensoria arti inferiori
 - patologia dei grossi vasi (rottura di aorta e varici)
 - parodontopatia
 - patologia oculare.
- *Sindrome di Goltz*
 - lesioni aplasiche e/o ipoplasiche della cute
 - sindattilia
 - anomalie oculari.
- *Xeroderma pigmentoso*
Malattia genetica caratterizzata da difetti enzimatici del sistema di riparazione del DNA
 - numerose e precoci manifestazioni cutanee nelle zone fotoesposte
 - disturbi oculari.

Dalla breve esposizione si evince la molteplicità degli aspetti clinici di ogni patologia, la scarsa ed esigua sintomatologia in alcuni casi, da cui la difficoltà di un precoce e corretto inquadramento diagnostico, nonché la necessità di un approccio multidisciplinare nella gestione di questi pazienti.

Riteniamo ad oggi che la diagnosi e cura di queste patologie possa essere meglio pianificata e gestita creando una rete capillare di informazione che abbia come riferimento il pediatra di base, nonché creando sul territorio dei centri di riferimento suddivisi per competenze.

Sarebbe utile, infatti, distribuire presso gli ambulatori pediatrici e dei medici di base degli opuscoli informativi rivolti ai medici e magari anche ai genitori sui segni e sintomi relativi a queste patologie e indicare i recapiti ai quali rivolgersi per eventuali visite e accertamenti diagnostici.

Per quanto riguarda la definizione dei centri di riferimento riteniamo vantaggioso suddividerli in centri di gestione clinica e centri di ricerca; è importante tenere conto delle competenze delle varie strutture già attrezzate e di provata esperienza nell'ambito delle indagini di laboratorio relative a ciascuna patologia. Trattandosi di malattie rare la suddivisione in centri di riferimento regionali potrebbe essere di scarso aiuto.

L'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù si propone come riferimento per la gestione clinica delle suddette malattie rare offrendo la possibilità di eseguire le visite specialistiche le indagini strumentali alle quali è opportuno sottoporre i pazienti affetti da queste patologie.

EPIDERMOLISI BOLLOSE EREDITARIE

Mauro Paradisi, Corrado Angelo
Istituto Dermatopatico dell'Immacolata, Roma

Le Epidermolisi Bollose (EB) ereditarie comprendono un gruppo eterogeneo di malattie geneticamente trasmissibili caratterizzate da bolle ed erosioni su cute e mucose, in conseguenza di traumi anche minimi. Vi è un ampio spettro di quadri clinici, che va da forme compatibili con una qualità di vita quasi normale, ad altre molto gravi e precocemente letali.

Negli ultimi 10 anni sono stati infatti identificate, in 10 distinti geni, mutazioni specifiche della membrana basale (BMZ) con il conseguente chiarimento di molti aspetti della fisiopatologia esse.

Si distinguono tre grandi gruppi, caratterizzati dal livello di formazione della bolla:

1. EB semplici (EBS), con scollamento intraepidermico, a livello dei cheratinociti basali;
2. EB giunzionali (EBJ), con clivaggio a livello della lamina lucida;
3. EB distrofiche (EBD), con compromissione del versante dermico della BMZ, al di sotto della lamina densa.

Nel 1999 è stato rivisto il criterio di suddivisione delle tre forme, con una notevole semplificazione per l'eliminazione di sottotipi rarissimi o di dubbia autonomia nosologica (Tabella 1).

Tabella 1. Classificazione dell'EB

Classi	Sottoclassi
Epidermolisi bollosa semplice (EBS)	EBS-WC (Weber-Cockayne) EBS-K (Koebner) EBS-DM (Dowling-Meara) EBS-md (distrofia muscolare)
Epidermolisi bollosa giunzionale (EBJ)	EBJ-H (Herlitz) EBJ-nH (non Herlitz) EBJ-pa (atresia pilorica)
Epidermolisi bollosa distrofica (EBD)	DDEB (dominante) RDEB-HS (Hallopeau-Siemens) RDEB-nHS (non Hallopeau-Siemens)

Epidermolisi bollosa semplice

È la più frequente forma di EB, ed è normalmente trasmessa con modalità di tipo autosomico dominante. Le mutazioni riguardano i geni che codificano per le cheratine 5 (cromosoma 12q) e 14 (cromosoma 17q), che rappresentano le principali strutture del citoscheletro dei cheratinociti basali. Da un punto di vista clinico, la EBS-WC (Weber-Cockayne) presenta la comparsa di bolle prevalentemente a livello palmoplantare. Si manifesta normalmente nella prima infanzia e peggiora nei mesi estivi. Viene aggravata dall'iperidrosi che spesso si associa; mucose, annessi cutanei e denti appaiono normali.

La EBS-K (Koebner) colpisce invece gran parte dell'ambito cutaneo e può comparire già alla nascita. Le aree più colpite inizialmente sono quelle sottoposte a maggior frizione (talloni, gomiti, ginocchia, nuca); con gli anni la gravità di questa forma diminuisce. Le lesioni guariscono senza cicatrici e talvolta le mucose possono essere interessate.

Nella EBS-DM (Dowling-Meara) la morfologia delle lesioni cutanee è più caratteristica. La disposizione delle vescicole e delle bolle, avviene "a gruppi" con aspetti simili alla dermatite erpetiforme. Questa variante è normalmente assai più grave delle precedenti nei primi mesi di vita, tanto da porre problemi di diagnosi differenziale sia con EBJ che con EBD. Da un punto di vista istologico, si osserva un quadro "infiammatorio" con eosinofili e neutrofili. Alla ME si osserva un caratteristico reperto morfologico a carico dei cheratinociti basali (clumping), dovuto all'aggregarsi di cheratine alterate.

Col tempo, la EBS-DM migliora con una riduzione delle aree interessate, ma comparsa di cheratodermia palmoplantare e ispessimento ungueale. Residuano ipo e iperpigmentazione post-lesionali, ma non cicatrici.

La EBS-md, di rara osservazione, è l'unica forma di EBS che non è dovuta ad un disturbo delle cheratine, bensì ad un'alterata struttura della plectina. Questa proteina ha la funzione di collegare il citoscheletro con la superficie interna della membrana cellulare, sia a livello cutaneo che muscolare. Il fenotipo che ne risulta è assai grave, con estesa formazione di bolle (e cicatrici), associato a progressiva debolezza muscolare. La mortalità di questi pazienti è elevata.

Epidermolisi bollosa giunzionale

Le forme "giunzionali" divergono fortemente per gravità clinica. Vengono trasmesse con ereditarietà di tipo autosomico recessivo e il distacco ha luogo, per tutte, nella lamina lucida.

Gli studi di biologia molecolare hanno evidenziato una eterogeneità genetica delle diverse forme; che dipende dalla complessità strutturale degli emidesmosomi. La EBJ-H, può essere infatti dovuta ad alterazioni genetiche a carico di ciascuno dei tre geni che codificano per le subunità della laminina 5 ($\alpha 3$, $\beta 3$, $\gamma 2$), mentre la EBJ-nH può essere determinata da danni meno gravi a carico degli stessi geni, come da alterata produzione dell'antigene del pemfigoide bolloso (BP180 o collagene XVII). La EBJ-pa, infine, è originata da difetti a carico dei geni codificanti per le due subunità dell'integrina $\alpha 6\beta 4$. L'osservazione ultramicroscopica, dunque, permette di porre la diagnosi di EBJ, ma solo il mappaggio antigenico consente di valutare quale proteina sia ridotta o assente, e quindi di formulare la relativa prognosi.

Da un punto di vista clinico la EBJ-H si presenta in forma grave fin dalla nascita, con ampie aree erose e una cute estremamente fragile. Le mucose sono coinvolte e le lesioni guariscono con atrofia e rari milia. La sopravvivenza nei primi mesi di vita è messa in pericolo da sepsi e perdita di proteine, ma il termine "letale", usato in passato, è stato attualmente abbandonato, per una prognosi non sempre inevitabilmente fatale. La formazione di aree granuleggianti, soprattutto in sede periorifizia, contraddistingue, durante gli anni successivi, gli aspetti clinici di questa forma; i denti e le unghie sono spesso compromessi per deficit rispettivamente dello smalto, e per infezioni croniche granuleggianti.

Il termine di EBJ-nH comprende, invece, tutte le forme di EBJ a espressione fenotipica mite. La sopravvivenza è dunque buona fino all'età adulta e la comparsa di lesioni si attenua con il passare degli anni. La sintomatologia a carico di cute, mucose, denti e unghie è simile a quella osservata in EBJ-H, ma con minore intensità. È caratteristica di questa forma la riduzione degli annessi piliferi, che risulta in aree alopeciche a carico del cuoio capelluto, ciglia e sopracciglia. Sono segnalate iperpigmentazioni acquisite e, saltuariamente, comparsa di carcinomi spinocellulari.

Di rara osservazione è poi la EBJ-pa; la gravità dell'associazione fra lesioni cutaneo-mucose e piloriche risulta in un'elevata mortalità nei primi mesi di vita. I primi tentativi di alimentazione, sono seguiti da vomito non biliare; un miglioramento della prognosi fa seguito ad un precoce intervento di correzione dell'atresia pilorica. Sono frequenti le infezioni urinarie recidivanti.

Epidermolisi bollosa distrofica

In questo gruppo la trasmissione ereditaria può avvenire sia secondo un modello autosomico dominante che recessivo. Inoltre, a differenza di EBS e EBJ, un solo gene è coinvolto nella patogenesi dei vari sottotipi; si tratta del COL7A1, che codifica per il collagene VII, proteina costituente le fibrille ancoranti. Ne consegue che, all'osservazione ultramicroscopica, la formazione della bolla avviene in sede dermica superficiale, e che le fibrille ancoranti appaiono ridotte, alterate o assenti. L'immunofluorescenza diretta indicherà, in modo corrispondente, una riduzione o un'assenza di marcaggio con anticorpi anti-collagene VII. Con l'ampliarsi della casistica a disposizione, si è evidenziata una correlazione fra il tipo di danno genetico e le manifestazioni cliniche osservate: tanto più rilevante è il disturbo nella produzione della proteina, tanto più gravi saranno le manifestazioni cutanee.

La DDEB comprende le forme dominanti, un tempo designate con gli eponimi di Cockayne-Touraine e Pasini (albopapuloide). Attualmente riunite in un unico sottogruppo, riconoscono tutte, come causa genetica, le sostituzioni della glicina entro una ristretta zona della molecola del collagene VII (tripla elica).

Gli aspetti clinici principali consistono in limitate aree di scollamento con cicatrici e milia secondari, ma soprattutto in vari gradi di distrofia ungueale. Con il trascorrere degli anni, la gravità delle manifestazioni cliniche si attenua.

La RDEB-HS inizia fin dalla nascita, con estesa formazione di bolle cutaneo-mucose. La completa assenza di collagene VII causa una gravissima fragilità degli epitelii, con formazione di bolle di tipo siero-emorragico, anche spontanee. Alla lenta guarigione, che avviene con cicatrici e milia, segue la formazione di nuove lesioni con conseguenti danni a carico di organi e apparati (Tabella 2).

Tabella 2. Danni a carico di organi e apparati nella RDEB-HS e principali manifestazioni cliniche

Organo o apparato	Principali manifestazioni cliniche
Cute	Bolle, cicatrici, milia
Articolazioni	Contratture, anchilosi, sindattilia, deformità "a moncherino"
Cavo orale	Microstomia, anchiloglossia, carie dentarie, lingua disepitelizzata con riduzione delle papille
Occhi	Simblefaron, opacità e erosioni corneali
Emopoietico	Anemia, iposideremia, ipoprotidemia
Gastrointestinale	Stenosi esofagea, stipsi ostinata, fecalomi
Annessi cutanei	Alopecia cicatriziale, precoce perdita delle lamine ungueali

L'attesa di vita è ridotta; la principale causa di decesso è l'insorgenza di epitelomi spinocellulari, ad andamento aggressivo, con frequente metastatizzazione. Ogni area cutaneo-mucosa può essere colpita, in particolare modo gli arti.

Con il termine di RDEB-nHS, vengono indicate tutte le forme di EB distrofiche recessive che non presentano le caratteristiche cliniche della forma sopramenzionata. È dunque un gruppo molto eterogeneo, con vario grado di deficit del collagene VII e conseguenti aspetti clinici.

Diagnosi prenatale

È attualmente possibile, tramite un prelievo di villi coriali eseguito in un periodo precoce della gravidanza, conoscere in anticipo se il feto sarà o meno affetto da EB. Tale possibilità dipende dall'identificazione del danno genetico di cui i genitori sono portatori; ciò è generalmente possibile solo attraverso lo studio di un fratello già affetto da EB. Tale metodica è normalmente limitata alle forme più gravi (RDEB-HS e EBJ).

Note di terapia

Se la genetica molecolare ha compiuto enormi passi avanti, la terapia dell'EB resta fortemente frustrante. Nessun farmaco somministrato per via sistemica (fenitoina, corticosteroidi, anti-malarici, Vit E, ecc.) ha mostrato, in studi controllati, una reale efficacia nel ridurre la formazione delle bolle. Le maggiori speranze sono rivolte alla possibilità futura di trapiantare cloni di cheratinociti del paziente, "riparati" geneticamente. In attesa di ciò, i maggiori benefici si ottengono da medicazioni ben eseguite. Queste devono proteggere la cute dai traumi, risolvere le infezioni locali, e, soprattutto, non causare scollamento alla loro rimozione (mai cerotti!).

Particolare cura va rivolta alle condizioni generali del paziente (correzione di stati anemici, disprotidemici e dismetabolici); sorveglianza e rimozione chirurgica di neoplasie; trattamento delle deformità a carico delle mani (intervento di sbrigliamento delle cicatrici mutilanti), e della stenosi esofagea (dilatazione con palloni-sonda).

Soprattutto per il paziente RDEB-HS comunque, i problemi sono talmente numerosi e variabili, da rendere ogni caso a sé stante, con peculiari necessità.

Bibliografia

- Eady RAJ. Epidermolysis bullosa. In: Champion RH, Burton JL, Edling FJG (Ed.). *Textbook of dermatology*. 6th ed. Oxford: Blackwell Science; 1998. p. 1817-44.
- Fine JD, Eady RAJ, Baurer EA, *et al*. Revised classification system for inherited epidermolysis bullosa. Report of the Second International Consensus meeting on diagnosis and classification of epidermolysis bullosa. *J Am Acad Dermatol* 2000;42(6):1051-66.
- Uitto J, Eady RAJ, Fine JD, *et al*. The DEBRA International visioning/consensus meeting on Epidermolysis bullosa: summary and recommendations. *J Invest Dermatol* 2000;114(4):734-7.

LE ITTIOSI

Mauro Paradisi, Corrado Angelo
Istituto Dermatopatico dell'Immacolata, Roma

Definizione ed epidemiologia

Le ittiosi rappresentano un vasto gruppo di disordini della cheratinizzazione (corneificazione), clinicamente caratterizzate dalla presenza di squame visibili su gran parte o tutta la superficie cutanea. Possono essere acquisite o genetiche; se compaiono in età adulta conseguono a neoplasie, disordini nutrizionali, metabolici o farmaci. L'ispessimento dello strato corneo, tipico delle ittiosi, può derivare dall'aumento dell'attività proliferativa delle cellule basali o da difetti di adesione intercellulare per anomalie proteiche e/o lipidiche delle cellule epidermiche.

Le ittiosi di tipo ereditario possono essere classificate in Ittiosi volgare (ADI), Ittiosi legata al cromosoma X (XLI), Ipercheratosi epidermolitiche (EH), Ittiosi lamellari congenite (LI), Ittiosi sindromiche (Tabella 1).

Tabella 1. Classificazione e caratteristiche delle Ittiosi

Malattia	Ereditarietà	Incidenza	Difetto	Forme cliniche
Ittiosi volgare	AD	1:300	Alterata espressione profilagrina/filagrina	
Ittiosi X linked	AR	1:6000	Deficit steroido-sulfatasi	
Ittiosi lamellari	AR AD	1:300.000	Deficit transglucaminasi Tipo I	Ittiosi lamellare eritrodermica (ELI) e non eritrodermica (NELI), Feto Arlecchino, ADLI
Ipercheratosi Epidermolitiche (eritrodermia ittiosiforme bollosa)	AD	1:200.000	Alterazione citocheratine K1, K10, K2e	Eritrodermia ittiosiforme bollosa generalizzata, Ittiosi di Siemens, Ittiosi di Curth-Macklin
Ittiosi complesse sindromiche	AD AR		Variabile (difetto metabolico lipidico, enzimopatia, sconosciuto)	S. di Sjogren-Larsson, S. di Rud, S. di Refsum, ecc.

AD: Autosomica Dominante; AR: Autosomica Recessiva

Caratteristiche cliniche e decorso

L'ittiosi autosomica dominante o volgare è la più frequente ittiosi ereditaria, si manifesta durante il primo anno di vita con comparsa di piccole squame bianco-grigiastre che interessano soprattutto le superfici estensorie degli arti in modo simmetrico e si associano a xerosi della cute del viso con desquamazione a livello del capillizio. Può associarsi a cheratosi pilare localizzata alle superfici estensorie delle braccia, cosce e glutei e talvolta ad alopecia cicatriziale diffusa. Si

differenzia clinicamente dalle eritrodermie congenite ittiosiformi e dall'ittiosi lamellare per il risparmio delle grandi pieghe. Inoltre, a differenza della forma recessiva legata all'X, le palme sono xerotiche. Nel 35% dei casi si associa ad atopia, il decorso è favorevole con l'età, mentre risulta sostanzialmente stabile o peggiore negli altri tipi, l'aspetto clinico tende a migliorare in estate e a peggiorare nei mesi invernali. L'ittiosi volgare è caratterizzata da un'ipercheratosi da ritenzione, sebbene la patogenesi molecolare sia ancora sconosciuta, alla microscopia elettronica i granuli di cheratoialina sono assenti o ridotti, per alterazioni biochimiche nell'espressione del complesso profilagrina/filagrina

L'ittiosi legata al cromosoma X è trasmessa con modalità recessiva legata al sesso e ha una prevalenza compresa tra 1/2000 e 1/6000. Si manifesta alla nascita o poco dopo, con espressione completa nel sesso maschile. Interessa gli arti superiori e inferiori in modo simmetrico, e le superfici laterali del viso e collo; come nell'ittiosi volgare le grandi pieghe non sono rispettate. Le squame sono generalmente più grandi e più spesse rispetto a quelle dell'ittiosi dominante e di colore bruno-nerastro, inoltre nelle forme estese definite "ichthyosis nigricans" la cute assume un aspetto "sporco". Le palme sono normali e manca la cheratosi pilare. In più di un terzo dei casi alla lampada a fessura si evidenzia una distrofia della membrana limitante posteriore della cornea o membrana di Descemet. Nell'ittiosi legata all'X l'aspetto della cheratoialina è normale e lo strato granuloso risulta conservato. La carenza dell'enzima steroido-sulfatasi comporta un aumento del colesterolo solfato epidermico che causa ipercheratosi da ritenzione. Il difetto molecolare più frequente nella XLI è la delezione completa del gene che codifica per la steroido-sulfatasi, che è localizzato su Xp22.3; la determinazione dell'attività enzimatica conferma la diagnosi di XLI.

Il difetto dell'enzima steroido-sulfatasi si ripercuote a livello placentare determinando un aumento delle complicanze ostetriche nelle madri portatrici.

Nell'ipercheratosi epidermolitica generalizzata (ancora chiamata eritrodermia congenita ittiosiforme bollosa) il quadro è caratterizzato da eritrodermia, squame verrucose prevalenti alle pieghe, bolle ed erosioni superficiali, facilità alle infezioni, macerazione cutanea con conseguente cattivo odore e prurito. Successivamente, tra i 2 e 4 anni, le bolle si riducono e compare un'ipercheratosi diffusa di colore giallo-nerastro, che alle pieghe e sul dorso delle mani e dei piedi assume un aspetto "a pelle di serpente".

L'ittiosi bollosa di Siemens si presenta con un quadro clinico simile ma in forma più lieve, con ipercheratosi limitata a livello delle articolazioni, e modesta eritrodermia. Nell'ipercheratosi epidermolitica generalizzata sono state riscontrate anomalie nella citocheratina K1, K10 e nell'ittiosi di Siemens della cheratina K2e, che è una delle principali componenti del citoscheletro nel granuloso. Inoltre, il quadro istologico dell'ittiosi bollosa di Siemens è identico a quello dell'eritrodermia congenita ittiosiforme bollosa, tuttavia le alterazioni sono più superficiali nello strato granuloso.

L'ittiosi lamellare è caratterizzata dalla presenza di grandi squame a lembo, di colore bruno. Le pieghe sono sempre interessate, il disturbo è generalizzato e spesso si associa ad ectropion.

Il Feto Arlecchino è la forma di ipercheratosi più grave, rara, e rischiosa per la vita del bambino che appare coperto da grandi placche ipercheratosiche separate da fessurazioni. Questo involucro rigido impedisce i movimenti, anche respiratori. La patologia può associarsi, inoltre, ad eversioni labiali e palpebrali e a malformazione dei padiglioni auricolari.

Il collodion baby è una condizione clinica caratterizzata da cute lucente che sembra verniciata di collodio rappreso. Rappresenta nella maggioranza dei casi il primo segno di una eritrodermia ittiosiforme congenita e di ittiosi lamellare e solo nel 10% dei casi si può attribuire all'ittiosi volgare, mentre non è mai dovuto ad ittiosi legata all'X. La membrana rigida che copre il bambino è costituita da squame cornee sovrapposte e causa ectropion, eversione delle labbra, dita bloccate in semi-flessione e orecchie raggrinzite. Questa condizione non tende a

guarire spontaneamente e rappresenta un rischio di mortalità anche per le complicanze infettive e metaboliche.

Le ittiosi congenite lamellari, che generalmente esordiscono con un quadro di Collodion Baby, possono successivamente evolvere in una forma con (ELI) o senza (NELI) eritrodermia persistente, spesse squame piatte, variabile grado di ectropion, possibili squilibri elettrolitici. L'etretinato ha permesso ad alcuni casi di Feto Arlecchino, abitualmente letale, di sopravvivere come ELI.

Nelle ittiosi sindromiche vi è associazione variabile con gravi danni neurologici, oculistici e scheletrici.

Le ittiosi lamellari sono geneticamente eterogenee e caratterizzate istologicamente da ipercheratosi da proliferazione; in alcuni casi sembra coinvolto il gene codificante per la transglucaminasi di tipo I che provoca un aumento della cinetica cellulare. Nella cute dei neonati affetti da feto arlecchino è ridotta l'espressione dell'enzima proteasi neutra attivata dal calcio, la calpaina I; enzima che non è alterato nella cute fetale normale e in altre patologie iperproliferative e ipercheratosiche. Questi elementi suggeriscono che l'espressione di questo enzima svolga un ruolo importante nello sviluppo e nella differenziazione dell'epidermide. Il quadro istologico del Feto Arlecchino è caratterizzato da acantosi e ipercheratosi severe, l'elemento patognomonico si riscontra alla microscopia elettronica e consiste nell'assenza dei dischi lipidici a livello dei corpi lamellari di Odland.

Diagnosi

La diagnosi delle ittiosi risulta facile per l'ittiosi volgare, tuttavia nella maggior parte dei casi richiede il confronto tra i dati clinici, istologici, ultrastrutturali e biochimici. La valutazione dell'età di esordio permette di differenziare le forme volgari da quelle congenite. L'assenza o la presenza di alterazioni a carico di altri organi consente di distinguere tra ittiosi puramente cutanee e ittiosi facenti parte di sindromi complesse. L'istologia mostra una ipercheratosi ortocheratosica con riduzione dello strato granuloso nell'ittiosi volgare, mentre quest'ultimo appare normale o poco ispessito nell'ittiosi legata al cromosoma X. In quest'ultima si riscontra all'elettroforesi un'anomalia delle lipoproteine. Il test diagnostico è comunque il dosaggio enzimatico della steroido-sulfatasi dai fibroblasti in coltura. Alcuni autori classificano le ittiosi lamellari in quattro forme sulla base dei dati ultrastrutturali. Anche il tricogramma può rappresentare una tappa importante nella diagnosi delle ittiosi congenite, infatti permette di evidenziare la tricoressi invaginata nei casi di sindrome di Netherton.

In presenza di ittiosi è utile eseguire un accurato albero genealogico per risalire alle modalità di trasmissione.

Trattamento

Il tipo di trattamento impiegato dipende dal tipo di ittiosi e dalla gravità del quadro clinico. Infatti mentre nelle forme lievi di ittiosi volgare o di ittiosi legata all'X è sufficiente un trattamento locale, nelle ittiosi severe come quelle lamellari, sindromiche, o nelle ipercheratosi epidermolitiche è necessario l'impiego di una terapia generale associata.

Il trattamento deve essere correlato all'età del paziente, alle aree interessate e all'estensione della malattia. Poiché la dose totale di farmaco assorbita attraverso la cute dipende dal rapporto tra superficie cutanea e peso del paziente e questo rapporto nel neonato risulta superiore a quello

dell'adulto, è preferibile evitare nel primo l'impiego di farmaci tossici. A tale proposito l'impiego frequente in passato dell'acido salicilico, come cheratolitico alle concentrazioni variabili dal 5% al 10%, è attualmente da proscrivere per il rischio di intossicazione sia negli adulti sia nei bambini. In età infantile l'intossicazione acuta, caratterizzata tinnito, ipertermia, convulsioni, depressione respiratoria, può avere esito letale.

Bisogna prestare attenzione ai problemi internistici correlati alle forme gravi di ittiosi oltre che al rischio di squilibri idro-elettrolitici, colpi di calore e alterazione della termoregolazione nelle forme eritrodermiche. Il trattamento ideale ha lo scopo di migliorare l'idratazione, di ottenere la cheratolisi e di modulare la cheratinizzazione.

Le terapie raccomandate sono fundamentalmente di due tipi:

- a) terapie che normalizzano la cheratinizzazione;
- b) sostanze cheratolitiche che migliorano l'idratazione.

Terapie che normalizzano la cheratinizzazione

I retinoidi sistemici come l'etretinato e il suo metabolita attivo acitretina risultano notevolmente efficaci nel trattamento delle ittiosi grazie alla capacità di agire selettivamente sui disordini della cheratinizzazione. L'etretinato è stato il retinoide per primo impiegato nelle forme gravi di ittiosi al dosaggio di 1mg/kg/die, in fase iniziale, per 1-3 mesi, con successiva riduzione a 0,5 mg/kg/die.

L'acitretina risulta più maneggevole e meglio tollerata. L'indice terapeutico dei retinoidi impone di riservare l'uso di questi farmaci alle forme più severe di ittiosi. Essi risultano soprattutto efficaci nel trattamento dell'LI ed EI, mentre sono solo moderatamente utili nell'EH. Infatti, siccome i retinoidi aromatici possono aumentare la fragilità cutanea agendo sull'adesione intercheratinocitaria, si può osservare nell'EH un aumento della componente bollosa della malattia; pertanto è consigliabile iniziare con dosaggi inferiori (0,5-0,3 mg/kg/die) e sempre in associazione a trattamenti topici. Anche nella sindrome di Netherton sono scarsamente efficaci.

Gli effetti collaterali sono dose-dipendenti, quelli cutanei appaiono quasi costantemente e consistono in cheilite, xerodermia e desquamazione cutanea, ridotta tolleranza alla cute, a lungo termine anche fragilità cutanea e talvolta paronichia. Altri possibili effetti collaterali consistono in cefalea, alopecia reversibile, aumento transitorio delle transaminasi, bilirubina e trigliceridi, alterazioni della visione notturna, epistassi, artromialgie, raramente ipertensione intracranica e anomalie scheletriche. Alcuni studi hanno evidenziato che gli effetti collaterali ossei (es. iperostosi, condensazione ossea, calcificazione extra-scheletrica dei tessuti molli e dei legamenti) sono sempre presenti dopo 4-6 anni di terapia, mentre la crescita e lo sviluppo complessivo osseo risultano normali, anche se in alcuni casi è stata segnalata una precoce chiusura delle epifisi.

Il pericolo di danni causati da retinoidi è stato comunque ridimensionato negli ultimi anni, per diminuire l'incidenza di tale rischio, quando possibile, è consigliabile alternare cicli di terapia a periodi di astensione dal trattamento, soprattutto durante il periodo estivo poiché si verifica una maggiore sensibilità cutanea indotta dai retinoidi alla luce solare.

Il monitoraggio radiografico nei bambini non sembra offrire vantaggi significativi nei confronti dell'osservazione clinica. È consigliata una radiografia di controllo per lesioni ossee solo in casi sintomatici. Invece, prima di iniziare il trattamento con retinoidi sistemici è necessario effettuare controlli clinico-laboratoristici, allo scopo di evitare di includere pazienti con dislipidemie, epatopatie, gravidanze in atto. Il controllo dell'assetto lipidico e della funzionalità epatica andrà ripetuto mensilmente nelle prime fasi di terapia e in seguito ad intervalli maggiori.

Il principale effetto collaterale dei retinoidi sistemici è l'accertata teratogenicità, che impone il consenso informato e misure efficaci di contraccezione in donne in età fertile, fino a 24 mesi dopo la fine della terapia.

Per evitare gli effetti collaterali sistemici, in alcuni casi è preferibile l'impiego topico degli acidi retinoici. Questi dopo adesione a proteine cellulari leganti l'acido retinoico (CRABP), interagiscono con specifici recettori nucleari che trasducono il segnale a livello genico.

Alcuni studi evidenziano l'efficacia dell'acido 13-cis retinoico (isotretinoina) in crema allo 0,1% nel trattamento delle ittiosi, per la sua capacità di ridurre la desquamazione e migliorare la levigatezza cutanea, tuttavia, presentando un effetto irritativo minore dell'acido trans-retinoico (tretinoina) è sconsigliata nelle forme eritrodermiche e in presenza di atopìa.

Il calcipotriolo topico o forma biologicamente attiva della vitamina D3 (1,25-diidrossivitamina D3), risulta efficace soprattutto nel trattamento dell'ittiosi lamellare ed epidermolitica, per la capacità di stimolare la differenziazione terminale dei cheratinociti epidermici e inibirne la proliferazione.

L'applicazione topica di calcipotriolo allo 0,05% in crema due volte al giorno per almeno dodici settimane risulta moderatamente efficace e ben tollerato. È possibile trattare anche il 15-20% della superficie cutanea, non superando la dose settimanale di 120g per il rischio di crisi ipercalcemica.

Sostanze cheratolitiche che migliorano l'idratazione

L'urea in crema o in unguento al 10-20% è impiegata con efficacia nel trattamento delle ittiosi. Il meccanismo di azione è solo parzialmente conosciuto, ma sembra correlato all'attività proteolitica (per concentrazioni del 6-30%), all'attività cheratolitica che porta alla riduzione dello strato corneo per eliminazione delle squame e inoltre all'aumento del legame tra acqua e strato corneo. Per tale motivo, la crema all'urea al 10% favorisce l'idratazione dello strato corneo, induce la differenziazione epidermica, riduce l'iperproliferazione epidermica, non presenta effetti collaterali indesiderati anche se può causare bruciore su cute irritata e atopica.

Gli alfa-idrossiacidi (AHA) o simple organic hydroscopic acid, sono così denominato perché presentano nella struttura chimica un ossidrilico che si lega all'atomo di carbonio in posizione alfa. Gli AHA rappresentano una famiglia di sostanze che comprendono l'acido lattico, piruvico, malico e glicolico, il primo è il più utilizzato nella terapia delle ittiosi. Si differenziano dai normali cheratolitici in quanto agiscono riducendo la coesione dei corneociti neoformati a livello dello strato corneo profondo senza esercitare alcun effetto sulle cellule più superficiali. Stimolano il turnover dell'epidermide e favoriscono inoltre la penetrazione di altre sostanze associate. Creme con l'acido lattico all'8% sono efficaci nel ridurre l'ipercheratosi associata all'ittiosi e nell'aumentare l'idratazione dello strato corneo.

Una formulazione semplice ed efficace a base di acido lattico è la seguente: acido lattico g 5, acqua ml 40, etanolo ml 35, glicole propilenico g 20. La preparazione è applicata 4 volte al giorno per 1-3 settimane, in seguito le medicazioni si riducono ad 1-2 al giorno a secondo della situazione clinica.

Il meccanismo d'azione spiega la maggiore efficacia dell'acido lattico nel trattamento dell'ittiosi legata all'X, caratterizzata da un'aumentata coesione cellulare, rispetto all'ittiosi lamellare, quest'ultima caratterizzata da un'alterata cinetica cellulare .

Il glicole propilenico efficace cheratolitico, è usato nell'ittiosi per rimuovere le squame alla concentrazione del 40-70% in acqua con medicazione occlusiva la sera, coprendo la parte con uno strato di pellicola impermeabile. Si deve evitare l'uso contemporaneo su vaste superfici cutanee, specie nei bambini. Il glicole propilenico può essere impiegato in concentrazione minore associato ad altre sostanze. Possiede, inoltre, un'azione umettante per cui aumenta il

contenuto di acqua dello strato corneo, tuttavia può causare irritazione cutanea e una dermatite da contatto anche a basse concentrazioni.

Bibliografia

Paradisi M, Giannetti A. The ichthyoses. In: Katsambas, Lotti (Ed.). *European handbook of dermatological treatments*. Berlin: Springer Verlag; 1999.

Traupe H. *The ichthyoses. A guide to clinical diagnosis, genetic counseling and therapy*. Berlin: Springer Verlag; 1989.

MALATTIE LISOSOMIALI: ASPETTI CLINICO-DIAGNOSTICI

Generoso Andria (a), Bruno Bembi (b)

(a) Dipartimento di Pediatria, Università Federico II, Napoli

(b) IRCCS Burlo Garofalo, Trieste

Le malattie lisosomiali d'accumulo rappresentano un gruppo di errori congeniti del metabolismo costituito a tutt'oggi da 46 diverse malattie. La frequenza di queste patologie, considerate come gruppo, è stata calcolata intorno ad 1 caso su 5000-7500 neonati. La modalità di trasmissione è generalmente di tipo autosomico recessivo tranne in pochi casi (m. di Fabry, m. di Danon, MPS II) in cui il meccanismo è diagenico, legato al cromosoma X.

La maggior parte di queste malattie è dovuta al deficit di uno specifico enzima nei lisosomi dei vari tessuti. In qualche caso il difetto consiste nell'alterata localizzazione degli enzimi all'interno dei lisosomi (come nella mucopolipidosi II o I-cell disease), oppure in un alterato trasporto di piccole molecole all'esterno dei lisosomi (cistinosi) o ancora nel deficit di proteine di piccolo peso molecolare, che partecipano come attivatori nella degradazione di sfingolipidi (es. deficit di saposina B).

Il ruolo biologico degli enzimi lisosomiali è quello della degradazione intracellulare di macromolecole, fino a composti di basso peso molecolare; conseguentemente, la loro carenza determina un accumulo di materiale non degradato all'interno dei lisosomi. L'effetto clinico varia a seconda che il processo di accumulo interessi solo i tessuti periferici (cistinosi) o determini anche un coinvolgimento del sistema nervoso centrale (sfingolipidosi). Vanno inoltre sottolineate l'ampia variabilità fenotipica, in quadri clinici sostenuti dallo stesso difetto enzimatico, e la discreta eterogeneità genetica nell'ambito di fenotipi simili.

Sulla base del materiale accumulato, le malattie lisosomiali sono tradizionalmente classificate in vari sottogruppi, denominati, per esempio, mucopolisaccaridosi, mucopolipidosi, oligosaccaridosi, sfingolipidosi.

La diagnosi clinica dello specifico disordine non è facile in quanto le caratteristiche sono poco specifiche. Un ausilio è fornito dalla ricerca di materiale accumulato nelle urine, ma questo è possibile con una certa facilità solo nel caso dei mucopolisaccaridi, degli oligosaccaridi e dei solfatidi, rispettivamente per le mucopolisaccaridosi, le oligosaccaridosi e la leucodistrofia metacromatica. Una conclusione diagnostica definitiva si può ottenere con i dosaggi enzimatici, preferibilmente in leucociti o fibroblasti coltivati in vitro e, nel caso di una diagnosi prenatale, in amniociti o villi coriali.

A seguito della definizione delle basi molecolari delle singole malattie lisosomiali è disponibile anche un approccio diagnostico basato sull'analisi del DNA in famiglie informative.

Tuttavia esiste ancora un ruolo fondamentale del clinico nel sospettare una possibile malattia lisosomiale in un soggetto e avviare l'opportuno iter diagnostico.

Sono di seguito riportate alcune delle caratteristiche cliniche comuni a più malattie lisosomiali, che possono orientare talvolta verso uno specifico sospetto:

- ascite neonatale da causa ignota o idrope fetale non immune;
- cardiomiopatia con ipotonia;
- epato(spleno)megalia;
- facies grossolana; displasia scheletrica con o senza bassa statura; limitazione dei movimenti articolari; irsutismo;

- linfociti vacuolati;
- degenerazione neurologica progressiva;
- macchia rosso ciliegia al fundus; opacità corneale;
- oftalmoplegia verticale supranucleare; neuropatia periferica; leucodistrofia alla TAC;
- mioclonie; atassia; angiokeratoma corporis diffusum.

È appena il caso di sottolineare che la diagnosi precisa di malattia lisosomiale, oltre a rivestire un'importanza fondamentale per la consulenza genetica, è oggi altrettanto importante per individuare possibili candidati a trattamenti innovativi, quali la terapia enzimatica sostitutiva, trapianti d'organo o di tessuto, terapie farmacologiche con inibitori della sintesi del substrato accumulato e, in prospettiva, la terapia genica.

Tutti questi aspetti sottolineano anche la necessità di sviluppare studi di epidemiologia e conoscenza della storia naturale di queste malattie, al fine di ottenere dati informativi sulla loro reale incidenza, sulla rilevanza delle correlazioni genotipo/fenotipo, sull'eterogeneità fenotipica, e sulla possibilità di stadiazione delle singole patologie a fini terapeutici e di monitoraggio della loro efficacia.

MALATTIE METABOLICHE EREDITARIE AD ESORDIO TARDIVO

Maria Alice Donati, Enrico Zammarchi
Dipartimento di Pediatria, Università di Firenze

Introduzione

Gli Errori Congeniti del Metabolismo (ECM) sono difetti geneticamente determinati di una proteina spesso con funzione enzimatica. Il difetto, parziale o completo, è responsabile della “patologia” con meccanismi patogenetici diversi peraltro non ancora completamente noti per alcune forme:

- accumulo di materiali a monte del difetto (es. fenilalanina nella fenilchetonuria, glicogeno nelle glicogenosi);
- produzione di prodotti collaterali tossici (es. psicosina nella m. di Krabbe);
- difetto del prodotto a valle del blocco enzimatico (es. energia in malattie mitocondriali, neurotrasmettitori nei difetti di tirosina idrossilasi, di decarbossilasi degli aminoacidi aromatici e di diidropteridina reductasi).

Attualmente sono conosciuti circa 400 difetti geneticamente determinati e correlati a patologia, ma considerando che il numero degli enzimi presenti nell’organismo umano viene stimato intorno a 10.000, è facilmente ipotizzabile che le patologie da ECM ancora da individuare siano numerose. È inoltre ipotizzabile che alcuni difetti metabolici, ad esempio correlati alla sintesi di DNA e RNA, siano incompatibili con la vita e possano essere responsabili dell’alta frequenza di aborti spontanei specie in comunità ad elevata endogamia con segregazione di difetti in omozigosi.

Nuovi difetti metabolici vengono “continuamente” individuati; è recente per esempio la descrizione del difetto di timidina fosforilasi, enzima importante nella regolazione della disponibilità di timidina per la sintesi del DNA e quindi particolarmente importante per la sintesi del DNA mitocondriale, che presenta alta velocità di replicazione. Tale difetto enzimatico è responsabile della sindrome MNGIE, caratterizzata da leucodistrofia, neuropatia periferica e disturbi gastroenterici pseudostruttivi. Altri difetti di molto recente individuazione coinvolgono il metabolismo del colesterolo (desmosterolosi e latosterolosi) e sono associati a malformazioni multiple.

Singolarmente rari, se considerati nel loro insieme gli ECM hanno un’incidenza relativamente alta. Attualmente si ritiene infatti che circa 1 neonato ogni 200 ne sia affetto.

Per la maggior parte di essi l’ereditarietà è di tipo autosomico recessivo. Più raramente la trasmissione è X-linked (es. difetto di ornitina carbamil transferasi, m. di Hunter, ecc.), e ancora più rare sono le forme ad ereditarietà autosomica dominante (alcune forme di oftalmoplegia esterna progressiva, difetto di GTP-cicloidrolasi). Una modalità di trasmissione emergente è quella matrilineare che interessa le malattie da difetto del DNA mitocondriale, essendo i mitocondri di origine esclusivamente materna; gli studi dei rapporti tra DNA nucleare e DNA mitocondriale hanno permesso di individuare un’ereditarietà nucleare per patologie mitocondriali che coinvolgono secondariamente il DNA mitocondriale (difetti di comunicazione intergenomica).

È opinione comune che negli ECM un coinvolgimento neurologico sia sempre presente. Questo non è sempre vero, perché in alcune malattie metaboliche sono prevalentemente

interessati altri organi e apparati, mentre il coinvolgimento neurologico può essere minimo o addirittura assente. In caso di interessamento del sistema nervoso (SN), tutti i neuroni, o sistemi di neuroni funzionalmente correlati o solo alcune parti di questi sistemi possono essere interessati dalla malattia, quali ad esempio gli assoni, la guaina mielinica, gli oligodendrociti, gli astrociti, le cellule di Schwann, le connessioni sinaptiche, i neurotrasmettitori, i neuromodulatori. All'espressione del corredo sintomatologico possono contribuire, oltre all'interessamento del SN, altre strutture dell'organismo quali fegato, cuore, scheletro, occhio, rene, cute e annessi, ecc.

Le lesioni cerebrali possono precedere le manifestazioni cliniche. Infatti in alcune malattie il SN inizia ad essere coinvolto già in utero, durante la vita fetale e alla nascita sono già evidenti importanti danni cerebrali. In alcuni di questi casi, durante il periodo embrio-fetale possono strutturarsi veri e propri quadri di tipo malformativo quali l'agenesia del corpo calloso, o disordini della migrazione neuronale ecc (es. malattie perossisomiali, disordini del metabolismo del piruvato, alcune acidurie organiche, iperglicinemia non chetotica, difetto di fumarasi). In alcune encefalopatie metaboliche le cui manifestazioni cliniche si evidenziano a volte a distanza di pochi mesi dalla nascita, in realtà il danno del SN può essere presente già in epoca fetale. Per quelle malattie ad esordio più tardivo, anche molti anni dopo la nascita, diversi fattori intrinseci ed estrinseci possono spiegare il ritardo e la variabilità della sintomatologia che tende ad essere meno grave e limitata a determinati sistemi neuronali. Fattori che influenzano questa variabilità possono essere individuati nell'attività enzimatica residua e nel genotipo.

Una precisa e dettagliata Anamnesi Familiare può fornire dati utili. La consanguineità dei genitori può essere un elemento utile per un sospetto posto su base clinica o in rapporto ad alcuni esami anche routinari; gli ECM infatti sono per la maggior parte ad ereditarietà autosomica recessiva. L'exitus da causa incerta può indirizzare genericamente verso ECM o più specificamente, in caso di numerose morti in soggetti maschi, verso un difetto X-linked (deficit di ornitina carbamiltransferasi, difetto del complesso E1a della piruvato deidrogenasi, sindrome di Barth). La negatività dell'anamnesi familiare non esclude un ECM perchè l'ereditarietà autosomica recessiva di difetti rari e la scarsa natalità rendono tali casi sporadici. Importanti nell'indirizzare la diagnosi possono essere l'anamnesi circa le abitudini alimentari del paziente e/o di familiari (rifiuto di cibi proteici, di frutta e dolci) o un'eventuale relazione temporale fra l'inizio delle manifestazioni acute e l'ingestione di alimenti.

Gli ECM possono dar luogo a manifestazioni cliniche differenti o di differente entità; ad esempio manifestazioni neurologiche (ritardo mentale, disturbi psichici) in un familiare o il rifiuto di cibi proteici nella madre (deficit di ornitina carbamiltransferasi), possono essere elementi da non sottovalutare.

In un soggetto con un quadro clinico suggestivo, eventualmente supportato da una anamnesi familiare e personale, l'iter diagnostico deve essere intrapreso il più presto possibile, soprattutto per i casi ad esordio acuto, nei quali la prognosi è tanto migliore quanto più precoce sono la diagnosi e l'inizio della terapia specifica, ovviamente quando disponibile. A causa dell'importanza del consiglio genetico alla famiglia, l'eventualità di una diagnosi di ECM deve essere attentamente valutata, anche per quelle forme a decorso cronico progressivo a prognosi sfavorevole. Infatti, per molti di essi è disponibile la diagnosi prenatale che può essere eseguita mediante studi biochimici e/o enzimatici e/o molecolari su liquido amniotico o amniociti o villi coriali.

Sulla base della loro presentazione clinica e dell'epoca di esordio gli ECM possono essere schematicamente suddivisi in quelli ad esordio acuto, neonatale o tardivo, e quelli a decorso cronico. Sia le forme ad esordio acuto neonatale che tardivo possono avere poi manifestazioni acute intermittenti.

Esordio acuto tardivo e crisi acute intermittenti

Le manifestazioni cliniche acute possono essere tardive con esordio non solo nelle età pediatriche successive, ma anche nell'adolescenza o nell'età adulta. L'esordio acuto tardivo, oltre che in malattie già conosciute per questo tipo di manifestazioni, è stato riportato anche in malattie note per l'andamento cronico progressivo, come ad esempio nella sindrome di Leigh, della quale recentemente è stata descritta una presentazione acuta fulminante. I principali gruppi di patologie in cui si può verificare un esordio acuto tardivo sono gli stessi responsabili dell'esordio acuto neonatale (Tabella 1).

Tabella 1. ECM: cause di esordio acuto

Difetti causa di intossicazione	Difetti di produzione di energia
Aminoacidopatie	Glicogenosi
Acidurie organiche	Difetti della gluconeogenesi
Difetti del ciclo dell'urea	Difetti della beta-ossidazione
Difetti del metabolismo dei carboidrati da intolleranza	Difetti della catena respiratoria
	Malattie mitocondriali

Altri ECM possono essere responsabili di manifestazioni acute come ad esempio alcune porfirie e in particolare la Porfiria Acuta Intermittente con crisi di dolori addominali, disturbi psichici e polineuropatia scatenati a volte dalla somministrazione di barbiturici, o la malattia di Hartnup con sintomi psichiatrici e atassia. Altri ECM, che possono manifestarsi nell'infanzia con episodi acuti di atassia volte associati a letargia e vomito, sono di seguito elencati:

- difetti della beta-ossidazione
- deficit di piruvato carbossilasi
- difetto di piruvato deidrogenasi
- malattia di Leigh
- malattia delle urine a sciroppo d'acero
- altre aminoacidopatie
- acidurie organiche
- difetti del ciclo dell'urea
- malattia di Hartnup
- difetto di biotinidasi
- deficit di fruttosio 1,6 difosfatasi.

Tali episodi si presentano spesso in concomitanza di episodi febbrili o assunzione di particolari alimenti. Alcuni eventi possono precipitare l'episodio acuto e in caso di episodi acuti-ricorrenti la presenza di uno stesso evento precipitante può indirizzare la diagnosi (Tabella 2) (1).

L'anamnesi circa le abitudini alimentari (rifiuto di cibi proteici, di frutta e dolci) del paziente e/o di familiari o un'eventuale relazione temporale fra l'inizio delle manifestazioni acute e l'ingestione di alimento, possono essere importanti nell'indirizzare la diagnosi. La sintomatologia acuta può insorgere infatti successivamente a modificazioni dietetiche: inizio dell'allattamento (galattosio → galattosemia); svezzamento (maggior apporto proteico → deficit ciclo dell'urea e organicoacidurie; maggior apporto di leucina → sindrome iperinsulinismo-iperammoniemia; aumento dell'intervallo di digiuno → ipoglicemia in deficit della gluconeogenesi e nelle glicogenosi; introduzione di frutta e saccarosio → intolleranza ereditaria al fruttosio e deficit di fruttosio 1-6 difosfatasi).

Tabella 2. Eventi scatenanti gli episodi acuti in ECM

Evento scatanante	Malattia
Svezzamento	Intolleranza ereditaria al fruttosio Deficit di fruttosio 1-6 difosfatasi Deficit del ciclo urea Sindrome HHH Intolleranza alle proteine con lisinuria Malattia delle urine a sciroppo d'acero Acidurie organiche
Fruttosio	Intolleranza ereditaria al fruttosio Deficit di fruttosio 1-6 difosfatasi
Galattosio	Galattosemie
Glicerolo	Intolleranza al glicerolo
Proteine	Deficit ciclo urea Sindrome HHH Intolleranza alle proteine con lisinuria Malattia delle urine a sciroppo d'acero Acidurie organiche Iperinsulinismo/Iperammoniemia
Carboidrati	Deficit di piruvato deidrogenasi Deficit della catena respiratoria
Infezioni, catabolismo, febbre, digiuno	Aminoacidopatie Acidurie organiche Deficit della beta-ossidazione Deficit del ciclo urea Deficit della gluconeogenesi Glicogenosi
Eventi chirurgici, anestesia, febbre, digiuno	Aminoacidopatie Acidurie organiche Deficit della beta-ossidazione Deficit del ciclo urea Deficit della gluconeogenesi Glicogenosi Omocistinuria (fenomeni tromboembolici)
Farmaci	Porfiria Deficit di glucosio-6-fosfato deidrogenasi

Le infezioni specie se febbrili o con interessamento gastrointestinale, rappresentano spesso l'evento scatenante in quanto determinano digiuno e/o catabolismo proteico endogeno. Le manifestazioni cliniche hanno caratteristiche diverse in caso di esordio acuto neonatale o in epoche successive (acuto tardivo-intermittente). La ricorrenza di crisi acute caratterizzate dalla medesima sintomatologia è fortemente suggestiva di ECM. Le manifestazioni intermittenti possono evolvere rapidamente verso la risoluzione spontanea, o viceversa verso l'exitus nonostante la tempestiva istituzione di terapia intensiva di supporto; le crisi atassiche peraltro possono durare anche qualche settimana. Gli episodi acuti possono essere ricorrenti con apparente benessere nei periodi intercorrenti e la diagnosi può essere difficoltosa se gli adeguati accertamenti non vengono eseguiti nella fase acuta. A volte da una anamnesi accurata emerge che nel periodo neonatale si sono verificate manifestazioni acute non correttamente diagnosticate. Le manifestazioni cliniche acute o acute-intermittenti, che possono essere diverse e tra loro variamente combinate, sono:

- episodi Reye-like;
- coma o alterazioni dello stato di coscienza;
- turbe comportamentali-sintomi psichiatrici;
- modificazioni del tono muscolare;
- alterazioni neurologiche (stroke, atassia, epilessia, disturbi del movimento);
- vomito;
- ipoglicemia;
- epatopatia;
- SIDS (*Sudden Infant Death Syndrome*), ALTE (*Acute Life-Threatening Event*);
- mioglobinuria;
- cardiopatia (insufficienza cardiaca acuta, aritmia).

Possono essere associate altre manifestazioni: ritardo mentale e/o convulsioni, infezioni ricorrenti (specie da candida), deficit di accrescimento, odori peculiari, tubulopatia, alterazioni ematologiche (anemia megaloblastica, leucopenia, piastrinopenia), alterazioni della coagulazione, quadri malformativi cerebrali (agenesia del corpo calloso, turbe della girazione) o di altri organi (cisti renali), alterazioni cutanee (alopecia, fotosensibilità, rash cutanei, lesioni vescico-bollose).

Iter diagnostico

L'approccio diagnostico degli ECM ad esordio acuto si basa oltre che su una attenta valutazione clinico-anamnestica su esami di laboratorio e strumentali. Le indagini di laboratorio necessarie per un inquadramento diagnostico (Tabella 3) sono spesso disponibili nella maggior parte delle strutture ospedaliere (indagini di primo livello), ma alcune indagini di secondo livello sono effettuabili solo in laboratori specializzati. Punto essenziale ai fini di una corretta e precoce diagnosi è la necessità della raccolta dei campioni durante la fase acuta e prima dell'inizio della terapia.

Gli accertamenti-protocollo di emergenza sono:

- *per il sangue:* glicemia
azotemia
elettroliti
calcemia
emogasanalisi
uricemia
emocromo
transaminasi
creatinchinasi
coagulazione
5 ml di plasma eparinizzato (conservare in freezer a -20°C
lattato
piruvato
3-idrossibutirrato
acetoacetato
NEFA
ammoniemia
aminoacidemia
acilcarnitine.

- per le urine: odore e colore
chetoni (Acetest)
zuccheri (Clinitest-Clinistix)
pH (pHstix)
acido urico
sulfite
chetoacidi (DNPH)
test di Brand
elettroliti.

Un campione di urine deve essere raccolto prima della terapia per analisi acidi organici, acido orotico o altro (conservare in freezer a -20°) e un campione di urine delle 24 h dopo l'inizio terapia (conservare in freezer a -20°).

La sintomatologia, come abbiamo visto, può essere aspecifica e, talvolta, alcuni esami di routine, eseguiti senza una ipotesi diagnostica precisa possono indirizzare verso un ECM. Per esempio la presenza di ipoazotemia può essere spia di un difetto del ciclo dell'urea; granulocitopenia e piastrinopenia possono essere presenti in organicoacidurie, anemia megaloblastica può indirizzare alla diagnosi di metilmalonico aciduria. La presenza di chetonuria in un neonato deve essere sempre considerata anormale e segno di malattia metabolica. Acidosi metabolica con elevato gap anionico e pH urinario < 5 può indirizzare verso una organicoaciduria; un pH urinario di >5 suggerisce un'alterazione tubulare renale. L'assenza di acidosi metabolica non deve fare escludere peraltro una organico aciduria nè una acidosi lattica, in quest'ultima infatti il pH si mantiene normale fino a livelli di lattacidemia di 5 mmol/l (circa 2 volte e mezzo i valori normali). Alcalosi respiratoria è, invece, spesso presente in caso di iperammoniemia.

In alcuni ECM sono presenti odori particolari delle urine; anche altre secrezioni corporee come il cerume, hanno un odore particolare utile ad indirizzare gli accertamenti. Tale odore peraltro può inizialmente passare inosservato (Tabella 3).

Tabella 3. Odori particolari delle urine

Malattia	Odore
MSUD	Sciropo d'acero
Isovalericoacidemia	Piedi sudati
Glutaricoaciduria tipo II	Piedi sudati
Deficit multiplo di carbossilasi	Urine di gatto
Aciduria metilcrocronica	Urine di gatto
Hawkinsinuria	Piscina (cloro)
Trimetilaminuria	Pesce marcio
Fenilchetonuria	Urune di topo

In caso di imminente pericolo di vita del paziente o di exitus improvviso da causa ignota è importante prelevare e conservare la maggior quantità i materiali biologici, che sono di seguito elencati, per poter arrivare ad una precisazione diagnostica e indispensabili per un consiglio genetico:

- plasma (5ml), conservare a -20
- siero (2 ml), conservare a -20
- sangue intero in EDTA (5-10 ml) (per estrazione DNA), conservare a -20
- spot di sangue su carta da filtro (tipo per test di Guthrie)

- urine (10 ml) (se necessario da catetere o da puntura sovrapubica, conservare a -20
- umor vitreo (1-3 ml) (da puntura intraoculare, se non disponibili urine), conservare a -20
- liquor (4 ml), conservare a -20
- bile, conservare a -20
- biopsia cutanea (10x5 mm) (per coltura fibroblasti)
- biopsia muscolare (20-50 mg, in azoto liquido o a -70°)
- biopsia epatica (10-20 mg, in azoto liquido o a -70°)
- autopsia (conservare i tessuti in formaldeide 4% e Karnofski)

Decorso cronico

Le problematiche degli ECM con manifestazioni croniche sono diverse rispetto a quelli con esordio acuto:

- non exitus in tempi brevi
- decorso più o meno lentamente progressivo
- segni clinici a volte inizialmente sfumati.

È comunque importante una diagnosi precoce anche se non in termini di ore o giorni, per la possibilità, in alcuni casi, di una specifica terapia (es. dieta, vitamine, neurotrasmettitori, enzimatica) e quindi di minori danni e miglior prognosi quoad vitam e quoad valitudinem. Quando una specifica terapia non è disponibile è comunque importante una diagnosi precoce per un corretto consiglio genetico e diagnosi prenatale, onde evitare la nascita di altri soggetti affetti.

Gli ECM a decorso cronico possono essere responsabili di quadri clinici diversi con interessamento di vari organi e apparati. Le principali manifestazioni sono di seguito elencate:

- manifestazioni neurologiche
- alterazioni circonferenza cranica
- alterazioni cute e annessi
- dismorfismi
- quadri malformativi
- manifestazioni gastro-intestinali
- epatopatia e/o epatomegalia e/o splenomegalia
- miopatia
- difetti di accrescimento
- alterazioni osteo-articolari
- alterazioni oculari
- alterazioni uditive
- alterazioni ematologiche
- nefropatia
- alterazioni respiratorie
- alterazioni cardiovascolari
- alterazioni endocrine.

Le principali manifestazioni neurologiche croniche sono le seguenti:

- ritardo psicomotorio
- arresto-regressione psicomotoria
- ritardo mentale
- ipotonia

- spasticità
- disturbi motori
- atassia
- neuropatia
- epilessia
- disturbi del movimento
- emiplegia
- disturbi del comportamento.

La maggior parte degli ECM è responsabile di manifestazioni a carico del sistema nervoso e più spesso una patologia genetica metabolica viene sospettata quando sono presenti problemi neurologici. Talvolta le manifestazioni extraneurologiche precedono, in alcuni casi anche di anni, la sintomatologia neurologica: la X-adrenoleucodistrofia ad esempio, specie le varianti più tardive, può essere preceduta da insufficienza surrenalica che peraltro può anche rimanere l'unica manifestazione (m. di Addison isolata). Anche le manifestazioni da dismotilità intestinale (diarrea, scarso accrescimento, malassorbimento) possono precedere di anni la neuropatia periferica e il quadro di leucodistrofia nella sindrome di MNGIE. L'epatosplenomegalia può precedere le manifestazioni neurologiche in alcuni casi di m. di Niemann Pick e di m. di Gaucher. Segni extraneurologici senza coinvolgimento neurologico possono essere manifestazione di ECM, come ad esempio:

- la calcolosi renale nella cistinuria;
- l'epatomegalia associata a scarso accrescimento nella glicogenosi, talvolta associata anche a calcolosi renale nella glicogenosi tipo I, mentre talvolta può mancare la sintomatologia da ipoglicemia;
- lussazioni del cristallino associato a fenotipo marfanoide nella omocistinuria;
- miopatia con quadri simil distrofia muscolare nella glicogenosi tipo II e tipo III;
- manifestazioni ossee dolorose a tipo "crisi ossee" possono essere il sintomo di esordio di m. di Gaucher tipo I (ricercare la splenomegalia) dove possono essere anche presenti segni di necrosi ossea tipo Perthes o di artrite; crisi dolorose possono essere presenti anche nella m. di Fabry (ricercare i segni oculari, gli angiocheratomi cutanei e le manifestazioni renali);
- febbre ricorrente associata o meno ad iperIgD nella mevalonico aciduria (presente durante gli episodi febbrili).

Talvolta un'ipertransaminasemia, rilevata in corso di esami di routine, può essere spia di epatopatia da ECM o, se associata ad elevata creatin chinasi, essere spia di miopatia genetica metabolica.

Recentemente è stato riportato in due pazienti italiani un nuovo errore congenito del metabolismo causa di persistente isolata ipermetioninemia (circa 10 volte valori normali), il quadro clinico è epatite-like con lieve e persistente ipertransaminasemia (2 - 4 volte i valori normali) e epatomegalia. Una dieta a basso apporto di metionina è riportata determinare una riduzione delle transaminasi e metionina fino alla normalizzazione.

Elementi che devono far sospettare un ECM sono:

- consanguineità dei genitori
- anamnesi familiare positiva per malattia neurologica progressiva
- arresto e regressione psicomotoria
- ritardo psicomotorio con grave ipotonia senza una causa definita
- manifestazioni neurologiche specifiche
- manifestazioni non neurologiche, più organi coinvolti

- neuroimmagini indicative
- decorso progressivo
- non risposta a comuni terapie.

Quando le manifestazioni neurologiche sono precoci, e cioè nei primi mesi di vita e quindi non sono state ancora raggiunte tappe importanti dello sviluppo, può essere difficile mettere in evidenza un arresto o regressione psicomotoria. Il primo segno, più che una perdita di funzioni già acquisite, può essere rappresentato da ritardo nelle acquisizioni. Nei primi 6 mesi di vita le manifestazioni neurologiche generiche sono rappresentate da uno scarso interesse all'ambiente, una incapacità a seguire la luce e gli oggetti, a rotolare, a mantenere la posizione seduta, uno scarso controllo della testa, un non corretto uso delle mani.

L'anamnesi delle tappe di sviluppo può essere anche non corretta, specie se i genitori non sono precisi o non hanno avuto esperienza di altri figli normali e quindi non sanno riferire particolari importanti. Può essere molto utile la valutazione di foto o video per evidenziare l'epoca di esordio e l'evoluitività. Talvolta un'infezione o un trauma vengono riferiti dai genitori all'esordio della regressione psicomotoria; in realtà questi eventi rappresentano solo elementi evidenziatori di una regressione latente e inoltre possono essere confondenti e allungare i tempi di diagnosi.

Se l'esordio è successivo al primo semestre di vita è più facile notare la presenza di un arresto-regressione psicomotoria, specie se sono state acquisite tappe importanti dello sviluppo quali la stazione eretta o la deambulazione o alcuni elementi del linguaggio. Talvolta è già presente un più o meno sfumato ritardo nelle acquisizioni con successivo e progressivo aumento delle difficoltà motorie fino a perdita della deambulazione, se acquisita e della posizione seduta. Talvolta il coinvolgimento può essere inizialmente solo motorio e successivamente mentale; altre volte vi è un contemporaneo deterioramento motorio e mentale.

Il quadro clinico, soprattutto in presenza di parto prematuro o asfissia "neonatale", può essere confuso con una diplegia spastica non evolutiva da sofferenza pre o perinatale (Tabella 4).

Tabella 4. Diagnosi differenziale tra ECM e danno ipossico-ischemico neonatale

Diagnosi	Anamnesi, segni e sintomi
Dati in favore di danno ipossico-ischemico	Asfissia intrauterina Liquido amniotico tinto Parto distocico Prematurità Cause materne (ipertensione, preeclampsia, tossiemia gravidica, diabete) Gemellarità Immediati segni di sofferenza alla nascita Reperti tipici dell'ecografia cerebrale
Dati in favore di ECM	Gravidanza e parto regolari Parto a termine Intervallo libero Segni extraneurologici Anamnesi familiare Alterazioni biochimiche Decorso progressivo

Le manifestazioni neurologiche conseguenti a ECM possono coinvolgere ad esempio sia il Sistema Nervoso Centrale (SNC) che il Sistema Nervoso Periferico (SNP), come nelle leucodistrofie e nella degenerazione neuro-assonale (es. nella m. di Schindler), o possono coinvolgere ad esempio il cervelletto e/o il tronco cerebrale oppure i nuclei della base (il 25% dei casi di sindrome di Leigh inizia nel 2° anno di vita).

Negli ECM con coinvolgimento preminente della sostanza grigia (ceroidolipofuscinosi, sialidosi, sfingolipidosi) si ha un arresto dello sviluppo intellettuale, deterioramento mentale, alterazioni comportamentali molto spesso associate a manifestazioni epilettiche, mioclono intenzionale e atassia.

Per alcune forme di ECM il decorso è così lentamente progressivo che può configurare un quadro fisso, “statico” di ritardo psicomotorio; peraltro l’assenza di danno perinatale o di altre ipotesi causali, l’associazione eventuale di segni extraneurologici, possono indirizzare gli accertamenti verso un ECM: ad esempio fenilchetonuria, tirosinemia oculo-cutanea e altre aminoacidopatie, mucopolisaccaridosi e altre malattie d’accumulo lisosomiale. Ripetute valutazioni cliniche possono essere utili per distinguere una forma statica da una forma progressiva metabolica.

Nelle forme ad esordio più tardivo, dal 3°-4° anno di vita fino all’adolescenza, inizialmente possono essere coinvolti certi sistemi neuronali ad esempio i tratti corticospinali, il cervelletto, i nuclei della base, i nervi periferici con sintomatologia correlata: a) paraplegia spastica progressiva (es: m. di Krabbe, Leucodistrofia metacromatica e altre malattie lisosomiali, Adrenoleucodistrofia X-linked, m. di Sjogren-Larsson, deficit di arginasi, m. di Hallervorden-Spatz); b) emiplegia; c) atassia cerebellare; d) disturbi del movimento; e) epilessia; f) neuropatia progressiva (es: m. di Refsum, m. di Tangier, m. di Fabry, malattia da corpi poliglucosani, GM2 gangliosidosi ad esordio tardivo); g) deterioramento cognitivo, modificazioni comportamentali.

I principali ECM con disturbi del comportamento e/deterioramento cognitivo sono di seguito elencati:

- adrenoleucodistrofia X-linked
- ceroidolipofuscinosi
- leucodistrofia metacromatica giovanile
- GM2 gangliosidosi giovanile
- m. di Sanfilippo (Mucopolisaccaridosi III)
- aspartilglucosaminuria
- m. di Lafora
- omocistinuria
- m. di Hartnup
- porfiria acuta intermittente
- m. di Leigh giovanile
- m. di Wilson
- m. di Halleorden-Spatz
- corea di Huntington.

In alcuni ECM ad esordio tardivo un deterioramento mentale con progressive difficoltà scolastiche, alterazioni della personalità e del comportamento possono essere la prima manifestazione e precederne altre di molti mesi. I due più frequenti pattern di comportamento sono caratterizzati da irritabilità, agitazione, azioni violente, impulsive e irrazionali o al contrario da uno stato di calma e indifferenza. È importante che i neuropsichiatri siano allertati su una possibile causa genetico-metabolica, e ricerchino altri segni clinici, neurologici ed extraneurologici, e procedano ad indagini biochimiche-strumentali più specifiche. Ad esempio nella xantomatosi cerebrotendinea, difetto di sterolo-27-idrossilasi e conseguente alterata sintesi degli acidi biliari,

l'esordio è nell'età scolare o nell'adolescenza ed è spesso caratterizzato da alterazioni comportamentali e deterioramento mentale progressivo associati a disartria e atassia cerebellare; indirizzano alla diagnosi la presenza di xantomi tendinei soprattutto in corrispondenza dei tendini di Achille e la cataratta. La presenza di un contemporaneo deterioramento cognitivo con riduzione della memoria, errori di sintassi, scarso orientamento temporo-spaziale fino ad arrivare ad uno stato di demenza devono indirizzare ad una attenta valutazione clinica nella ricerca di segni neurologici (aumento o assenza dei riflessi osteotendinei, segni piramidali o extrapiramidali, difetto visivo, alterazione dei movimenti coniugati degli occhi) o extraneurologici (es. alterazioni cutanee tipo melanodermia o pellagra-like, epatomegalia, ecc.). Talvolta la manifestazione d'esordio di ECM può essere un quadro psichiatrico con una sindrome psicotica, depressione o allucinazioni. Un quadro di isolata schizofrenia è stata descritta nell'omocistinuria da difetto di N5-N10-metilenetetraidrofolato reductasi. L'autismo è raramente associato a ECM ma tratti autistici si possono trovare in alcuni pazienti affetti da fenilchetonuria (PKU), m. di Sanfilippo, difetto di adenilsuccinatoliasi e nella ceroidolipofuscinosi precoce infantile; in quest'ultima sono riportati anche movimenti tipo "washing hands" e altre stereotipie. L'effettuazione dello screening neonatale per la PKU non deve far dimenticare questa patologia e la possibilità di manifestazioni neurologiche di vario tipo (compresi quadri di diffusa alterazione della sostanza bianca) per diagnosi omessa a causa di screening neonatale falso-negativo o non eseguito.

L'atassia cerebellare può essere la manifestazione principale in alcuni ECM, quali quelli elencati di seguito, ma non è mai un fenomeno isolato ed è variabilmente associata ad atassia sensoriale, segni piramidali, polimioclono, epilessia, deterioramento mentale:

- abetalipoproteinemia (segno costante)
- ipobetalipoproteinemia (segno costante)
- atassia con deficit di vitamina E (AVED) (segno costante)
- atassia-teleagectasia (segno costante)
- sfingolipidosi tardo-infantili e giovanili
- GM1 gangliosidosi
- malattia di Niemann-Pick C
- leucodistrofia metacromatica
- leucodistrofia di Krabbe
- malattia di Gaucher tipo III
- ceroidolipofuscinosi tardo-infantile
- malattia di Leigh
- deficit di piruvatodeidrogenasi
- MERRF
- altre encefalopatie mitocondriali
- malattia di Lafora
- malattia di Refsum
- malattia di Pelizaeus-Merzbacher
- L-2-OH-glutarico aciduria
- sindrome CDG
- difetto di succinico-semialdeide deidrogenasi
- iperglicinemia non chetotica giovanile.

Un'emiplegia spastica progressiva può essere la manifestazione iniziale, isolata anche per alcuni mesi, di forme ad esordio giovanile di leucodistrofia metacromatica e di m. di Krabbe, di adrenoleucodistrofia X-linked (X-ALD) e di m. di Leigh.

La presenza di manifestazioni sistemiche, viscerali e a carico di altri organi o apparati è importante per la diagnosi e rappresenta una chiave utile per indirizzare verso alcuni gruppi di ECM o verso uno specifico ECM. Di seguito sono riportati alcuni esempi significativi:

– *Cute e annessi*

Cute e capelli chiari possono evocare PKU, viceversa iperpigmentazione cutanea, espressione di insufficienza surrenalica, può indirizzare verso X-ALD. L'alterazione tipo pili torti è specifica della m. di Menkes, mentre capelli secchi con aspetto della tricoressi nodosa è indicativo di argininsuccinicoaciduria. L'ipertricosi e le sopracciglia folte sono presenti nelle mucopolisaccaridosi e in altre malattie d'accumulo lisosomiale. Anomala distribuzione del tessuto adiposo sottocutaneo è presente nella sindrome CDG. Cute spessa, noduli cutanei, teleangectasie, angiocheratomi, ittiosi, lesioni eczematose, rash pellagra-simili, ipercheratosi palmo-plantare, fotosensibilità, malar flush sono utili a indirizzare gli accertamenti.

– *Circonferenza cranica*

In genere la circonferenza cranica è normale alla nascita e l'ECM può essere causa di riduzione della velocità di crescita, come espressione di un danno progressivo cerebrale, con conseguente microcrania. Nel difetto di sintesi di serina microcrania è invece già presente alla nascita insieme ad un difetto di crescita generalizzato, e fin dai primi mesi di vita ritardo psicomotorio, convulsioni farmaco-resistenti e distonie; è stato recentemente riportato in un feto affetto riprese della crescita della circonferenza cranica e prevenzione della sintomatologia neurologica con la somministrazione di serina alla madre in gravidanza e successivamente nel soggetto affetto. Macrocefalia, espressione di un aumento del volume dell'encefalo o di idrocefalo, può essere presente già alla nascita nella glutarico aciduria tipo I, nel periodo postnatale, più o meno precocemente, in alcune leucodistrofie, nella gangliosidosi GM2 e GM1, nelle mucopolisaccaridosi.

– *Facies*

Lineamenti grossolani si fanno maggiormente evidenti nel tempo fino a configurare la facies a "gargouille" nella mucopolisaccaridosi I e II, mentre sono meno evidenti in altre mucopolisaccaridosi e glicoproteinosi. Altri particolari dismorfismi sono presenti nelle malattie perossisomiali, mitocondriali e nella sindrome di Lowe.

– *Occhio*

Alterazioni oculari possono essere espressione di alterazione del SN in quanto la retina e i nervi ottici sono parte del SNC: strabismo, nistagmo, movimenti oculari anomali, degenerazione pigmentaria della retina, macchia "rosso-ciliegia" e altre degenerazioni maculari, atrofia ottica, paralisi oculare nucleare e sopranucleare. Alterazioni oculari extraneurologiche sono ad esempio la cataratta, la lussazione del cristallino, le opacità corneali, il glaucoma, l'anello di Kaiser-Fleischer.

– *Fegato e milza*

La presenza di epatosplenomegalia associata a manifestazioni neurologiche ed extraneurologiche può indirizzare specificatamente verso una malattia da accumulo lisosomiale (mucopolisaccaridosi, m. di Niemann-Pick, m. di Gaucher, gangliosidosi GM1 tipo 1, ecc). L'epatopatia con ipertransaminasemia associata o meno ad aumento del volume del fegato può essere presente in numerosi ECM. Nella m. di Wilson in età pediatrica sono molto rare le manifestazioni neurologiche e l'alterazione oculare (l'anello

di Kaiser-Fleischer). Nell'intolleranza ereditaria al fruttosio si sviluppa nel tempo avversione ai cibi dolci che può indirizzare alla diagnosi.

L'epatomegalia è presente ad esempio in malattie perossisomiali (m. di Zellweger, m. di Refsum infantile ecc) e nella m. di Wilson. Epatomegalia non associata a manifestazioni neurologiche è presente nelle glicogenosi. Talvolta possono essere presenti convulsioni in corso di ipoglicemia. Epatomegalia associata a ipoglicemia e calcolosi renale da iperuricemia è suggestiva di glicogenosi tipo IA (difetto di glucosio-6-fosfatasi), se è presente anche leucopenia con neutropenia la diagnosi probabile è di glicogenosi IB (difetto di glucosio-6-fosfato traslocasi). Steatorrea ed epatopatia possono indirizzare verso la m. di Refsum.

– *Accrescimento staturale-ponderale*

Scarso accrescimento, vomito, anoressia, diarrea e dismotilità intestinale sono presenti in numerosi ECM quali ad esempio: aminoacidopatie, difetti del ciclo dell'urea, organicoacidurie, sindrome CDG, alcune malattie mitocondriali (Pearson e MNGIE). Questa sintomatologia gastro-intestinale può portare a diagnosi errata di intolleranza alle proteine del latte, celiachia, allergia alimentare, stenosi ipertrofica del piloro. Una bassa statura può non essere secondario ai suddetti sintomi "digestivi" ma parte integrante del quadro clinico e associata (mucopolisaccaridosi, glicoproteinosi) o meno (m. di Niemann-Pick, malattie mitocondriali) a disostosi multipla.

Il fenotipo marfanoid è tipico dell'omocistinuria.

– *Scheletro*

La presenza di "disostosis multiplex" è segno di malattia lisosomiale; limitazioni articolari e gibbo dorsolombare possono essere altre manifestazioni. Calcificazioni patellari sono presenti nella sindrome di Zellweger. Rizomelia è presente in alcuni difetti perossisomiali.

– *Alterazioni respiratorie*

Turbe del respiro possono essere secondarie ad alterazioni dell'equilibrio acido-base o ad iperammoniemia in organicoacidurie e difetti del ciclo dell'urea; possono inoltre essere presenti nella sindrome di Leigh. Infiltrazione polmonare, tipo miliariforme si può osservare nelle malattie di Niemann-Pick, di Gaucher e di Farber.

– *Apparato cardiovascolare*

Alterazioni cardiache (es. cardiomiopatia, alterazioni valvolari, alterazioni del ritmo cardiaco) e/o vascolari possono essere presenti in mucopolisaccaridosi e altre malattie d'accumulo lisosomiale, m. di Fabry, malattie mitocondriali, m. di Menkes, omocistinuria e in altri ECM; pericardite e/o miocardiopatia nella sindrome CDG.

– *Rene*

Il rene può essere variamente coinvolto in vari ECM (nefropatie, tubulopatie, insufficienza renale, calcolosi).

– *Alterazioni uditive*

Difetto uditivo neurosensoriale e trasmissivo è presente in numerose malattie da accumulo lisosomiale (mucopolisaccaridosi, glicoproteinosi). Iperacusia con abnorme risposta (estensoria delle mani e degli arti seguita da mioclonie) agli stimoli uditivi acuti e improvvisi è costantemente presente nella m. di Tay-Sachs e di Sandhoff, meno frequente nella m. di Krabbe e nella gangliosidosi GM1.

– *Malformazioni*

Nell'ultimo decennio, diversamente da quanto ritenuto in passato, è apparso evidente che alcuni ECM possono essere responsabili di difetti di sviluppo cerebrale e malformazioni somatiche. Esempio tipico la sindrome di Zellweger dove sono presenti dismorfismi faciali (fronte alta, epicanto, orecchio esterno malformato, micrognazia, pliche del collo abbondanti), difetti di migrazione neuronale, displasia cistica renale; in un'altra patologia perossisomiale è presente rizomelia (Condrodisplasia puntata rizomelica).

Malformazioni faciali, oculari, degli arti, genito-urinarie, cardiache, ecc., sono presenti in altri ECM quali la glutarico aciduria tipo II, la sindrome di Smith-Lemli-Opitz. In quest'ultima è stato recentemente identificato come causa un difetto di 7-deidrocolesterolo reductasi, enzima che catalizza la conversione del 7-deidrocolesterolo a colesterolo; il livello plasmatico di colesterolo è basso mentre è elevato quello del precursore a monte del difetto; altri difetti del metabolismo del colesterolo sono stati recentemente identificati quali la desmosterolosi e la latosterolosi, entrambi associati a malformazioni multiple e coinvolgimento neurologico.

I meccanismi teratogenetici in queste malattie non sono ancora perfettamente chiariti: tossicità diretta di metaboliti in elevate concentrazioni o anormali, o carenza di prodotti a valle del difetto enzimatico. Da non dimenticare in questo ambito la embrio-fetopatia da PKU materna: basso peso alla nascita, microcefalia, dismorfismi simili alla sindrome fetto-alcolica, palatoschisi, malformazioni cardiache, atresia esofagea, malformazioni ano-rettali e intestinali. Tali malformazioni sono strettamente correlate alle concentrazioni plasmatiche di fenilalanina nella madre nei primi mesi di gravidanza. È importante pertanto determinare sempre la fenilalaninemia materna in caso di microcrania o sindrome polimalformativa.

Diagnosi

L'iter diagnostico nelle malattie metaboliche con interessamento neurologico, come del resto in altre patologie, deve sempre partire dal sospetto clinico e condurre attraverso una serie di indagini alla conferma o meno del sospetto. In alcuni casi la presenza di specifici quadri RM associati a segni e sintomi indicativi, può rapidamente portare ad una mirata indagine biochimica (es. determinazione VLCFA plasmatici in sospetta Adrenoleucodistrofia) e/o molecolare o ad entrambe (es. determinazione degli acidi organici urinari, della aspartoacilasi e analisi molecolari nella m. di Canavan). D'altra parte in alcuni pazienti con sintomatologia aspecifica esami di laboratorio di "routine" possono indirizzare verso una malattia metabolica (es. un'iperuricemia verso una glicogenosi o un difetto della gluconeogenesi o un difetto della beta ossidazione e viceversa ipouricemia verso un difetto di cofattore molibdeno o del metabolismo delle purine).

Molti test eseguiti con procedure standard in un laboratorio di base (test routinari) sono utili nella diagnosi delle malattie neurometaboliche. È necessario però che essi vengano correttamente interpretati in maniera da poter indirizzare indagini mirate e specifiche di tipo biochimico, molecolare e neuroradiologico. Esami laboratoristici routinari o comunque di rapida e semplice esecuzione su sangue, urine o liquor possono apportare informazioni diagnostiche. La presenza di anemia megaloblastica può indirizzare verso il sospetto diagnostico di metilmalonicoaciduria, la presenza di acidosi metabolica verso molte organicoacidurie, iponatremia con iperkaliemia verso la insufficienza surrenalica (adrenoleucodistrofia), i bassi livelli di urea ematica verso un difetto del ciclo dell'urea ecc. Alcuni semplici test colorimetrici su urine sono stati standardizzati e possono essere utilizzati con facilità in molti laboratori (Tabella 5) prima di altri esami più complessi.

Tabella 5. Test colorimetrici eseguibili sulle urine

Test	Metaboliti	Malattie
Reazione al Cloruro ferrico	acido fenilpiruvico acido p-OH-fenilpiruvico acido omogentisinico (blu-verde) acido imidazolpiruvico (grigio-verde): chetoacidi a catena ramificata (blue, giallo, blue-grigio) acido piruvico (giallo) acido α -chetobutirrico (porpora → marrone bruciato) acido xanturenico (verde → marrone)	PKU tirosinemia alcaptonuria istidinemia MSUD iperfenilalaninemie malassorbimento della metionina xanturenicoaciduria
Test al cianuroprussiato (Test di BRAND)	Cistina omocistina disulfide cisteina-omocistina disulfide mercaptolattato-cisteina (rosa-violaceo)	cistinuria omocistinuria β -mercaptolattatocistein-disulfiduria
Acetest	Acetone, acetoacetato (porpora) Butanone (rosso) 2-exanone, 3-exanone (giallo)	chetonuria deficit di b-chetotilasi e propionicoaciduria deficit di b-chetotilasi, propionicoaciduria e metilmalonicoaciduria
Dinitrofenilidrazina (DPNH)	chetoacidi (flocculazione giallo-arancione)	
Sulfitest (NB: su urine fresche)	sulfiti (rosa)	deficit del cofattore molibdeno
Clinitest	Galattosio, glucosio, fruttosio, lattosio, mannosio, xilosio (verde-arancione)	

Fra gli esami ematochimici sono di particolare importanza diagnostica glicemia, chetoni, equilibrio acido base, ammonio, urea, acido lattico e piruvico, elettroliti, AST, ALT, uricemia, colesterolo, trigliceridi, lipoproteine, rame, ceruloplasmina. Nel liquor la presenza di elevati livelli di proteine con normale pattern elettroforetico si osserva nella m. di Krabbe e nella leucodistrofia metacromatica con valori tra 70 e 450 mg/dl; in rari casi è presente un aumento delle g-globuline con un pattern oligoclonale. Sul liquido cerebrospinale pertanto possono essere valutati i livelli di proteine totali, g-globuline, glucosio, acido lattico, aminoacidi, GABA, acidi organici, neurotrasmettitori. Esami semplici possono indirizzare anche verso malattie a decorso cronico come ad esempio lo striscio periferico con la presenza di linfociti vacuolati o il reperto di bassi livelli di colesterolo, indicativi rispettivamente di malattia da accumulo lisosomiale o della sindrome di Smith-Lemli-Opitz. I dati clinico-anamnestici, gli esami ematochimici e urinari di base insieme alle indagini radiologiche, neuroradiologiche ed

elettrofisiologiche orientano verso accertamenti più complessi, talora eseguibili solo in laboratori specializzati: analisi degli aminoacidi plasmatici e urinari, acidi organici e acido orotico urinari, glicosfingolipidi, oligosaccaridi e mucopolisaccaridi urinari, VLCFA, determinazione dell'attività di enzimi lisosomiali, ecc.

Per molti disordini neurometabolici è stato individuato il difetto enzimatico e pertanto la conferma diagnostica necessita del dosaggio enzimatico che deve essere eseguito quando gli esami biochimici sono indicativi. Per ottenere risultati attendibili è importante selezionare attentamente il tipo di cellule o il tessuto su cui effettuare quel particolare dosaggio: nella maggior parte delle malattie neurometaboliche i test enzimatici sono eseguiti su plasma, leucociti o fibroblasti in coltura, talvolta sono necessari frammenti di muscolo o di fegato, oppure globuli rossi interi. Le macchie di sangue adsorbite su carta da filtro (come per il test di Guthrie) possono essere idonee per alcuni test, come la determinazione dell'attività della diidropteridina reductasi, e pratiche perché di facile spedizione a grande distanza. In alcune malattie, come nei difetti della catena respiratoria o di piruvato deidrogenasi, può essere necessario eseguire il dosaggio enzimatico su più tessuti (muscolo e fibroblasti in coltura) a causa della specificità di tessuto o della variabilità degli isoenzimi, fatto che può complicare una eventuale diagnosi prenatale. L'interpretazione del risultato deve essere basata sul quadro clinico: questo infatti può essere tipico, ma l'attività enzimatica può risultare paradossalmente normale, in alcuni casi ad esempio in cui non è stato usato un substrato adeguato, o la malattia è dovuta al deficit di un attivatore (Leucodistrofia metacromatica da deficit di saposina B) o di una proteina protettrice (come nella galattosialidosi). Al contrario l'attività di un enzima può essere bassa anche in individui normali (pseudodeficit di Arilsolfatasi A). Per una corretta diagnosi possono essere necessari anche studi enzimatici nella famiglia e l'analisi del DNA

L'analisi molecolare può essere essenziale per la conferma diagnostica e per il consiglio genetico, soprattutto in quei disordini in cui vi è la mancata formazione del prodotto genico o quando la proteina prodotta è difficilmente valutabile. La diagnosi in questi casi viene eseguita con lo studio del gene coinvolto (es. disordini della formazione della mielina, m. di Pelizaeus-Merzbacher, m. di Huntington, difetti del DNA mitocondriale). Quando il gene non è ancora stato clonato, le analisi di linkage nelle famiglie informative possono essere di aiuto. Lo studio del DNA è importante anche nell'individuazione degli eterozigoti, nella diagnosi in pazienti presintomatici, nella diagnosi prenatale; sulla base della mutazione dimostrata è a volte possibile stabilire la prognosi. I risultati dello studio del DNA devono essere valutati nel contesto del quadro clinico generale e dei risultati biochimici, poiché mutazioni differenti possono essere responsabili della medesima malattia e, viceversa, una stessa mutazione può dar luogo a fenotipi clinici diversi (importanza di fattori genetici e ambientali). Lo studio del DNA può portare a diagnosi di soggetti affetti in famiglie con malattie attualmente non curabili; pertanto l'analisi del DNA in familiari apparentemente sani e quindi in stadio presintomatico, può sollevare importanti problemi etici.

Bibliografia

1. Scriver CR. Disease, war, and biology: languages for medicine and pediatrics. *Pediatr Res* 1995;38(6):819-29.

LO SCREENING DELLE MALATTIE METABOLICHE OGGI

Roberto Cerone

Dipartimento di Pediatria-Istituto G. Gaslini, Genova

L'introduzione dello screening neonatale di massa della fenilchetonuria (PKU) rappresenta una tappa fondamentale nella storia della medicina preventiva e sociale.

In particolare, possiamo affermare oggi che la prognosi di tale patologia è completamente cambiata.

Di fatto, negli anni precedenti all'introduzione dello screening per la PKU, la composizione della casistica dei pazienti affetti da PKU risultava da tre forme di reperimento:

1. soggetti che giungevano all'osservazione e quindi alla diagnosi per ritardo psicomotorio;
2. neonati nati da famiglie PKU e affetti da PKU;
3. fratelli di età maggiore dei pazienti e accertati retrospettivamente, affetti dalla malattia.

In tale periodo, nella grande maggioranza dei pazienti, la diagnosi veniva formulata proprio sulla base di una oligofrenia e prevalentemente in età superiore ai 4 anni.

Screening o "depistaggio" indica, in termini medici, un momento di individuazione presuntiva (non quindi di diagnosi) di malattie in fase preclinica, attraverso metodiche semplici, sensibili e specifiche.

È necessario distinguere l'attività di screening da un programma di screening: l'attività di screening indica la semplice esecuzione del test di screening mentre un programma di screening comprende l'accertamento diagnostico, il trattamento precoce e il controllo longitudinale dei pazienti individuati attraverso lo screening. In ogni caso l'attuazione di un programma di screening implica una corretta responsabilizzazione della popolazione a cui il programma si rivolge, della classe medica e dell'Autorità politico-sanitaria. È inequivocabile, inoltre, che gli screening realizzati senza che siano soddisfatti i criteri generali che li regolano, risultano economicamente dispersivi e possono creare più danni che vantaggi (1).

In tema di screening si è parlato di un "modello" o "paradigma PKU" per lo screening degli errori congeniti del metabolismo, intendendo sottolineare che la PKU si confronta positivamente con i diversi criteri che qualificano una affezione proponibile razionalmente per un programma di screening.

Gli elementi che configurano l'aderenza al paradigma PKU per l'individuazione degli errori congeniti del metabolismo da sottoporre a screening sono:

- frequenza (intesa come prevalenza della malattia);
- criteri definiti per l'accertamento diagnostico;
- trattamento efficace;
- validità del test di screening (intesa in termini di specificità e di sensibilità del test di screening);
- intervallo di screening adeguato (definito come l'intervallo di tempo che intercorre tra il momento in cui l'errore metabolico incomincia ad essere individuabile allo screening e la comparsa delle manifestazioni cliniche);
- disponibilità di strutture per la diagnosi e il trattamento;
- costi accettabili.

La storia del divenire dell'attività di screening in Italia è stata raccolta nelle sue linee essenziali nei diversi rapporti tecnici delle Conferenze nazionali che dall'inizio degli anni '80 hanno raccolto ed elaborato i dati inviati da tutti i Centri italiani.

I primi due rapporti tecnici sui programmi di screening neonatale in Italia relativi agli anni 1984 (2) e 1987 (3) evidenziavano, di fatto, una estesa carenza delle attività di screening, in particolare in Regioni del Centro-Sud, in assenza di normative e strutture a ciò predisposte.

Nella Tabella 1 vengono riportati il numero dei neonati esaminati e la relativa copertura per lo screening neonatale della PKU e delle altre iperfenilalaninemie (HPA) relative agli anni 1984, 1987 e 1991.

Tabella 1. Screening neonatale per HPA: neonati esaminati e relativa copertura

Neonati	1984	1987	1991
Nati vivi	453.125	512.977	543.112
Esaminati	234.719	347.799	532.692
Copertura	51,8%	67,8%	98,1%

La copertura media della popolazione neonatale italiana per lo screening della fenilchetonuria e delle iperfenilalaninemie (HPA) risultava, in quel periodo, pari al 50% circa per il 1984 e al 68% per il 1987.

Tra il 1988 e la fine del 1990 la situazione si è sostanzialmente modificata in senso positivo: sono stati attivati nuovi Centri e quelli già operanti su realtà parziali hanno esteso la loro attività portando la copertura nazionale media nel 1991 al di sopra del 90% della popolazione neonatale (4).

Nel 1992, infine, l'entrata in vigore della legge quadro n. 104 del 5 febbraio che con l'articolo 6 sanciva l'obbligatorietà per le Regioni di rendere operativo entro sei mesi su tutto il territorio nazionale il test di screening per tre patologie congenite (fenilchetonuria, ipotiroidismo congenito e fibrosi cistica) ha dato un ulteriore impulso alla copertura media nazionale.

Per quanto riguarda la PKU e le altre HPA attualmente sono 22 i Centri, distribuiti in tutte le Regioni italiane, ad eccezione dell'Umbria e del Molise, che effettuano lo screening per tali patologie.

Nella Tabella 2 sono riassunti i dati dello screening neonatale per PKU e HPA relativi agli anni 1991-2000.

Tabella 2. Screening neonatale per PKU e HPA: anni 1991-2000

Nati vivi	Esaminati	Copertura	Diagnosi	PKU	HPA	Dif. BH4	NC
5.367.222	5.294.858	98.6%	1026	382	555	5	84

Come si può osservare sono stati esaminati, durante tale periodo, 5.294.858 neonati con una copertura pari al 98.6%.

Per quanto riguarda le diagnosi accertate, sono stati individuati 1026 soggetti dei quali: 382 con fenilchetonuria classica (Tipo I), 555 con HPA tipo II (che non richiedono trattamento dietetico), 5 con HPA da difetto di cofattore.

Per 84 diagnosi non sono stati forniti dati circa l'inquadramento diagnostico.

L'incidenza delle varie forme di HPA, non includendo le positività confermate ma senza diagnosi definitiva, risulta essere: PKU classica (Tipo I) 1 :13860; HPA Tipo II 1: 9540; HPA da difetto di cofattore 1: 1.058.971.

Va, inoltre, segnalato come tutti i Centri partecipino al controllo di qualità per lo screening delle HPA, organizzato dalla Società Italiana per gli Screening Neonatali (SISN) (5).

Per quanto riguarda le altre attività di screening per le altre malattie metaboliche nella Tabella 3 sono riportati i dati relativi ai Centri italiani che eseguono altri screening, alle malattie sottoposte a screening, alle diagnosi e all'incidenza

Tabella 3. Altre attività di screening: anni 1991-2000

Malattia	N. Centri	N. soggetti esaminati	Diagnosi	Incidenza
Deficienza biotinidasi	2	854.340	27	1 :31.642
Leucinosi	3	1.239.080	11	1 :112.643
Galattosemia	3	1.529.378	39	1 :39.214
Ipermetioninemia	1	489.607	0	0
Tirosinemia	2 (sospeso '95)	166.922	0	0

In conclusione l'analisi dei dati relativi alla copertura nazionale dell'attività di screening per le iperfenilalaninemie, dimostrano dall'inizio degli anni '90 una copertura adeguata. Rimangono comunque aperte problematiche rilevanti che necessitano della nostra attenzione quali:

- la non esistenza di Centri ufficiali di screening in Umbria e Molise, anche se la popolazione neonatale di tali regioni viene esaminata per lo più da Centri di regioni adiacenti;
- la mancanza di coordinamento fra i Centri di screening e quelli di accertamento diagnostico, quando non sono all'interno della stessa struttura; ne consegue che alcuni Centri, anche rilevanti dal punto di vista dei neonati esaminati, non hanno a disposizione dati completi circa le diagnosi definitive;
- la problematica legata alla dimissione precoce del neonato e le sue ripercussioni sugli screening neonatali;
- la valutazione 1) dell'opportunità di proseguire attività di screening diverse da quelle di anche con costi rilevanti, e 2) dell'eventuale necessità di estenderne alcune a tutto il territorio nazionale.

Riferimenti bibliografici

1. Romano C. Valutazione critica degli screening neonatali. In: Durand P (Ed.). *Prevenzione e terapia degli errori genetici del metabolismo*. 1976.
2. Italian Committee of Experts to Neonatal Mass Screening. Neonatal mass screening for metabolic disorders in Italy: technical report of Italian Society of Pediatrics (SIP). In: Therrel BL (Ed.). *Advances in neonatal screening*. New York: Elsevier Science Publishers; 1987. p. 473-4.
3. Italian Committee of Experts to Neonatal Mass Screening. Neonatal mass screening for metabolic disorders in Italy: second technical report of Italian Society of Pediatrics (SIP). In: *International screening symposium of inborn errors of metabolism*: San Paolo, Brasile, 1988.
4. Romano C, Caruso U, Cerone R, Cohen A. 30° Conferenza nazionale sui programmi di screening neonatale in Italia. Genova, 10 aprile 1992.
5. Caruso U, Corbetta C, Piazzi S. Programma italiano di controllo di qualità per lo screening neonatale delle iperfenilalaninemie.

LO SCREENING DELLE MALATTIE METABOLICHE DOMANI

Alberto Burlina, Susanna Catuogno, Giuseppe Giordano
Dipartimento di Pediatria, Azienda Ospedaliera, Università di Padova

L'interesse per lo screening neonatale di massa da quando Robert Guthrie nel 1963 descrisse il metodo per lo screening della fenilchetonuria si è andato progressivamente estendendo in tutto il mondo. All'iniziale test singolo su sangue essiccato su cartoncino o "spot test" si sono via via aggiunti nel corso degli anni altri test per lo screening di malattie metaboliche ereditarie quali leucinosi, omocistinuria, galattosemia, deficit di biotinidasi. sempre nell'ambito dei criteri emanati nel 1968 dal WHO (1).

Nel corso degli anni si è però assistito ad una modificazione del concetto di screening neonatale. Dall'iniziale concetto di screening inteso come "case finding" al significato più ampio di processo di prevenzione, valutazione d'incidenza e caratterizzazione del danno molecolare. Rimane però fondamentale il concetto di screening cioè la capacità di separare soggetti sani dagli affetti, in tempi rapidi e con un numero minimo di falsi positivi e falsi negativi (2).

La storia dello screening neonatale per le malattie metaboliche ereditarie ha visto una continua positiva modificazione dei limiti legati allo screening fino a sovrapporsi ad esame confirmatorio. Questo per l'introduzione di nuove tecnologie analitiche che permettono l'esecuzione di test quantitativi e non solo qualitativi.

Questi profondi cambiamenti, dovuti agli enormi progressi nel campo della tecnologia e delle conoscenze scientifiche, hanno modificato radicalmente lo screening neonatale per le malattie metaboliche ereditarie.

Il 5° Congresso Internazionale della Società degli Screening Neonatali ha definitivamente sancito nuovi parametri per lo screening neonatale delle malattie metaboliche definendo la tecnologia di tandem mass spettrometria (MS/MS) come "gold standard" in questo campo.(3)

Questo documento si propone di fornire i principi e le possibilità applicative della MS/MS nell'ambito dello screening neonatale delle malattie metaboliche ereditarie, quali aminoacidopatie, acidurie organiche e difetti della beta-ossidazione degli acidi grassi.

Principi e capacità diagnostiche della Tandem spettrometria di massa

Risale agli anni '80 l'introduzione nei laboratori pediatrici della tecnica gas cromatografia-spettrometria di massa (GC/MS) che si è dimostrata determinante per la diagnosi di nuove patologie pediatriche quali le acidurie organiche e i difetti della beta-ossidazione degli acidi grassi. Tentativi di applicare questa tecnica allo screening neonatale non hanno avuto successo per difficoltà inerenti soprattutto la gestione del campione di urine (modalità di raccolta, spedizione urine) (4).

Recentemente, alla possibilità di utilizzare nuove strumentazioni spettrometriche di massa (tandem MS/MS) interfacciate ad altre tecniche analitiche (fast atom bombardment FAB-MS/MS, matrice liquida LSI/MS-MS, electrospray ESI/MS-MS) si sono associate conoscenze

biochimiche (funzioni energetiche del mitocondrio, della carnitina e delle sue forme acetilate che hanno permesso di sviluppare nuove metodologie diagnostiche. (5)

In ogni difetto del catabolismo degli amino acidi ramificati o degli acidi grassi in cui sono coinvolti enzimi mitocondriali, si ha un accumulo intramitocondriale dell'intermedio specifico dell'acil-CoA relativo al blocco metabolico.

Le carnitine sono il vettore principale tramite il quale i gruppi acilici lasciano il mitocondrio e, poiché esiste un equilibrio tra le acilcarnitine e i relativi tioesteri del -CoA, l'analisi delle carnitine nel sangue può fornire, con buona approssimazione, l'equivalente dell'analisi degli acil-CoA nei mitocondri. Tuttavia il dosaggio plasmatico della carnitina totale e libera e la misurazione della carnitina esterificata possono indicare solo un aumento anomalo delle acilcarnitine senza tuttavia precisare il tipo di acilcarnitina accumulata.

Di converso, la separazione e l'identificazione delle forme specifiche di acilcarnitine permettono di identificare nei fluidi biologici il difetto metabolico preciso: il profilo delle acilcarnitine diventa quindi un importante test per la diagnosi di patologie mitocondriali quali i difetti della beta-ossidazione degli acidi grassi (6).

L'analisi MS/MS dei singoli ioni permette di identificare sia un profilo metabolico diagnostico per ogni estere di carnitina presente nel liquido biologico sia la determinazione degli aminoacidi plasmatici.(7)

Nella Figura 1 sono riportati alcuni esempi di diagnosi di acidurie organiche eseguiti su spot mediante MS/MS.

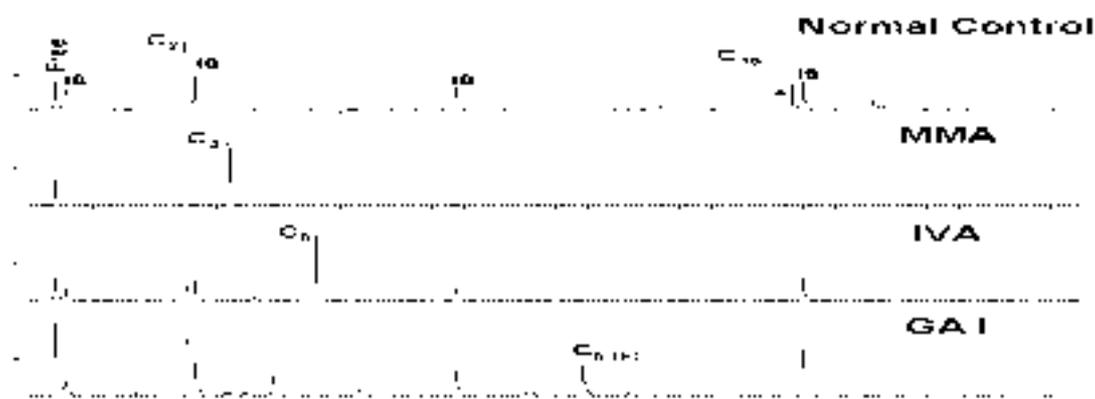


Figura 1. Profilo degli esteri di acilcarnitina in MS/MS)

Tandem spettrometria di massa e screening neonatale

Il successo di questa tecnica si basa su concetti innovativi per lo screening neonatale:

- È possibile ridurre il numero di richiami e di re-test a limiti molto bassi (<0,3 %) e pertanto ridurre i richiami, fonte di stress per la famiglia (8). Questo perché la strumentazione fornisce un'analisi quantitativa basata sul concetto della specificità del riconoscimento del metabolita dato che la separazione e l'analisi avvengono

simultaneamente e interamente all'interno dello spettrometro di massa. Se si confronta con la tecnica fluorimetrica per lo screening della fenilchetonuria non solo la MS/MS ha confermato i casi positivi ma ha ridotto il numero di falsi positivi da 9 a 3. La successiva possibilità di applicare invece del singolo dosaggio della fenilalanina il rapporto fenilalanina / tirosina come indicatore dello stato di iperfenilalaninemia ha ridotto ad uno il numero di falsi positivi. Inoltre riconoscimento di casi positivi, monitoraggio e controllo dietetico possono essere eseguiti con lo stesso strumento (9). Nella nostra esperienza i soggetti con PKU in dieta vengono seguiti non solo con il dosaggio della fenilalanina ma anche della tirosina e ciò permette una migliore compliance della malattia dato il ruolo che quest'ultimo aminoacido riveste nella dieta (10).

- La maggior specificità e sensibilità della tecnica MS/MS permette di anticipare i tempi dell'esecuzione dello screening neonatale (anche nelle prime 24 ore di vita) e pertanto di risolvere il problema di screening e dimissione precoce del neonato. L'esperienza condotta su un gruppo etnico a rischio per leucinosi ha dimostrato che i soggetti positivi mostrano valori anomali già nelle prime 24 ore di vita e pertanto la diagnosi permette la possibilità di un precoce intervento terapeutico (11).
- La sensibilità dello strumento permette l'introduzione di nuovi screening per malattie metaboliche ereditarie. È il caso dell'omocistinuria, dei difetti degli acidi biliari, delle malattie perossisomiali ma anche patologie definite non prettamente neonatali quali malattie lisosomiali. Per queste ultime il processo combinato della tecnica nota come LAMP-1 associata a MS/MS permette l'analisi degli oligosaccaridi e pertanto di malattie neurologiche altamente invalidanti e difficilmente diagnosticabili (12, 13).

Risultati

Le prime esperienze su larga scala di screening neonatale con questa tecnica risalgono alla fine degli anni '90 e hanno dimostrato l'efficacia della metodica nel riconoscere le aminoacidopatie, alcune acidurie organiche e i difetti della ossidazione degli acidi grassi e hanno cominciato a fornire i primi dati sull'incidenza di queste patologie.

Chase *et al.* (14) in uno studio durato sei anni hanno studiato 746.337 neonati per i difetti degli aminoacidi e 687.630 neonati per acidurie organiche, includendo anche difetti della B ossidazione degli acidi grassi. Sono stati diagnosticati 163 pazienti di cui 86 aminoacidopatie, 32 acidurie organiche e 45 difetti della beta-ossidazione degli acidi grassi. La frequenza stimata pertanto risultava di 1 affetto per uno di questi difetti ogni 4000 nati.

Klose *et al.* (15) hanno determinato l'incidenza nei neonati dei difetti della beta-ossidazione e delle acidurie organiche in un periodo di 24 mesi in Germania. Lo studio che ha interessato 844.575 neonati ha permesso di identificare 57 pazienti permettendo una stima di questi difetti pari ad un neonato affetto ogni 14.800 screenati.

Attualmente sono in corso in Europa, negli Stati Uniti e in Australia.

Uno studio condotto nello stato del Wisconsin (USA) e focalizzato sull'incidenza del difetto delle deidrogenasi degli acidi grassi a media catena (MCAD) una delle più frequenti cause di morte improvvisa nel lattante. Lo screening mediante MS/MS ha confermato la capacità di riconoscere tutti i pazienti affetti già con il primo campione di sangue permettendo di iniziare la terapia prima dell'inizio della comparsa dei sintomi. In termini di costo/beneficio, il beneficio del costo dello screening è coperto sia dalla riduzione del numero di ricoveri e dalla prevenzione dell'handicap legato alla patologia (16).

In Australia (New South Wales) l'incidenza si è dimostrata estremamente elevata pari ad un neonato affetto ogni 4419 nati su una popolazione di 137.000 nati. Anche qui l'efficacia del

riconoscimento precoce ha evitato l'insorgere dello scompenso metabolico acuto che rappresenta la principale causa di morte di queste patologie (17).

La nostra esperienza (18) è iniziata nel 2001 in una zona limitata del Veneto (Provincia di Belluno) e ha fino ad ora interessato una popolazione di 1500 neonati. I campioni sono stati raccolti entro le prime 24 ore di vita e il campione processato entro le prime 72. Sono stati sottoposti a screening i difetti degli aminoacidi, della beta-ossidazione degli acidi grassi e alcune acidurie organiche (Tabella 1).

Tabella 1. Patologie sottoposte a screening neonatale mediante MS/MS presso il Dipartimento di Pediatria, Azienda ospedale, Università di Padova

Gruppo di patologia	Patologia
Difetti beta-ossidazione acidi grassi	Deficit del acil-CoA deidrogenasi per acidi grassi a corta catena (SCAD) Deficit del acil-CoA deidrogenasi per acidi grassi a media catena (MCAD) Deficit del acil-CoA deidrogenasi per acidi grassi a lunga catena (LCAD) Deficit multiplo del acil-CoA deidrogenasi (MADD) Deficit del 3-OHacil-CoA deidrogenasi (LCHAD) Deficit della carnitina palmitoil transferasi (CPT-II) Deficit del 2,4-dienoil-CoA reductasi Deficit della Traslocasi
Acidurie organiche	Deficit della propionil-CoA carbossilasi Acidemia metilmalonica (tutti i tipi) Deficit della isovaleril-CoA deidrogenasi Deficit della metilcrotonil-CoA carbossilasi Deficit della β -chetotilasi Deficit della glutaril-CoA deidrogenasi Deficit della 3OH-3metilglutaril-CoA liasi
Aminoacidopatie	Fenilchetonuria (PKU) Leucinosi (MSUD) Tirosinemia Iperglicinemia non chetotica Citrullinemia Argininsuccinico aciduria Argininemia Difetto di ornitincarbamiltransferasi Omocistinuria

Sono stati diagnosticati 3 pazienti con malattia metabolica ereditaria, rispettivamente una iperfenilalaninemia, una aciduria metilmalonica e un difetto di 3 metilcrotonil-coa carbossilasi (MCC), difetto mai prima diagnosticato nella nostra casistica (Tabella 2). È importante sottolineare che la precocità dell'indagine ha permesso di identificare il paziente con metilmalonico acidemia prima che presentasse segni di scompenso metabolico acuto.

In termini di costi, grazie alla riduzione dei costi della strumentazione e della possibilità di esaminare fino a 500 campioni /die il costo per lo screening è stato quantificato in 35 €. Vale la pena ricordare che il tariffario nazionale per il solo dosaggio plasmatici degli aminoacidi indica una cifra che varia dai 100 ai 150 €/campione. Se a ciò si aggiunge che con lo screening si riconoscono difetti che possono portare rapidamente a morte o a grave handicap, lo screening diventa atto l'unico vero atto di prevenzione che al momento possiamo utilizzare per queste malattie.

Tabella 2. Malattie metaboliche ereditarie diagnosticate mediante MS/MS

Malattia	Pazienti diagnosticati	
	retrospettivamente	allo screening neonatale*
PKU	3	1
MSUD	3	0
ASL	2	0
ASS	2	0
NKH	3	0
Biotinidase	4	0
MMA	3	1
PA	4	0
MCAD	4	0
VLCAD	4	0
MADD	11	0
LCHAD	4	0
CPT I	1	0
MCC	0	1
Totale	48	3

*Regione Veneto (Provincia di Belluno)

Un'altra esperienza è iniziata in Italia, anche se per ora limitata allo screening della fenilchetonuria, ha dimostrato come questa indagine permessa di identificare già nello spot le varie forme di iperfenilalaninemia (19).

Indicazioni future

Il nuovo millennio rappresenta una nuova era per i programmi di screening grazie alle nuove tecnologie e all'aumentare delle conoscenze genetiche (20).

Anche se recentemente si è ipotizzato che l'analisi genetica della mutazione 985G>A possa diventare il "goal standard" per lo screening neonatale del difetto MCAD, scelte come questa devono essere considerate solo in quelle popolazioni ove l'epidemiologia della malattia sia nota nella sua totalità. È impossibile ipotizzare uno screening neonatale basato solo sullo studio di mutazione prima di aver analizzato i pazienti noti e di essere certi dell'incidenza della patologia stessa.

Lo screening neonatale mediante MS/MS modificherà il concetto di screening delle malattie metaboliche ereditarie.

Lo screening non solo per il trattamento immediato della patologia metabolica ma anche per il riconoscimento di soggetti affetti da una malattia metabolica ereditaria a presentazione nelle epoche successive. Pertanto ad una prima fase di identificazione del metabolita anomalo, seguirà la caratterizzazione molecolare della malattia permettendo così di definire l'incidenza della malattia stessa nell'area geografica studiata. Inoltre anche per alcune patologie altrimenti difficilmente diagnosticabili, il riconoscimento permetterà di fornire ai genitori un corretto consiglio genetico (21).

La necessità di Centri ad alta specializzazione per la cura delle malattie metaboliche ereditarie anche alla luce di nuove possibilità terapeutiche. È impensabile che al progetto di screening così articolato non segua la possibilità terapeutica o che il ritardo terapeutico vanifichi la precocità dell'intervento. Pertanto allo screening deve seguire un maggior interesse culturale per le malattie metaboliche ereditarie sia in termine di conoscenze generali del pediatra o del medico

di famiglia sia di Centri specialistici che sappiano curare i pazienti metabolici. Con questo processo pertanto lo screening rivestirà il vero ruolo di indagine di prevenzione delle patologie metaboliche ereditarie fornendo quelle informazioni genetiche ed epidemiologiche fondamentali nello stimare il peso sociale di queste patologie (22).

In conclusione è da auspicare che anche in Italia in tempi brevi possa iniziare lo screening neonatale mediante MS/MS che risulterà in un miglioramento della qualità di vita dei pazienti affetti da malattia metabolica ereditaria.

Bibliografia

1. WHO. Technical report series 401,1968.
2. Pollitt-RJ. Tandem mass spectrometry screening: proving effectiveness. *Acta Paediatrica* 1999;88 Suppl. 432:40-2.
3. Roscher A Tandem mass spectrometry. In: *5th Meeting of the International Society for neonatal screening*. Genova 26-28 June 2002. p. 77.
4. Chase DH. Mass Spectrometry in the clinical laboratory. *Chem Rev* 2001;102:445-77.
5. Sewell AC, Bohles HJ. Acylcarnitines in intermediary metabolism. *Eur J Pediatr* 1995;154(11):871-7.
6. Rashed MS, Ozand PT, Harrison ME, *et al*. Electrospray tandem mass spectrometry in the diagnosis of organic acidemias. *Rapid Comm Mass Spectrom* 1994;8:129-33.
7. Rashed M, Ozand P, Bucknall M, Little D. Diagnosis of inborn errors of metabolism from blood spots by acylcarnitines and amino acids profiling using automated electrospray tandem mass spectrometry. *Pediatr Res* 1995;38:324-31.
8. Rashed MS, Bucknall MP, Little D, Awad A, Jacob M, Alamoudi M *et al*. Screening blood spots for inborn errors of metabolism by electrospray tandem mass spectrometry with a microplate batch process and a computer algorithm for automated flagging of abnormal profiles. *Clin Chem* 1997;43:1129-41.
9. Chace DH, Millington DS, Terada N, Kahler S, Roe C, Hofman L. Rapid diagnosis of phenylketonuria by quantitative analysis for phenylalanine and tyrosine in neonatal blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1993;39:66-71.
10. Burlina AB, Giordano G, Gallo L, Catuogno S, Zacchello F. The value of phenylalanine and tyrosine concentration using MS/MS for monitoring PKU patients (Abs). In: *5th Meeting of the International Society for Neonatal Screening*. Genova 26-28 June 2002. W2.3.
11. Chace DH, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Roe CR, Naylor EW. Rapid diagnosis of maple syrup urine disease in blood spots from newborns by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1995;41:62-68
12. Chace DH, Hillman SL, Millington DS, Kahler SG, Adam BW & Levy HL. Rapid diagnosis of homocystinuria and other hypermethioninemias from newborns blood spots by tandem mass spectrometry. *Clin Chem* 1996;42:349-55.
13. Johnson DW. A rapid screening procedure for the diagnosis of peroxisomal disorders: quantification of very long-chain fatty acids, as dimethyl-aminoethyl esters, in plasma and blood spots, by electrospray tandem mass spectrometry. *J Inherit Metab Dis* 2000;23:475-86.
14. Chace DH, DiPerna JC, Naylor EW. Laboratory integration and utilization of tandem mass spectrometry in neonatal screening: a model for clinical mass spectrometry in the next millennium. *Acta Paediatr* 1999;88 Suppl. 432:45-7.

15. Klose DA, Kolker S, Heinrich B, *et al.* Incidence and short term outcome of children with symptomatic presentation of organic acid and fatty acid oxidation disorders in Germany. *Pediatrics* 2002;110(6):1204-11.
16. Insigna R, Laessig RH, Hoffman GL. Newborn screening with tandem mass spectrometry: examining its cost-effectiveness in the Wisconsin newborn screening panel. *J Pediatr* 2002;141:524-31.
17. Carpenter KH, Wiley V. Application of tandemmass spectrometry to biochemical genetics and newborn screening. *Clin Chim Acta* 2002;322:1-10.
18. Burlina AB, Giordano G, Catuogno S, Zacchello F. The role of tandem mass spectrometry in the diagnosis of metabolic diseases: the Veneto experience. *Riv Ital Ped* 2001;10:240-7.
19. La Marca G, Pasquini E Donati MA, *et al.* Newborn screening in Tuscany: first applications of tandem MS (Abs). In: *5th Meeting of the International Society for Neonatal Screening*. Genova 26-28 June 2002. p. 77.
20. Levy HL. Newborn screening by tandem mass spectrometry: a new era. *Clin Chem* 1998;44:2401-2.
21. Pollitt RJ. Newborn mass screening versus selective investigation: benefits and costs. *J Inher Metabolic Dis* 2001;24(2):299-302.
22. Larsson A. Neonatal screening in the New Millennium. *Acta Paediatrica* 1999; 88 Suppl.

*La riproduzione parziale o totale dei Rapporti e Congressi ISTISAN
deve essere preventivamente autorizzata.*

*Stampato da Ditta Grafiche Chicca & C. snc
Via di Villa Braschi 143, 00019 Tivoli (Roma)*

Roma, dicembre 2003 (n. 4) 15° Suppl.