

Anno XIX, n. 74
Settembre 2017
Tariffa Associazioni
senza scopo di
lucro: "Poste Italiane
Spa - Spedizione in
abbonamento Postale -
D.L. 353/2003 (conv.
In L. 27/02/2004 n° 46)
art. 1 - comma 2 -
DCB Milano

Vivi Rett

QUADRIMESTRALE DI INFORMAZIONE E ATTUALITÀ SULLA SINDROME DI RETT

AIRETT è iscritta alle ONLUS (Organizzazione non lucrativa di attività sociale) aderente alla R.S.E. (Rett Syndrome Europe)



ATTI DEL CONVEGNO NAZIONALE AIRETT

Cassano D'Adda (Mi), 27-28 maggio 2017

In caso di MANCATO RECAPITO restituire al CLR di COMO per la restituzione al mittente previo pagamento resi

3 INFORETT	
4 LETTERA DEL PRESIDENTE	
5 Presentazione convegno	
Cura, ricerca e prevenzione: a che punto siamo?	
6 Programma Convegno	
7 Intervento di apertura del Convegno del Presidente AIRett	
8 INTERVENTI	
Prevenzione odontoiatrica: obiettivi pratici e realizzabili	
9 Il passaporto clinico: aggiornamento delle chiavette e predisposizione e consegna delle nuove	
12 L'indennità di comunicazione ex art.1 Legge n. 95/2006	
13 La terapia genica nella RTT: sogno o realtà?	
15 Nuovi approcci con cellule staminali derivate dal paziente per la valutazione di molecole terapeutiche nella RTT	
18 Alla ricerca di un "interruttore molecolare" che riattivi la copia dormiente di MECP2	
21 Studi preclinici sulla sindrome CDKL5: nuovi aggiornamenti	
22 Target molecolari e terapeutici in pazienti mutati FOXP1 e MECP2	
23 Vecchi farmaci per nuove terapie: Mirtazapina e simili	
	30 La stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS): quali possibilità di impiego nella RTT?
	31 Il ruolo della proteina JNK nella RTT: possibili strategie terapeutiche
	32 Apprendo e comunico con il Tobii: come un sistema puntamento oculare può migliorare la qualità della vita
	34 Sintesi del progetto "Io con te Posso volare"
	37 I problemi funzionali dell'apparato gastroenterico: prevenzione, diagnosi e cura. Nutrizione ed integratori
	39 Nutrizione e integratori nella RTT
	41 Problematiche respiratorie nella RTT
	42 Infezioni urogenitali: prevenzione, diagnosi e cura
	44 Nutraceutica: quali possibili utilizzi?
	46 Cannabinoidi: prospettive attuali ed esperienze effettuate
	49 Terapia con CBD: esempio di sicurezza ed efficacia in 2 casi di encefalopatia epilettica CDKL5-correlata
	51 La cannabis e i cannabinoidi: l'uso terapeutico e indicazioni
	57 Trial internazionale placebo-controllato con Sarizotan* per i sintomi respiratori nella RTT: fase di arruolamento
	59 Microbiota intestinale e sindrome di Rett
	60 PER ASSOCIARSI ALL'AIRETT

Direttore responsabile:

Marinella Piola - Lucia Dovigo

Redazione:

Via G. Sirtori 10 - 37128 Verona

e-mail: redazione@airett.it

Tel. 339.8336978 - www.airett.it

Editore:

AIRett (Associazione Italiana Rett)

Onlus

V.le Bracci, 1 - Policlinico Le Scotte - Siena

Registrazione presso il Tribunale di Milano n. 392 del 5 luglio 1997

Tariffa Associazioni senza scopo di lucro:

"Poste Italiane Spa - Spedizione in abbonamento Postale - D.L. 353/2003 (conv. In L. 27/02/2004 n° 46) art. 1 - comma 2 - DCB Milano

Stampa:

Tipografia Valsecchi - Erba

VIVIRETT - Periodicità quadrimestrale

Ricezione del materiale per la pubblicazione sulla rivista

- inviare il materiale in formato digitale a: redazione@airett.it
- Inviare il materiale cartaceo a: Lucia Dovigo - Via G. Sirtori, 10 37128 Verona
- Per informazioni: Cell. 339.8336978

CONSIGLIO DIRETTIVO AIRETT

Presidente:

Lucia Dovigo Dell'Oro

Vicepresidente:

Nicola Sini

Consiglieri:

Ines Bianchi

Antonella Faleschini

Giuseppe Scannella

Cristiana Mantovani

Silvia Giambi

Collegio Revisori:

Presidente:

Giovanni Ampollini

Revisori:

Cristina Canciani

Andrea Vannuccini

COMITATO SCIENTIFICO OPERATIVO

Prof. Canevini (Neuropsichiatria)

Prof. Fabio (Psicologa)

Dott. Hayek (Neuropsichiatria)

Dott. Pizzorusso (Genetista)

Prof. Renieri (Genetista)

Dott. Rodocanachi (Neurologa/fisiatra)

Dott. Russo (Genetista)

Prof. Veneselli (Neuropsichiatria)

COMITATO SCIENTIFICO ONORARIO

Prof. Budden-USA (Pediatria)

Prof. Becchetti (Chirurgo Ortopedico)

Prof. Bruschetti (Pediatria)

Prof. Cioni (Neuropsichiatria)

Dott. Fiumara (Pediatria)

Prof. Godall-USA (Fisiatra)

Prof. Guerrini (Neuropsichiatria)

Dott. Pini (Neuropsichiatria)

Prof. Portinaro (Chirurgo ortopedico)

Dott. Senez-Francia (Nutrizionista)

Prof. Zappella (Neuropsichiatria)

INFORMAZIONI UTILI

QUOTE ASSOCIATIVE GENITORI:

Validità quota associativa:

dal 01/01 al 31/12 di ogni anno

Rinnovo quota associativa:

come da Statuto entro il 28 febbraio di ogni anno. Il pagamento della quota associativa compete al genitore associato che ha diritto a:

- Ricevere con cadenza quadrimestrale la rivista ViviRett;
- Partecipare ai progetti promossi da AIRett;
- Partecipare con sconti speciali a convegni e seminari;
- Acquistare con sconti speciali i libri tradotti da AIRett;
- votare per l'elezione del nuovo CD con cadenza triennale.

Per iscriversi all'AIRETT (Associazione Italiana Rett) Onlus compilare il modulo pubblicato in fondo alla rivista

È possibile sia utilizzare il **Bollettino di Conto Corrente Postale** allegato a questo numero di ViviRett, che il **Bonifico Bancario** per effettuare tutti i versamenti di contributi volontari e quote associative.

- **BONIFICO BANCARIO:** intestato ad "AIRett (Associazione Italiana Rett) ONLUS" IBAN: IT64P0200811770000100878449
- **BOLLETTINO DI C/C POSTALE:** C/C n: 10976538 intestato ad "AIRett Viale Bracci, 1 - 53100 Siena"

Per destinare il "5 per mille" alla nostra Associazione il codice fiscale è il seguente: 92006880527



Gloria e Giulia

Che cos'è la Sindrome di Rett?

La Sindrome di Rett è una malattia dello sviluppo neurologico che si manifesta prevalentemente nei primi due anni di vita. La malattia nella sua forma più classica riguarda solo le bambine e si colloca in un rapporto di 1/10.000 e 1/15.000. La quasi totalità dei casi è sporadica, tuttavia è stato riferito qualche raro caso familiare. L'identificazione della Sindrome di Rett come un distinto fenotipo, si deve all'esperienza clinica del professore austriaco Andreas Rett più di vent'anni fa. Una recensione sulla malattia eseguita dallo svedese Bengt Hagberg fu pubblicata nel 1983 su un giornale di neurologia inglese. L'articolo forniva una rassegna di 35 casi. La documentazione clinica, nuovi dati biochimici, fisiologici e genetici furono presentati a Vienna durante una conferenza nel 1984.

Da allora, l'interesse per la malattia si è accresciuto, favorendo familiarità utile per la diagnosi e la divulgazione scientifica, fondamentale per successive ricerche. Fino al settembre 1999, la diagnosi della RTT si basava esclusivamente sull'esame clinico. Da allora viene confermata, in circa l'ottanta per cento dei casi, dalla genetica molecolare (MeCP2).

In seguito sono stati identificati altri due geni responsabili della malattia, CDKL5 e FOXP1.

DIAGNOSI DELLA SINDROME DI RETT

Diagnosticare la Sindrome di Rett significa riscontrare queste caratteristiche:

1. periodo prenatale e postnatale apparentemente normale
2. sviluppo psicomotorio apparentemente normale nel corso dei primi sei mesi - quattro anni
3. misura normale della circonferenza cranica alla nascita con rallentamento della crescita del cranio tra i sei mesi e i quattro anni di vita
4. perdita dell'uso funzionale delle mani tra i sei e i trenta mesi, associato a difficoltà comunicative e ad una chiusura alla socializzazione
5. linguaggio ricettivo ed espressivo gravemente danneggiati, ed evidente grave ritardo psicomotorio
6. comparsa dei movimenti stereotipati delle mani; serrate, strofinate, portate alla bocca
7. aprassia della deambulazione e aprassia - atassia della postura tra i dodici mesi e i quattro anni
8. la diagnosi rimane dubbia tra i due e i cinque anni.

GLI STADI CLINICI DELLA SINDROME DI RETT

Fase 1

Tra i 6 e i 18 mesi. Durata: mesi

Rallentamento e stagnazione dello sviluppo psicomotorio fino a quel momento normale. Compare disattenzione verso l'ambiente circostante e verso il gioco. Sebbene le mani siano ancora usate in maniera funzionale, irrompono i primi sporadici stereotipi. Rallenta la crescita della circonferenza cranica.

Fase 2

Da 1 ai 3 anni. Durata: settimane, mesi

Rapida regressione dello sviluppo, perdita delle capacità acquisite, irritabilità, insonnia, disturbo dell'andatura. Compaiono manifestazioni di tipo autistico, perdita del linguaggio espressivo e dell'uso funzionale delle mani accompagnata dai movimenti stereotipati, comportamenti autolesivi. La regressione può essere improvvisa o lenta e graduale.

Fase 3

Stadio pseudo stazionario. Durata: mesi, anni

Dopo la fase di regressione, lo sviluppo si stabilizza. Diminuiscono gli aspetti di tipo autistico e viene recuperato il contatto emotivo con l'ambiente circostante. Scarsa coordinazione muscolare accompagnata da frequenti attacchi epilettici.

Fase 4

All'incirca dopo i 10 anni. Durata: anni

Migliora il contatto emotivo. Gli attacchi epilettici sono più controllabili. La debolezza, l'atrofia, la spasticità e la scoliosi impediscono a molte ragazze di camminare, anche se non mancano le eccezioni. Spesso i piedi sono freddi, bluastri e gonfi a causa di problemi di trofismo.

L'AIReTT (Associazione Italiana Rett)

L'AIReTT dal 1990 si pone come obiettivi da una parte quello importante/fondamentale di promuovere e finanziare la ricerca genetica per arrivare quanto prima ad una cura, dall'altro quello alquanto necessario di sostenere la ricerca clinica - riabilitativa, per individuare soluzioni alle numerose problematiche che un soggetto affetto da Sindrome di Rett si trova quotidianamente ad affrontare. A tal fine oltre che finanziare mirati progetti di ricerca supporta la formazione di medici e terapisti presso centri per la RTT all'avanguardia a livello internazionale ed è impegnata alla creazione in Italia di centri di riferimento specializzati nella RTT per la diagnosi, il check up e la stesura di un adeguato programma di riabilitazione e cura della sintomatologia.

È membro della RSE (Rett Syndrome Europe), promuove convegni a livello internazionale.

È un importante punto di riferimento e di contatto per famiglie con ragazze affette da Sindrome di Rett, aggiorna sulle novità riguardanti la malattia attraverso la rivista "ViviReTT", ad uscita quadrimestrale, e tramite il proprio sito internet.

Mette a disposizione degli associati, esperti per aiutarli nel trovare soluzioni a problematiche sanitarie/assistenziali/scolastiche.

Carissimi,

questo numero di Vivirett è interamente dedicato agli atti del nostro Convegno Nazionale sulla Sindrome di Rett, tenutosi lo scorso maggio a Cassano D'Adda.

Ci scusiamo per il ritardo nell'uscita della rivista, dovuto alla volontà di inserire tutte gli interventi dei medici. Purtroppo due relazioni non ci sono ancora pervenute ma contiamo di poterle includere nel prossimo numero.

Cassano d'Adda è stato un Convegno ricco di interventi molto interessanti, con contenuti di grande valenza scientifica. I partecipanti sono stati oltre 350, con una larga presenza di famiglie con bimbe Rett che durante i due giorni della manifestazione hanno potuto usufruire anche della "Cura sul campo".

Un grazie:

- ai professionisti/relatori per la grande valenza dei loro interventi;
- alle famiglie e a tutti i presenti per la numerosa partecipazione;
- ai nostri sostenitori/testimonial (Mara Maionchi, Filippo Roma, Fabrizio Fasciani, Lara Ferrari, Roberto De Marchi...) e a tutti coloro che hanno contribuito a rendere molto emozionante la cena del sabato sera in onore delle nostre splendide bimbe e ragazze.

A fine Convegno, come di consueto, si è tenuta l'Assemblea di AIRett, che era chiamata anche a rinnovare le cariche del Consiglio Direttivo e forse anche per questa ragione ha visto la partecipazione, rispetto a precedenti anni, di un numero notevole di associati.

In Assemblea è stata fatta una dettagliata relazione sull'attività svolta nell'ultimo triennio, raccogliendo consensi e soddisfazione rispetto all'operato.

Nel prossimo numero di ViviRett verrà dedicato ampio spazio ai lavori assembleari, ma già ora sul nostro sito www.airett.it o al link <https://www.youtube.com/watch?v=McwKS3fXcFQ&feature=youtu.be> potrete trovare un filmato con una sintesi dei contenuti della relazione. Invitiamo tutti a visionarlo per rendersi conto dell'importanza del lavoro svolto in questi anni.

Buona lettura e buona visione

Lucia Dovigo



CONVEGNO NAZIONALE AIRETT “Cura, ricerca e prevenzione: a che punto siamo?,”

27-28 maggio 2017 - Cassano d’Adda, MI

Edvige Veneselli - Lucia Dovigo

Il Convegno Nazionale AIRett - di cui in questo numero speciale di *ViviRett* pubblichiamo gli atti - ci ha offerto un’importante occasione per incontrarci, uniti nell’impegno per la Sindrome di Rett, con il tema “Cura, ricerca e prevenzione: a che punto siamo?”.

Abbiamo iniziato con una novità assoluta: durante il Convegno sono stati offerti utili servizi e prestazioni alle nostre bambine dagli occhi belli! La loro presentazione è stata effettuata all’apertura con una premessa informativa: le cure dentarie opportune soprattutto per la prevenzione della salute dei denti e gli interventi odontoiatrici possibili nel Convegno; nell’ambito del Progetto Passaporto Clinico, l’aggiornamento delle chiavette consegnate e la compilazione e la consegna di nuove chiavette alle famiglie interessate da parte dei centri di eccellenza; l’aggiornamento sull’indennità di comunicazione e sulla nuova legislazione per il “Dopo di noi”, svolto da consulente legale, poi a disposizione delle famiglie per quanto di competenza.

Dopo questa parte preliminare, la sessione della ricerca sulla Sindrome di Rett ci ha portato rilevanti contributi innovativi: sulle ultime novità sulla terapia genica, sogno per tutti noi e ora vicina alla realtà; sull’uso delle cellule staminali per la valutazione di molecole terapeutiche; su un “interruttore molecolare” che potrebbe riattivare la copia dormiente di MECP2; sugli studi preclinici sulla sindrome CDKL5; sul ruolo del FOXG1 nel neurosviluppo, nella variante congenita della sindrome di Rett (RTT).

Nella sessione dedicata alle nuove molecole (I parte), sono stati esaminati: gli studi preclinici con Mirtazapina e la possibilità di eseguire un trial farmacologico con tale prodotto;

il ruolo della proteina JNK nella RTT e le nuove strategie terapeutiche correlate.

In Sessione parallela si è tenuto il Workshop per insegnanti e terapisti del Progetto Fondazione Vodafone “Apprendo e comunico con il Tobii”.

Nel pomeriggio abbiamo conosciuto i risultati preliminari dei Progetti AIRett nella riabilitazione: per il Progetto Fondazione Vodafone, come il sistema di puntamento oculare amplia la comunicazione aumentativa e il potenziamento cognitivo e può migliorare la qualità della vita delle nostre bambine; per il Progetto sulla stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS), quali possibilità di impiego nella RTT e la sua influenza nella riabilitazione cognitiva; per il miglioramento delle competenze motorie e il contenimento delle possibili complicazioni, come le nostre bambine possono seguire il programma impostato da Lotan Meir, a seguito dei Corsi di Formazione organizzati da AIRett in tutta Italia nell’ultimo anno.

È seguita la sessione sugli aggiornamenti dai clinici per un avanzamento delle cure: nei problemi funzionali dell’apparato gastroenterico, nelle infezioni respiratorie e nelle infezioni urogenitali, con consigli su come prevenirle, identificarle attentamente e curarle nel migliore dei modi; nei disturbi nutrizionali, su come migliorarli, anche con il supporto di integratori e di prodotti nutraceutici.

Nella seconda giornata, in prosecuzione della sessione sulle nuove molecole, siamo stati informati sulla fase di arruolamento del Trial con Sarizotan per i sintomi respiratori e sul trial clinico con trofinetide, appena terminato, che ha suscitato molte speranze negli USA.

La sessione conclusiva è stata dedicata alle prospettive future dalla ri-

cerca alla clinica, in interessanti due ambiti di particolare interesse ed attualità: l’uso terapeutico e le indicazioni cliniche della cannabis e dei cannabinoidi, molto discussi e forieri di buone speranze anche per la RTT, le esperienze in corso e le possibili prospettive; il ruolo del microbiota intestinale, le basi scientifiche e le ricerche svolte ad ulteriore aiuto nella RTT.

Per tutti noi coinvolti nella sfida alla Sindrome di Rett, sono state due giornate intense e di estremo interesse, per la cui organizzazione desideriamo ringraziare sentitamente Maria Pintaudi. Abbiamo ascoltato ricercatori di livello internazionale, clinici particolarmente esperti, riabilitatori di grande peso, che sono impegnati a proseguire il percorso intrapreso, mirato a dare un futuro migliore per le nostre bambine dagli occhi belli. Sono stati tutti a disposizione dei partecipanti per rispondere alle loro domande e, questa volta, anche per fornire servizi diretti. Come gli altri anni, le bambine e le ragazze hanno avuto intrattenimenti a loro dedicati. Al sabato sera abbiamo infine partecipato alla cena in onore delle nostre Principesse con tanta musica e spettacolo.

Ancora una volta insieme, in amicizia e solidarietà! ■

PROGRAMMA DEL CONVEGNO

SABATO 27 MAGGIO 2017

8.45	Apertura – <i>Lucia Dovigo</i> , Presidente AIRett – Benvenuto e introduzione dei lavori
	I SERVIZI ALLE NOSTRE BAMBINE E RAGAZZE: LE PRESTAZIONI OFFERTE OGGI <i>Moderatori: Edvige Veneselli, Raffaella Cusmai</i>
9.00	<i>Enrico Calcagno, Clara Mirabell Izard</i> Prevenzione odontoiatrica: obiettivi pratici e realizzabili
9.15	<i>Edvige Veneselli, Francesca Camia</i> Il Passaporto clinico: aggiornamento delle chiavette e predisposizione e consegna delle nuove
9.30	<i>Patrizia Cervesi</i> Indennità di comunicazione e nuova legge sul “Dopo di noi”
9.45	<i>Domenico Siciliano, Andrea Recanati e Pietro Villa</i> Il welfare assicurativo – Le soluzioni UnipolSai
	STUDI E AGGIORNAMENTI DALLA RICERCA <i>Moderatori: Maurizio D'Esposito, Maria Paola Canevini</i>
10.00	<i>Jean-Christophe Roux</i> Terapia Genica nella Sindrome di Rett; sogno o realtà?
10.30	<i>Silvia Russo</i> Nuovi approcci con cellule staminali derivate dal paziente per la valutazione di molecole terapeutiche nella Sindrome di Rett
10.45	<i>Marcella Vacca</i> Alla ricerca di un “interruttore molecolare” che riattivi la copia dormiente di MECP2 nel cromosoma X
11.00	Discussione
11.20	Coffee-break
11.45	<i>Tommaso Pizzorusso</i> Studi preclinici sulla sindrome CDKL5: nuovi aggiornamenti
12.00	<i>Ilaria Meloni</i> Target molecolari terapeutici in pazienti mutati FOXP1 e MECP2
12.15	Discussione
	NUOVE MOLECOLE: QUALI PROSPETTIVE – PARTE 1 <i>Moderatori: Tommaso Pizzorusso, Michela Fagiolini</i>
12.30	<i>Enrico Tongiorgi</i> Vecchi farmaci per nuove terapie: Mirtazapina e simili
12.50	<i>Tiziana Borsello</i> Ruolo della proteina JNK nella Sindrome di Rett: possibili nuove strategie terapeutiche?
13.05	Discussione
13.15	Pranzo
	I PROGETTI AIRETT: RISULTATI PRELIMINARI <i>Moderatori: Fabrizia Scotti, Aglaia Vignoli</i>
14.15	<i>Rosa Angela Fabio, Samantha Giannatiempo</i> Apprendo e comunico con il Tobii: come un sistema di puntamento oculare può migliorare la qualità della vita: i primi sviluppi del progetto “Aiutiamo le bimbe dagli occhi belli” finanziato da Fondazione Vodafone.
14.45	<i>Alberto Priori (Roberta Ferrucci)</i> La stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS): quali possibilità di impiego nella Sindrome di Rett?
15.00	<i>Rosa Angela Fabio</i> L'influenza della tDCS nella riabilitazione cognitiva
15.15	<i>Meier Lotan, Alberto Romano</i> Considerazioni e aspetti dell'approccio riabilitativo di un gruppo Italiano di pazienti affette da Sindrome di Rett

15.45	Discussione
16.00	Coffee-break
	AGGIORNAMENTI DAI CLINICI: PER CURE MIGLIORI <i>Moderatori: Gabriella Di Rosa, Maria Pintaudi</i>
16.30	<i>Sabrina Perazzoli – Tina Talarico</i> I problemi funzionali dell'apparato gastroenterico: prevenzione, diagnosi e cura. Nutrizione e integratori
16.50	<i>Giacchero – Pintaudi</i> La ricerca sulle antociamine e i nutraceutici: possibili utilizzi nella Sindrome di Rett
17.05	<i>Beatrice Chiarini Testa</i> Infezioni respiratorie nella Sindrome di Rett prevenzione, diagnosi e cura
17.25	<i>Patrizia Ponte</i> Infezioni urogenitali: prevenzione, diagnosi e cura
17.45 18.00	Discussione
	SESSIONI PARALLELE
11.00 13.00	<i>Rosa Angela Fabio, Samantha Giannatiempo, Martina Semino</i> Workshop per insegnanti e terapisti del progetto “Aiutiamo le bimbe dagli occhi belli” finanziato da Fondazione Vodafone
20.30	Cena in onore delle bimbe dagli occhi belli

DOMENICA 28 MAGGIO 2017

	NUOVE MOLECOLE: QUALI PROSPETTIVE – PARTE 2 <i>Moderatori: Enrico Tongiorgi, Edvige Veneselli</i>
8.45	<i>Claudio De Felice</i> Trial con Sarizotan per i sintomi respiratori: fase di arruolamento
9.00	<i>Michela Fagiolini</i> Update su trials clinici e bio markers: l'esperienza della trofinetide
9.30	Discussione
	DALLA RICERCA ALLA CLINICA: LE PROSPETTIVE FUTURE
9.45	La cannabis e i cannabinoidi: l'uso terapeutico e indicazioni <i>Nicola Specchio</i> – Formulazioni, meccanismi di azione, esperienze <i>Giulia Prato</i> – Prospettive attuali: studio osservazionale e trial internazionale
10.15	Il microbiota intestinale: un aiuto per la Sindrome di Rett? <i>Aglaia Vignoli</i> – L'entità e la sua valutazione <i>Josef Hayek</i> – Esperienze cliniche a confronto
10.45	Discussione
11.00	Considerazioni conclusive Consegna e compilazione questionario ECM Chiusura dei lavori
11.15	ASSEMBLEA AIRETT Al termine sarà offerto un buffet a tutti i partecipanti all'Assemblea

Intervento di apertura del Convegno nazionale AIRett 2017

Lucia Dovigo, Presidente AIRett



Il titolo scelto per questa edizione del Convegno rispecchia fedelmente la "mission" di AIRett,

vale a dire un impegno costante per il futuro, a sostegno della ricerca, con l'augurio che un giorno, non troppo lontano, potremo realizzare risultati concreti per le nostre figlie.

Questo obiettivo a lungo termine non deve però assolutamente farci perdere di vista il presente, con i suoi problemi, le sue difficoltà e i tanti quesiti che ogni giorno ci poniamo. Per questa ragione abbiamo voluto toccare molti punti critici importanti della malattia ma, soprattutto, abbiamo voluto toccarli nelle varie fasi di vita delle nostre ragazze: da qui il titolo "Ricerca, cura e prevenzione: a che punto siamo?"

Parleremo di ricerca, intesa come impegno per trovare una cura alla malattia. Sono stati avviati importanti progetti di ricerca, che verranno esposti durante il convegno, progetti che si sono dimostrati in linea con quanto in atto anche presso i più importanti Centri di Ricerca internazionali; questo ancora una volta a conferma, se ce ne fosse bisogno, della grandissima professionalità e competenza dei nostri ricercatori.

Ma ovviamente fare ricerca significa anche ricercare il problema affrontandolo e possibilmente risolvendolo.

Questa possibilità va di pari passo con la conoscenza della malattia che si può avere per lo più grazie all'esperienza fatta sul campo seguendo le ragazze da bimbe a donne, come ha fatto airett. Questo ci ha permesso di conoscere l'evolvere della malattia, ci ha per-

messo di capirne le criticità e ci permette oggi di poterle anticipare, di poterle contrastare, di poterle anche curare.

Riteniamo però che, ancora più importante, sia fare prevenzione e anche per questo è fondamentale la conoscenza.

Una particolare attenzione va indubbiamente rivolta alle famiglie di bimbe piccole, soprattutto quelle che hanno avuto da poco la diagnosi. AIRett ha ben presente il momento particolarmente delicato che stanno vivendo, ha presente le numerose domande, lo smarrimento che accompagna questa fase ed ha altrettanto chiaro il supporto e l'aiuto che può dare loro, perché le scelte fatte nel corso degli anni derivano dalla conoscenza, derivano dal vissuto delle famiglie e dallo scambio di esperienze:

famiglie di ragazze ormai grandi che portano la loro esperienza, la loro conoscenza, risorsa enorme per poter affrontare al meglio la malattia

famiglie di bimbe piccole che possono, ma soprattutto devono, attingere da questo conoscenza, farne "tesoro".

Da qui la consapevolezza di AIRett che occuparsi soltanto di ricerca genetica vorrebbe dire occuparsi a metà dei soggetti affetti da Sindrome di Rett: non possiamo pensare di fare del nostro meglio se non pensiamo alla loro qualità di vita. Nel corso degli anni abbiamo imparato quante potenzialità hanno e quanto cambiano le loro giornate se investiamo in loro, se crediamo in loro, se interveniamo tempestivamente nelle loro problematiche.

Pertanto l'invito che sia come mamma che come presidente di AIRETT faccio a tutte le famiglie,

ma soprattutto ai genitori delle bimbe più piccole, è di fare tesoro dell'esperienza di chi ha vissuto prima di loro la malattia e di investire nelle proprie bimbe perché la loro vita sarà senz'altro migliore.

Riguardo ai temi trattati in questi due giorni di Convegno, come certo saprete, abbiamo chiesto alle famiglie di suggerirci degli argomenti che potevano essere di loro interesse. Questa ci è sembrata un'ottima iniziativa per andare incontro alle esigenze dei nostri associati e, infatti, molte sono state le richieste pervenute. Purtroppo non è stato possibile affrontare tutti gli argomenti, ma ci ha fatto molto piacere constatare che quanto avevamo programmato andava per la maggior parte a soddisfare le richieste delle famiglie.

Altra novità di questi due giorni congressuali è stata l'iniziativa "Cura sul campo". Si tratta di un importante servizio offerto alle famiglie, vale a dire:

- la possibilità di far visitare le proprie ragazze dal dentista con accesso al servizio di igiene dentale;
- la consegna del "Braccialetto elettronico" il braccialetto che, grazie al finanziamento di Fondazione Vodafone, verrà assegnato a 100 bimbe;
- la consulenza con il legale;
- una interessante proposta da Unipolsai, che voglio ringraziare veramente di cuore per aver sponsorizzato il Convegno.

Concludiamo con l'auspicio che da questi due giorni di Convegno ognuno dei partecipanti possa tornare a casa con qualche idea e informazione in più sulla Sindrome di Rett. ■

Prevenzione odontoiatrica: obiettivi pratici e realizzabili

Enrico Calcagno, Clara Miralbell Izard
struttura



Il Convegno Nazionale di sabato 27 maggio 2017 ha permesso alla specialità odontoiatrica di fornire delle possibili linee guida atte a facilitare il percorso della salute orale alle ragazze Rett.

Si è posta l'attenzione sulla estrema utilità di creare nelle varie regioni dei nuclei di Terapia Domiciliare, composti da un odontoiatra e da una igienista dentale che, adeguatamente attrezzati, si rechino nei vari istituti diurni e/o residenziali e al limite al domicilio del paziente per espletare le fondamentali terapie di prevenzione, igiene orale, ed anche terapie di piccole carie ovviamente previo benessere neurologico.

Si può immaginare come un costante monitoraggio possa ridurre drasticamente situazioni carie e gengivali gravi e di conseguenza le inevitabili bonifiche in anestesia generale in regime di ricovero; ciò offre un innegabile vantaggio alla qualità di vita delle ragazze e dei loro famigliari.

Nella nostra relazione si è voluta trasmettere l'esperienza quasi ventennale svolta al Fa.Di.Vi. di Genova, esperienza che conferma come un buon e continuo approccio, a cadenza anche bimensile, dia risultati veramente importanti per la salute dei pazienti. La relazione inoltre auspica una più fattiva collaborazione con la Società Italiana di odontoiatria per l'Handicap (S.I.O.H.) che mette a disposizione sul suo sito web i nomi delle strutture pubbliche odontoiatriche di tutte le regioni ove potersi rivolgere.



In fase di allestimento



La sala del terrore !?



Allestimento strumentario



Ecco i vari trapani... in una valigetta trasportabilissima



Al lunedì seguente subito il messaggio Rett agli studenti II ° anno odontoiatria Università di Genova

Nella giornata di sabato, a dimostrazione di quanto sopra, un odontoiatra e una dottoressa in igiene orale hanno visitato, e in molti casi effettuato terapie di igiene orale e prevenzione, ventuno ragazze; il tutto si è svolto in una camera ove prontamente sono state allestite le varie strumentazioni prestate a tal fine dalla As-

sociazione Down Savona Onlus (ADSO) come documentato dalle foto qui sopra.

Notevole il riscontro positivo dei famigliari che hanno così potuto verificare come si possa serenamente offrire alla propria figlia una assistenza odontoiatrica efficace e continua nel futuro. ■

Il passaporto clinico: aggiornamento delle chiavette e predisposizione e consegna delle nuove

Edvige Veneselli, Francesca Camia
Uoc e cattedra di Neuropsichiatria Infantile, Istituto G. Gaslini, Università di Genova



Nel 2014 l'Associazione Italiana Sindrome di Rett (AIRett), nell'ambito dei programmi di promozione

dell'avanzamento nel settore assistenza clinica, ha identificato **5 Centri di Eccellenza per la cura della Sindrome di Rett** e ne ha coinvolto 4 (il Policlinico di Siena non ha al momento aderito) nel **Progetto pilota Passaporto Clinico**, di cui intendiamo effettuare una breve sintesi, un aggiornamento dell'attività svolta ed una presentazione dell'iniziativa promossa nel Convegno Nazionale 2017.

La configurazione attuale dei Centri di eccellenza è la seguente.

- **Istituto Giannina Gaslini, Genova** – UO e Cattedra di Neuropsichiatria Infantile, Direttore Prof.ssa Edvige Veneselli, Referente Dr.ssa Francesca Camia - **Centro Coordinatore del Progetto**
- **Ospedale San Paolo, Milano** – Centro Regionale per l'Epilessia, Direttore Prof.ssa Maria Paola Canevini, Referente Dr.ssa Aglaia Vignoli, Collaboratrice Dr.ssa Alessia Mingarelli
- **Ospedale Bambino Gesù, Roma** - UO di Neuropsichiatria Infantile, Direttore Dr. Federico Vigevano, Referente Dr.ssa Raffaella Cusmai, Collaboratrice Dr.ssa Paola De Liso
- **Policlinico Universitario, Messina** - UO e Cattedra di Neu-



ropsichiatria Infantile, Direttore f.f. Antonella Gagliano, Referente Dr.ssa Gabriella Di Rosa.

Scopo del Progetto è dotare le assistite di un **sistema appositamente preparato** dagli esperti dei Centri nazionali con l'obiettivo primario di *assicurare una maggior facilità ed accuratezza nell'accesso ai dati clinici delle assistite in condizioni di emergenza e di urgenza*; obiettivo secondario è quello di *fornire un **dossier clinico computerizzato ed aggiornato**, a disposizione dei Medici che seguono le assistite stesse, quali il Pediatra o il MMG curante, e gli specialisti curanti e quelli delle sedi locali di riabilitazione.*

Lo strumento attuativo è costituito da una piattaforma informatica (sistema Sa.Me.Da L.I.F.E.) su cui vengono inseriti dati protetti da parte dei medici dei centri di rife-

rimento e che i genitori possono utilizzare per inserire relazioni ed esami laboratoristici significativi (ad esempio EEG, ECG e radiografie).

Ogni paziente viene inoltre dotata di un *braccialetto con una "pendrive" o chiavetta* che conterrà: 1) una specifica scheda per ogni soggetto con i *dati clinici* aggiornati ed eventuali raccomandazioni individuali; 2) il numero di cellulare AIRett del Medico di riferimento del Centro; 3) importanti *informazioni sulla Sindrome di Rett*, utili ai Colleghi che hanno minor consuetudine con questa affezione, quali la presentazione sintetica della Sindrome, il Percorso Diagnostico-Terapeutico-Assistenziale per la Sindrome di Rett (ad oggi l'unico formalmente approvato è quello della Regione Lombardia, elaborato da M.P. Ca-

nevin e A. Vignoli) ed il Libretto "Sindrome di Rett: dalla diagnosi alla terapia", realizzato per AIRett da E. Veneselli e M. Pintaudi, con contributi dei membri del suo Comitato Scientifico e di alcuni altri Collaboratori esperti.

Il *contesto di riferimento* della chiavetta e del sistema correlato è costituito da una serie di esperienze e di atti legislativi mirati. Sono state effettuate esperienze: nel 2002 per prima dalla Croce Rossa Italiana con "Life Badge, una carta che può salvare la vostra vita" durante la Campagna per la sicurezza stradale della Comunità europea; nel 2013 dalla Società Italiana di Pediatria con il Progetto Eureka, con pendrive apposite per i bambini con malattie rare, da usare in caso di accesso al Pronto Soccorso, e da Sa.Me. Da L.I.F.E. per FedEmo, l'Associazione dei soggetti emofilici italiani, e successivamente per AIRett; nel 2015 dall'Ospedale universitario di Ginevra con una carta ad accesso protetto per pazienti, medici ospedalieri e di famiglia, e dalla Apple con l'App Salute per gli ultimi iPhone e iPad (iOS8, iOS9), peraltro compilata dal soggetto stesso, con il suo gruppo sanguigno, eventuali allergie e quanto altro ritenuto di interesse. Dal punto di vista legislativo, nel 2010 la cartella elettronica sanitaria personale è stata autorizzata in Francia per il network medico-paziente, ed in Italia con i Decreti Legge del 9.2 e del 4.4.2012, art. 47; più recentemente in Francia la Legge Fourcard ha regolamentato la cartella medica USB.

L'esperienza di Sa.Me.Da L.I.F.E. nasce dall'ambiente automobilistico della Formula 1 e si è poi estesa ad altri contesti sportivi, come la Federazione Italiana di Motonautica, per la messa in sicurezza dei piloti a forte rischio di incidenti gravi, con possibilità di lettura dei



dati clinici nei Centri sportivi di emergenza medica e di trasferimento digitale all'Ospedale di destinazione. Attualmente il Progetto è attivo con FedEmo in vari Centri Regionali, con la collaborazione delle Società Italiane di Medicina dell'Emergenza-Urgenza (SIMEU) e l'analoga pediatrica (SIMEUP).

Il *sistema software e hardware* prevede una token di identificazione personale con un numero di identificazione unico ed una strumentazione resistente alla corrente e all'acqua, ignifuga, inalterabile, con un'interfaccia USB, una memoria interna elevata ed una durata stimata in 10 anni. I dati sono visualizzabili via web attraverso lo specifico sistema Sa.Me. Da L.I.F.E.

Il *flusso delle informazioni* prevede il caricamento dei dati clinici da parte del Medico del Centro sulla scheda medica predisposta, scaricabile sul braccialetto.

Durante *l'accesso al Pronto Soccorso*, il medico di turno può accedere ai dati del file PDF in tempo reale, senza necessità di password né di connessione ad Internet.

I Centri formano i genitori all'uso del sistema per l'accesso ai dati protetti e predispongono le modalità di valutazione e di efficacia per medici e genitori; dopo la consegna, organizzano un *periodo di sorveglianza*.

Il progetto ha inizialmente coinvolto un numero di circa 10 pazienti per ogni centro, identificate secondo i seguenti *parametri di Inclusione*: diagnosi certa di RTT secondo i criteri diagnostici di Neul del 2010, età compresa tra 2 e 40 anni, ottenimento del Consenso Informato da parte dei Genitori, regolare iscrizione ad AIRett. Sono stati considerati come *criteri preferenziali* la presenza di fattori di aumentato rischio di accesso al P.S. (quali la presenza di epilessia, disturbi respiratori e gastrointestinali, QT lungo all'ECG e scoliosi), e la consuetudine ad utilizzare il PC da parte dei familiari.

In fase preliminare e durante il corso degli anni si sono tenute *riunioni* di presentazione del Progetto e di condivisione degli obiettivi e delle metodologie, esercitazioni sul sistema e conference calls, per aggiornamenti e modifiche.

L'efficacia del nuovo sistema è stata valutata attraverso l'utilizzo di strumenti di valutazione quali il Rett Clinical Severity Score, il Parenting Stress Index e il Questionario di soddisfazione, compilati prima della consegna del braccialetto Sa.Me.Da. e dopo circa 12 mesi di partecipazione al progetto.

Al termine di una prima fase "pilota", si sono analizzati i risultati preliminari, con l'evidenza di un *gradimento globale della "chiavetta"* da parte delle famiglie, che si sentono supportate da questo strumento nella gestione delle problematiche sanitarie delle figlie. L'utilizzo del braccialetto è apparso però essere una evenienza infrequente in ambito di emergenza-urgenza, in quanto poche bambine/ragazze hanno avuto necessità di ricorrere al Pronto Soccorso, specie al di fuori dei Centri curanti. L'aver con sé i dati clinici, le terapie in atto, gli esami effettuati e le informazioni sulla Sindrome di Rett rassicura le famiglie dinanzi alla possibilità di dover affrontare un'urgenza-emergenza in ambiente ospedaliero. A fronte di ciò è emersa l'opportunità di sviluppare maggiormente l'utilizzo del sistema come *cartella clinica digitale per i contatti consueti con il Pediatra o il MMG curante, gli specialisti consultati e i Neuropsichiatri Infantili e i Fisiatri delle sedi di riabilitazione.*

Con la disamina dei *risultati preliminari ottenuti al Parenting Stress Index durante il Progetto*, sono stati identificati elevati livelli iniziali di stress, correlato alle problematiche mediche e gestionali delle figlie, nella maggioranza delle famiglie coinvolte (il 63% dei partecipanti presentavano infatti risultati significativi di stress genitoriale oltre il 75° centile), con valori che hanno subito poi una riduzione al controllo successivo dopo 12

mesi, come mostrato nei grafici pubblicati a fondo pagina.

Il numero limitato del campione iniziale fornisce una indicazione di tendenza, ma non permette al momento di definire il miglioramento osservato come statisticamente significativo, aspetto che ci auspichiamo di ottenere con dati maggiori, ottenibili con l'apertura del progetto a nuove famiglie.

Si sono infine evidenziate *alcune difficoltà di applicazione pratica* e sono state *avviate le condotte per il loro superamento*. Con il suo impiego, si è infatti evidenziata la necessità di *rivedere la scheda medica*, per organizzarla in analogia con le cartelle cliniche ospedaliere e facilitarne così sia la compilazione che la lettura. Ciò ha comportato un significativo lavoro da parte dei medici dei Centri e dai Collaboratori tecnici del Sistema Sa.Me.Da., ma il risultato è decisamente migliorativo. In *particolare la parte dedicata al Pronto Soccorso* ora riporta con maggiore chiarezza *allergie, intolleranze, reazioni avverse ai farmaci, precedenti malattie infettive, eventuali problemi respiratori e cardiovascolari.*

Grazie al sostegno di Fondazione Vodafone, si è ampliato a 100 il numero delle bambine e ragazze che possono fruire dei braccialetti

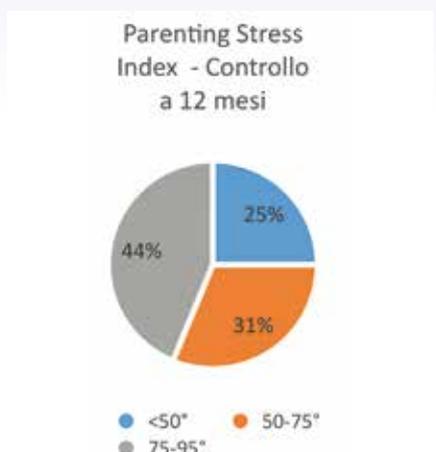
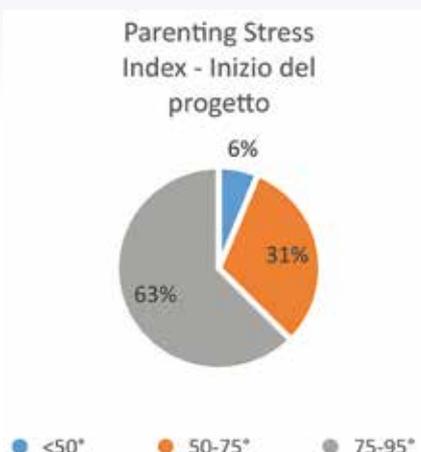
e se ne è quindi aperta la campagna di distribuzione durante il Convegno di Cassano.

Abbiamo perciò coinvolto Sa.Me.Da., che ha inviato per supporto tecnico sul nuovo sistema approntato Raoul Cadei e un suo collaboratore, e i vari Centri, con l'adesione delle dott.sse Francesca Camia e Alessia Mingarelli.

Essi hanno così dedicato una giornata intera alle bambine e alle ragazze e all'informazione e alla formazione dei loro genitori, *consegnando ben 26 chiavette!* Con ottimo servizio comodamente reso durante il Convegno!

Rimaniamo *a disposizione di altri genitori soci AIRETT* che desiderano avere questo prezioso strumento moderno, *per organizzare le ulteriori consegne*, sino alle 100 a disposizione: per concordare gli incontri, è sufficiente che le famiglie ci contattino per mail (segnalate nello schema dei Centri su Vivirett e sul sito).

Unitamente alla Presidente, ringraziamo di cuore tutti coloro che a diverso titolo hanno contribuito alla realizzazione e allo sviluppo di questo splendido Progetto - ed in particolare della giornata - che aiuta concretamente le nostre bambine dagli occhi belli e rassicura i nostri genitori su una loro migliore gestione clinica! ■



L'indennità di comunicazione ex art.1 Legge n. 95/2006

Patrizia Cervesi, Avvocato Patrocinante in Cassazione - Cattolica (RN)



L'associazione Airett ha in questi ultimi tempi fortemente sostenuto a livello politico ed amministrativo

il diritto delle bimbe Rett di beneficiare dell'indennità di comunicazione prevista dall'art.1 L.381/70 così come modificato dall'art.1 L.95/2006.

Tale articolo testualmente recita *"si considera sordo il minorato sensoriale dell'udito affetto da sordità congenita o acquisita durante l'età evolutiva, che gli abbia impedito il normale apprendimento del linguaggio parlato, purchè la sordità non sia di natura esclusivamente psichica o dipendente da causa di guerra, lavoro e servizio"*.

Di fronte a tale dicitura le strade da intraprendere sono due:

1. La procedura giudiziale, rito del lavoro, che consente alla bambina - singolarmente - di ottenere attraverso una sentenza il riconoscimento dell'indennità.

Trattasi di procedure con oneri economici da anticipare, si pensi ai compensi dei consulenti tecnici d'ufficio e di parte ed a quelli del difensore, e con esiti non certi (anche se oggi, a fronte di 3/4 pronunce di merito peraltro tutte nella stessa zona le possibilità sono buone) e con una rifusione di spese legali non sempre conforme alle anticipazioni.

2. Ottenere, ed è questa la strada scelta da Airett, attraverso interpellanze ed interrogazioni sia parlamentari che alla Direzione generale dell'INPS, un riconoscimento per tutte le bimbe Rett.

Ciò è stato portato avanti in primo luogo con incontri presso la direzione generale INPS di Roma e col-

loqui con Onorevoli per poi addivenire all'acquisizione di una perizia esaustiva riguardante la patologia ed i suoi aspetti medico-legali redatta dallo Studio medico legale Vergari di Bologna.

LA LEGGE 112/2016 a favore delle persone con disabilità grave prive di sostegno familiare "dopo di noi"

Decreto 23 novembre 2016
di attuazione contenente
l'indicazione dei requisiti per
accesso al fondo

Questa legge tende a favorire l'inclusione sociale, il benessere e l'autonomia delle persone con grave disabilità così come individuati dall'art. 3 L.104/92 cioè dei soggetti che necessitano di intervento assistenziale permanente continuativo e globale.

Analizziamola insieme:

Soggetti a cui la legge si rivolge:

- persone con disabilità grave prive di sostegno familiare in quanto prive di genitori o perché i genitori non sono più in grado di sostenerli
- persone che in vista del venir meno del sostegno familiare attraverso la progressiva presa in carico già durante la vita dei genitori.

Costituzione del FONDO:

la legge prevede la costituzione di un fondo per assistenza (art. 3 art. 4) attraverso la dazione di 180 milioni da suddividersi in tre anni (2016/2017/2018) poi con cifra fissa all'anno.

Questo fondo ha specifici obiettivi e solo i soggetti che hanno i requisiti indicati nel Decreto del novembre 2016 potranno accedervi.

La *conditio sine qua non* è la presentazione di un progetto individuale ex art. 14 L.328/2000 con relativo budget di spesa.

Interessante è la previsione anche di ausili e di nuove tecnologie anche per la comunicazione.

Altre finalità previste dalla legge riguardano il favorire la costituzione di un patrimonio per i figli disabili per il momento dopo la morte dei genitori attraverso:

Regimi fiscali agevolati:

- Polizze assicurative rischio morte la detrazione è x (art.5) fino ad € 750,00
- Trust, vincolo di destinazione ex art 2645 cc, fondi, contratti affidamento e fiduciari imposte dirette ed indirette agevolate e specificatamente
 - a) imposte dirette
esenzione da imposta donazione-successioni
ipo-catastale fissa
esenzione da bolli
 - b) imposte indirette
maggior detraibilità
Imu agevolate (discrezione Comune)

Tali agevolazioni valgono anche per il ritrasferimento al disponente ma non a terzi.

Forma e contenuto atti: Gli strumenti menzionati dovranno essere stipulati con atto (art. 6) pubblico e la norma elenca il contenuto specifico dell'atto, i soggetti ed i ruoli, le indicazioni specifiche di cura e sostegno, il soggetto che controlla nonché l'obbligo di rendiconto.

I beni risulteranno segregati. ■

La terapia genica nella Sindrome di Rett: sogno o realtà?

Jean-Christophe Roux, PhD
 Facoltà di Medicina La Timone, Marsiglia, Francia



Attualmente le terapie disponibili per la Sindrome di Rett sono di tipo sintomatologico e farmacologico. Sono state testate negli anni diverse molecole, alcune di queste sono riportate nella figura 1.

La terapia genica è una tecnica sperimentale che utilizza i geni per trattare o prevenire le malattie. Nel futuro queste terapie permetteranno di curare una malattia inserendo dei geni invece che usando dei farmaci.

Sebbene questa terapia sia molto promettente per alcuni disturbi (ad esempio malattie ereditarie, cancro e alcune malattie virali), la tecnica utilizzata presenta ancora elementi di pericolosità e sono in corso varie ricerche per renderla sicura ed efficace.

Attualmente in tutto il mondo sono in atto un centinaio di studi clinici per validare l'efficacia della terapia genica, soprattutto su malattie di organi. Più difficile risulta l'utilizzo di tale approccio per le malattie del cervello.

La sindrome di Rett è un candidato per la terapia genica perché è causata da un singolo gene, non è degenerativa e i sintomi possono essere reversibili. Studi sul topo dimostrano che una singola dose di terapia genica può migliorare significativamente i sintomi, anche dopo la progressione della malattia.

Tuttavia il trasferimento di questa terapia all'uomo rappresenta ancora una sfida.

MeCP2 è una proteina necessaria in tutte le regioni del cervello, pertanto il gene deve essere distri-

• Pharmacology

• Identification of new therapeutical compounds for Rett syndrome through research

- BDNF (Brain-Derived Neurotrophic Factor)
- IGF1 (Insulin-like Growth Factor 1)
- Glutamate receptor modulators and neurotransmitters
- Dietary supplements (curcuma, PUFA oils)

• Clinical trials

- BDNF – Cysteamine, Fingolimod
- IGF1 – Mecasermin
- Desipramine

Figura 1

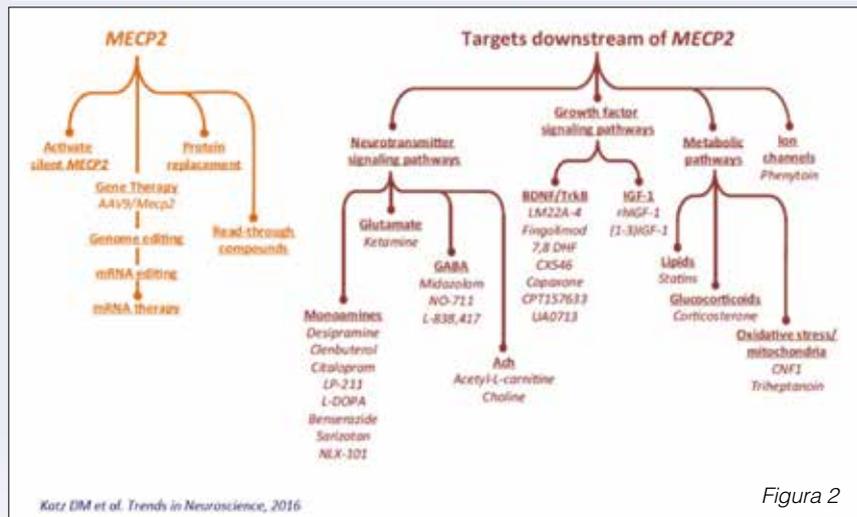


Figura 2

buito ampiamente. Il vettore terapeutico dovrà raggiungere l'intero sistema nervoso centrale:

- con ampia diffusione al cervello se somministrato direttamente al cervello;
- attraversando la barriera ematoencefalica se somministrato per via intravenosa.

D'altra parte alcune cellule hanno al loro interno copie sane del gene, per cui bisogna identificare strategie per evitare una sovra-espressione del gene, anch'essa dannosa.

Scegliere la dose corretta e il vettore è pertanto di vitale importanza.

In aggiunta MECP2 è regolato in modo complesso (figura 2), quindi la copia introdotta dovrebbe inserirsi in questi meccanismi di controllo e bilanciamento.

La terapia genica usa dei vettori, molecole che trasportano i geni. Ci sono 2 tipi di molecole: virali e non virali. I vettori di tipo non virale sono ad esempio lipidi legati al DNA. Questi tipi di molecole possono entrare in tutte le cellule

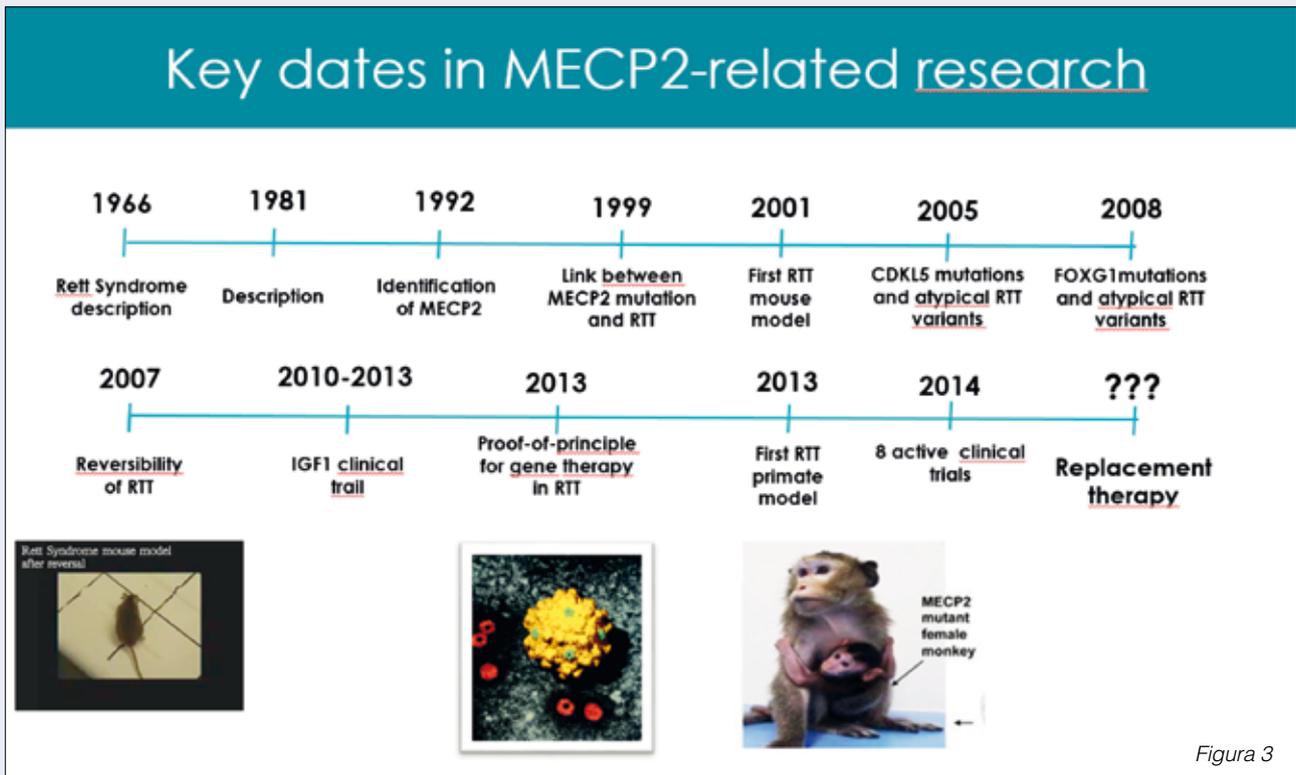


Figura 3

ma con scarsa efficacia e con alto rischio di tossicità.

Invece i vettori non virali come gli adenovirus, possono entrare nelle cellule con efficacia molto alta, sebbene come effetto collaterale possano provocare alterazioni del sistema immunitario.

Il consorzio per la terapia genica RSRT sta attualmente lavorando per ottimizzare i vettori, la struttura del gene, il dosaggio e la via di trasporto.

Nel laboratorio di Marsiglia si sta attualmente cercando, anche con il supporto di alcuni fisici, di superare l'ostacolo della barriera emato-encefalica.

In figura 3 sono visualizzate le tappe principali della ricerca sul gene MECP2.

Negli esperimenti effettuati dal 2013 su topi Rett si evidenzia un aumento della sopravvivenza dei topi trattati con terapia genica rispetto a quelli non trattati. Inoltre si è registrata una diminuzione delle apnee.

Gli studi ad oggi effettuati hanno dimostrato che nei topi questa terapia porta sempre a una diminuzione dei sintomi, indipendentemente dall'età del topo.

In un nuovo studio in corso è stato utilizzato un topo di sesso femminile: dopo l'iniezione del gene si sono evidenziati miglioramenti della respirazione, dei movimenti e del ritmo circadiano. Tuttavia sono comparsi

problemi al livello del fegato, probabilmente dovuti a un sovradosaggio, causato dal tipo di vettore, che ha determinato tossicità epatica.

La sfida attuale a livello mondiale nell'ambito della terapia genica è quindi quella di riuscire a intervenire su tutto il cervello, al dosaggio adeguato e di ridurre gli effetti collaterali e il rischio di tossicità. ■



Filippo Roma con Roberto De Marchi

Nuovi approcci con cellule staminali derivate dal paziente per la valutazione di molecole terapeutiche nella sindrome di Rett

Silvia Russo, Laboratorio di Citogenetica e Genetica Molecolare, Istituto Auxologico Italiano, Milano



Il progetto finanziato dal bando AIRett 2016 si inserisce nel contesto della linea di ricerca volta ad

identificare terapie che possano essere o risolutive o migliorative per i sintomi della sindrome di Rett. Pensando ad una strategia collettiva in cui più gruppi di ricerca indirizzano i loro sforzi in più direzioni per un comune obiettivo, il nostro lavoro si colloca nella linea di studio che si adopera per creare dei modelli che siano il più possibile vicino alla situazione reale delle bambine Rett e che rappresentino un valido strumento per verificare l'efficacia di nuovi trattamenti, sia farmacologici, sia basati su principi più nuovi.

La maggior parte degli studi condotti fino ad oggi sulla sindrome di Rett infatti hanno utilizzato il modello animale, prevalentemente murino, sia per lo studio sia per la valutazione dell'efficacia di nuove molecole. Sono stati generati più modelli di topi transgenici, sia di sesso maschile che femminile, ma solo dal 2016 sono stati creati anche animali con mutazioni presenti nelle bambine (ref). Restando fondamentale l'importanza del modello animale che permette di studiare l'organismo in toto e le sue risposte, la complessità del cervello umano è molto superiore a quella murina, così come la complessità del genoma e dell'epigenoma, fattori che influenzano sia l'andamen-

to della malattia, sia la possibile cura. A tale scopo da diversi anni, è stata sviluppata una tecnologia che consente di trasformare cellule differenziate di un organismo in cellule staminali, più precisamente cellule staminali pluripotenti indotte, iPSCs, che hanno come le cellule staminali la potenzialità di differenziarsi in tipi cellulari specifici. Tali cellule costituiscono oggi in medicina un'importante risorsa per lo studio della malattia, ma non solo, infatti sono già utilizzate anche per medicina rigenerativa.

Le prime iPSC derivate da pazienti con la sindrome di Rett risalgono al 2010 (Marchetto et al); successivamente altri gruppi hanno generato iPSCs da pazienti con mutazioni nel gene MECP2, a partire da fibroblasti mediante l'utilizzo di virus che si integrano nel genoma ed inducono la cellula ad esprimere fattori di staminalità. Tuttavia solo alcune delle mutazioni più frequenti nelle pazienti con sindrome di Rett, sono state generate; per molte mutazioni "hot spot" non esiste un modello paziente specifico. Allo scopo di creare un modello cellulare il più possibile simile alle reali cellule della paziente nel tempo le tecnologie si sono affinate ed oggi è possibile creare modelli cellulari con sistemi non integrativi, ed a partire da tessuti molto accessibili, quali ad esempio il sangue. Cosa si intende con sistemi non integrativi? Significa che i vettori che inseriamo nelle cellule, negli eritroblasti del sangue nel nostro caso,

non si integrano nel genoma, ma vengono eliminati in poche ore, e non modificano o comunque solo in maniera transitoria il comportamento naturale della cellula.

Un'altra questione molto importante, quando si usa un sistema modello è la disponibilità di un controllo sano che permetta al ricercatore di valutare quali siano le differenze tra la cellula che porta il difetto genetico e la cellula "sana". Poiché il gene MECP2 ed il gene CDKL5 mappano sul cromosoma X e poiché nelle donne in ogni cellula solo uno dei due cromosomi X è attivo, nelle bambine in cui questo fenomeno interessa il 50% delle cellule si può ottenere da ogni paziente cloni "sani" da cui si genereranno tipi cellulari differenziati che costituiscono il controllo sano (cellule neuronali, ma non solo ad es. anche cardiomiociti, di interesse per le pazienti con compromissione cardiologica), e cloni che esprimono la mutazione, rappresentativi della sindrome di Rett. Questo confronto tra cellule mutate e cellule sane di uno stesso individuo (controllo ISOGENICO) è ottimale, perché ci consente di valutare differenze che sono funzione del solo difetto genetico di MECP2 o CDKL5 senza le influenze derivate dal diverso genotipo, come invece accade quando si confrontano le cellule del paziente con quelle di individui sani non correlati. La disponibilità di un adeguato controllo per ogni paziente è un'indispensabile punto

di partenza per l'arduo compito di identificare marcatori biologici della malattia che, nei tipi cellulari di nostro interesse rivelino differenze, se possibili misurabili, tra cellula sana e malata, di cui verificare la reversibilità in seguito al trattamento.

La novità dello studio da noi intrapreso consiste quindi nella selezione di casi con mutazioni "hot spot" per cui ancora non sono state generate iPSCs ed in particolare abbiamo scelto mutazioni associate a quadri clinici di diversa severità, quali p.Arg168* (generalmente la manifestazione clinica è severa), p.Arg255* (associata ad una manifestazione clinica moderata) e p.Arg133Cys, associata a pazienti con un quadro clinico lieve. Attualmente abbiamo reclutato un paio di pazienti per mutazione ma in entrambe le pazienti con mutazione p.Arg 168* ed in una paziente pArg255* l'inattivazione del cromosoma X appariva sbilanciata (vedi tabella a fianco).

L'intero processo di differenziamento neuronale richiede una prima fase in cui si producono cloni di cellule staminali, una seconda fase di induzione neuronale, ed infine il differenziamento finale nei tipi di neuroni desiderati, corticali ed ipocampali.

A questo progetto lavorano attivamente oltre alla dott.ssa Russo, la dott.ssa Valentina Alari, la dott.ssa Francesca Cogliati. La caratterizzazione viene eseguita dalle dott.sse Valentina Giorgini, Ilaria Catusi e Maria Garzo (Figura 1).

Ad oggi è stato possibile ottenere cloni IPCs per le 2 pazienti con mutazione p.Arg133Cys. Sono stati selezionati 14 cloni per ciascuna paziente, valutata sul cDNA l'espressione del gene MECP2 in 8 di questi, in modo da disporre di almeno tre cloni dell'allele mutato, e tre dell'allele sano per ciascuna paziente (figura 2).

PT	MECP2 MUTATION	Domain	XCI	COGNITIVE IMPAIRMENT
40	p.Arg133Cys	MBD	balanced	MILD
69	p.Arg133Cys	MBD	balanced	MILD
91	p.Arg133Cys	MBD	balanced	MILD
137	p.Arg168*	interdomain	balanced	SEVERE
53	p.Arg168*	interdomain	balanced	SEVERE
148	p.Arg168*	interdomain	balanced	SEVERE
93	p.Arg255*	TRD/NLS	skewed	MODERATE
145	p.Arg255*	TRD/NLS	balanced	MODERATE
96	p.Arg255*	TRD/NLS	balanced	MODERATE

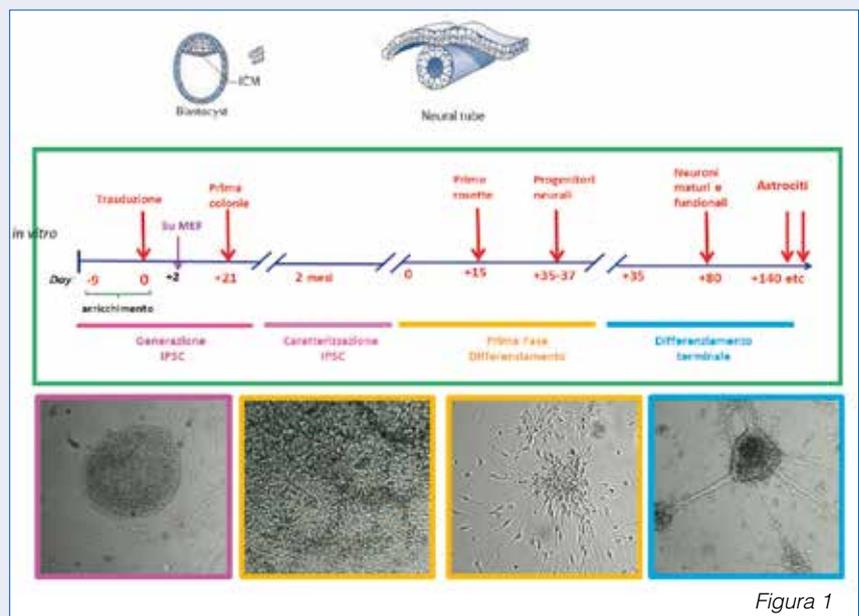


Figura 1

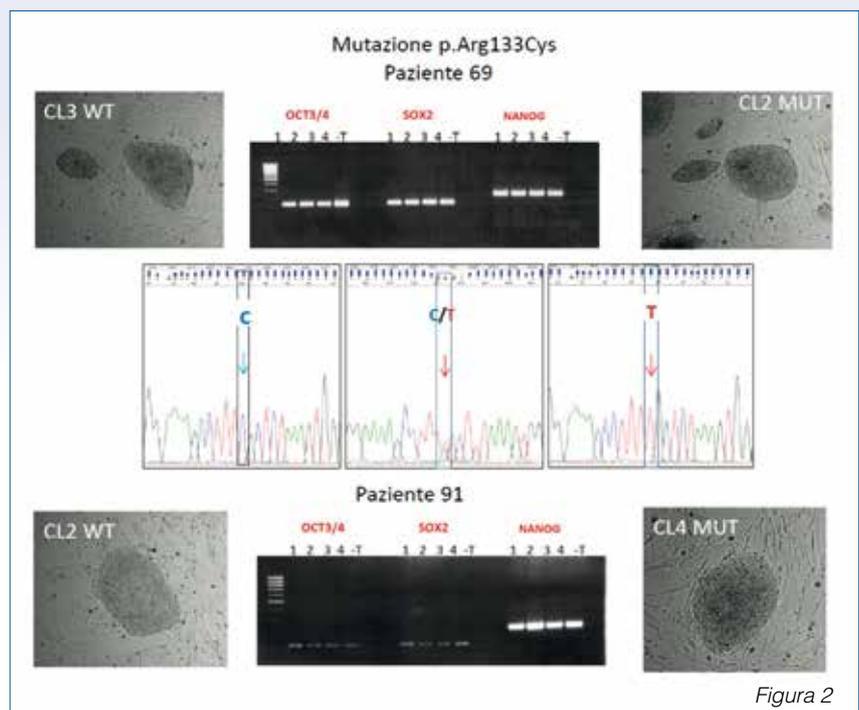


Figura 2

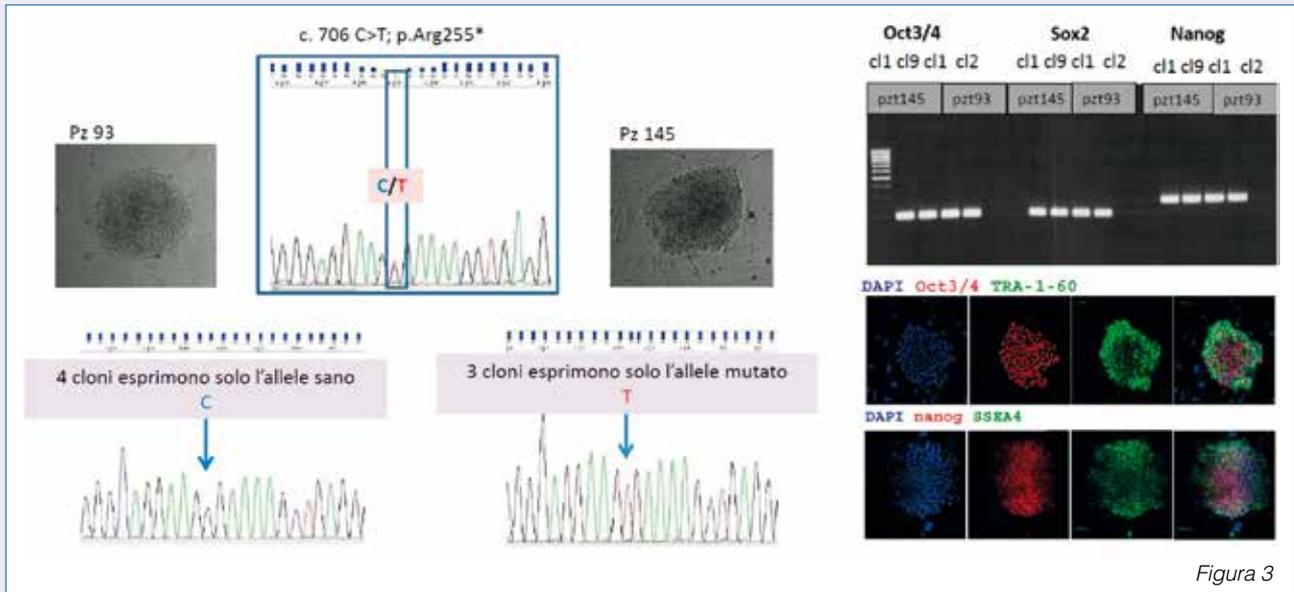


Figura 3

Invece, per le pazienti che esprimono la mutazione p.Arg255*, abbiamo selezionato 3 cloni che esprimono l'allele mutato di una paziente e 5 cloni che esprimono l'allele sano dell'altra (Figura 3).

In seguito al risultato è stata rivalutata l'inattivazione preferenziale del cromosoma X, che si è rivelata correttamente bilanciata nella paziente 145, ove procederemo ad una successiva riprogrammazione per generare cloni di controllo, mentre nella paziente 93 l'inattivazione nel sangue è apparentemente sbilan-

ciata, quindi la maggior parte delle cellule del sangue esprime un allele sano.

Una volta scelti i cloni delle cellule staminali utili al nostro studio, bisogna confermare che le cellule siano effettivamente staminali. Ciò viene fatto valutando l'espressione di marcatori di staminalità come indicato nelle figure, sia mediante RT PCR dei geni OCT SOX e NANOG sia con tecniche di immunofluorescenza che verificano anche l'espressione delle proteine TRA-1-60 e SSEA4. Infine prima di po-

ter differenziare i cloni selezionati in neuroni, occorre verificare che durante il processo di generazione delle iPSCs la mappa cromosomica sia rimasta fedele all'originale, ossia che non siano insorti riarrangiamenti prima non presenti nel paziente che potrebbero alterare l'interpretazione di marcatori biologici e quindi dell'efficacia di molecole testate su di esse. A tale scopo viene effettuata la mappa cromosomica sia del sangue della bambina sia dei cloni di iPSC derivato da questo. Abbiamo eseguito per ora questo passaggio sulle iPSCs delle pazienti con mutazione p.Arg255* ed è in corso per quelle delle pazienti p.Arg133Cys.

A questo punto siamo pronti per entrare nel vivo del lavoro differenziando le cellule in neuroni corticali e ippocampali. Alcune aliquote delle cellule staminali generate verranno conservate per esperimenti futuri e rese eventualmente disponibili, con il consenso dei genitori per progetti di collaborazione internazionale volti a saggiare strategie terapeutiche. Sarebbe auspicabile reclutare qualche paziente in più con una di queste tre mutazioni, in particolare bambine con un quadro clinico piuttosto severo. ■



Da sinistra: Ines Bianchi, Giuseppe Hayeck, Lucia Dovigo, Claudio De Felice, Silvia Russo, Ilaria Meloni, Enrico Tongiorgi

Alla ricerca di un “interruttore molecolare” che riattivi la copia dormiente di MECP2

Marcella Vacca
Istituto di Genetica e Biofisica “A. Buzzati Raverso”, CNR Napoli



Il progetto presentato al Convegno Nazionale AIRETT 2017, a Cassano d’Adda, si colloca tra le nuove strategie molecolari che, in maniera prospettica, puntano ad una terapia genica per la sindrome di Rett (RTT). La domanda da cui nasce il progetto, recentemente finanziato da AIRETT, è la seguente: **possiamo riattivare l’allele sano ma silente di MECP2 nelle cellule delle bimbe Rett?** Ovvero, siamo in grado di far auto-produrre alla cellula-RTT la quantità corretta di proteina MeCP2 funzionante?

Dal 2007, studiando modelli murini della malattia, vari gruppi di ricerca hanno fornito la prova formale che la patologia RTT non è associata a neuro-degenerazione. Inoltre, in topi adulti, geneticamente modificati affinché non esprimessero la proteina MeCP2, la sua ri-espressione in neuroni maturi porta alla remissione di molte disfunzioni della RTT (Guy J et al, 2007). Analogamente, la comunità scientifica internazionale sta sperimentando protocolli di terapia genica per sostituire funzionalmente il gene *Mecp2* ‘malato’ con uno sano, ma i test sono ancora in fase preclinica.

In alternativa, l’approccio genico, può fare leva su un aspetto della biologia del gene *Mecp2*, fino a poco tempo fa trascurato: essendo collocato sul cromosoma X *Mecp2* è presente, in ogni cellula somatica (quindi anche nel cervel-

lo), in due copie parentali (alleli), ma un allele è normalmente ‘spento’ e idealmente utilizzabile come una ‘ruota di scorta’. La maggior parte dei geni del cromosoma X è soggetta a questo “spegnimento funzionale”; capiamo il perché e soprattutto come si può intervenire su questo fenomeno a scopo terapeutico!

Il fenomeno dell’inattivazione del cromosoma X (XCI)

In ogni cellula del corpo, le femmine di mammifero presentano due copie del cromosoma X a differenza dei maschi che portano un X e un Y. Il cromosoma Y è molto povero di geni rispetto all’X, ma esiste un meccanismo di compensazione del dosaggio che rende equivalente l’espressione dei geni portati dall’X nei due sessi (Vacca M et al, 2016).

Questo fenomeno biologico è noto come ‘inattivazione del cromosoma X’ (XCI) ed è così chiamato perché in ogni cellula, un X è ‘compattato’ e reso trascrizionalmente inerte (spento), ad eccezione di poche regioni. L’XCI è un esempio di regolazione epigenetica dell’espressione genica e, in virtù di questo fenomeno, ogni cellula esprime solo un allele del gene MECP2.

La scelta del cromosoma X da inattivare (uno ereditato dal padre-Xp e l’altro dalla madre-Xm) è casuale e avviene durante le fasi precoci dello sviluppo embrionale. Una volta stabilita, l’inattivazione sarà mantenuta nel tempo

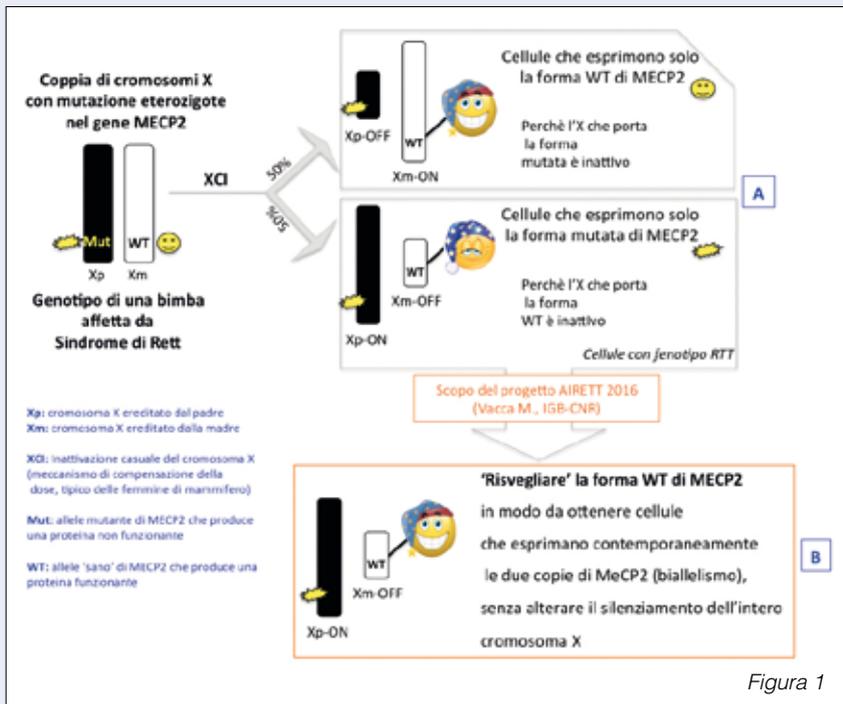


(eredità clonale), cioè tutte le cellule discendenti saranno identiche alla propria progenitrice. Pertanto il corpo femminile sarà un mosaico funzionale di cellule in cui è inattivato l’Xp e di cellule in cui è inattivato l’Xm. Normalmente ciascun gruppo di cellule rappresenta circa il 50% del totale, proprio perché i due X hanno la stessa probabilità di essere silenziati. Il caratteristico pelo variegato della gatta ‘calico’ è un classico esempio ‘fenotipico’ degli effetti dell’XCI che ci aiuta anche a intuire che il fenomeno è stabile nel tempo (le macchie di pelo rosso non diventeranno mai nere e viceversa).

Nelle cellule germinali (spermatozoi e ovociti), l’inattivazione viene invece cancellata per essere reimpostata nelle figlie femmine della generazione successiva. Questo significa che il fenomeno dell’XCI è reversibile, almeno nelle cellule sessuali.

Può l’XCI influenzare le manifestazioni cliniche della RTT?

La patologia RTT è causata nella maggior parte dei casi da mutazioni eterozigoti in MECP2. Nel di-



segno in Figura 1 è esemplificato il caso in cui la mutazione sia di origine paterna, mentre il cromosoma materno porta l'allele 'sano'. In caso di inattivazione casuale (come accade normalmente anche nelle bimbe RTT, salvo rare eccezioni) il 50% delle cellule esprimerà l'allele materno sano e la restante parte esprimerà l'allele paterno mutato (Figura 1A).

La proteina prodotta dall'allele mutato in genere non funziona (*loss of function*), ma evidentemente la quota di proteina funzionante prodotta in altre cellule non è sufficiente ad arrestare lo sviluppo della patologia. Al contrario, se la XCI non è casuale, ed è preferenzialmente inattivato l'X che porta l'allele mutato (azione protettiva dell'XCI non casuale), le manifestazioni cliniche della RTT possono risultare meno gravi o assenti (Archer H. et al, 2007).

Il nostro approccio sperimentale

La strategia sperimentale, presentata al convegno, mira a identificare e selezionare molecole che, agendo sui meccanismi epigeneti-

ci che silenziano uno dei due alleli di *Mecp2*, ne consentano la riattivazione. Tali meccanismi non sono ancora stati compresi a fondo, per cui, di fatto, non sappiamo quale sia il preciso 'interruttore molecolare' da spostare dalla posizione OFF a quella ON.

Pertanto, abbiamo pensato di ricorrere a collezioni (*libraries*, letteralmente 'biblioteche') di composti epigenetici (*epidrugs*), al fine di mettere in funzione l'allele *Mecp2* sano, che è già presente all'interno della cellula RTT, ma è silente.

Nello specifico il nostro progetto, schematizzato in figura 2, è stato declinato in tre obiettivi fondamentali:

1. *Creare uno strumento cellulare che ci permetta di evidenziare attraverso marcatori 'colorati' se e quanto l'allele silente del gene Mecp2 viene riattivato.*

Stiamo attualmente generando topi in cui gli alleli di *Mecp2* siano 'cuciti' a due diverse 'etichette' fluorescenti (*reporter*), monitorabili al microscopio. L'intento è di ottenere due popolazioni omogenee di cellule 'fenotipicamente' mono-

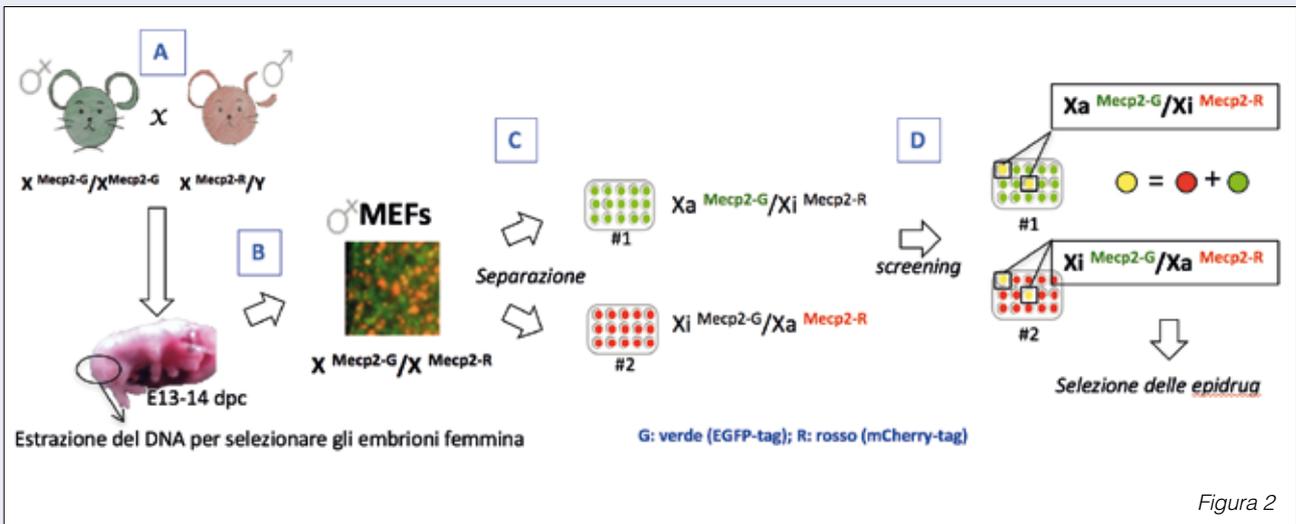
cromatiche (verdi o rosse, figura 2C), che abbiano l'altro allele 'colorato' non visibile fino a quando il cromosoma X che lo porta è inattivo. Questo sistema, da noi chiamato '*dual color cell reporter*', rappresenta il punto di partenza per lo *screening* di *epidrug* che possano riattivare, specificamente o con il minor numero di 'geni fuori-bersaglio', la copia silente del gene della Rett.

2. Messa a punto del saggio cellulare per valutare la riattivazione di *Mecp2*.

Una volta ottenuto il sistema cellulare desiderato, sarà necessario definire le condizioni sperimentali per il suo impiego in un test (saggio) funzionale, per l'individuazione di molecole capaci di 'accendere' l'etichetta 'nascosta' e quindi di far comparire il colore invisibile (rosso o verde, figura 2D), indice di riattivazione dell'allele *Mecp2* inattivo. Per verificare che il test funzioni e che sia possibile 'accendere' la fluorescenza nascosta sull'X inattivo, si utilizzeranno dei composti chimici già noti come inibitori della XCI (Bhatnagar S et al, 2014) e che quindi riattiveranno gran parte del cromosoma X.

In una fase più avanzata, il test basato sul '*dual color cell reporter*' verrà adattato per essere eseguito su larga scala. Questa parte di progetto sarà eseguita in collaborazione con la dott.ssa Laura Casalino, all'IGB di Napoli, attraverso l'utilizzo di una piattaforma robotica integrata chiamata *CellMaker*, sviluppata *ad hoc* per l'automazione di *screenings* molecolari su saggi cellulari (Casalino L et al, 2012 e 2011).

Tecnicamente, l'effetto atteso per i composti che vaglieremo sarà visualizzato come la comparsa del segnale rosso nella popolazione di cellule verdi, e viceversa, la comparsa del segnale verde nella popolazione di cellule rosse (figura 2D).



3. Screening di composti ad azione epigenetica (epidrug libraries).

In una prima fase, in uno screening pilota, si analizzerà l'effetto della collezione di composti ad alto grado di selettività del dott. Knapp (<http://www.thesgc.org/chemical-probes/epigenetics>). I principali enzimi che modulano l'epigenoma, infatti, sono raggruppabili in tre grandi classi: scrittori, lettori e cancellatori delle modifiche epigenetiche. La collezione, che il dott. Knapp ci fornirà gratuitamente, è costituita dai principali regolatori di queste tre classi: si tratta di trentotto molecole 'capostipite', da cui per analogia di struttura o funzione, derivano moltissime altre epidrug. In seguito ci riserviamo la possibilità di ricorrere ad una più vasta collezione di epidrugs disponibili in commercio, per ampliare la possibilità di successo nel caso in cui lo screening pilota non abbia identificato alcun composto attivo.

Considerazioni finali

Screening analoghi sono in corso presso l'International Rett Consortium (<http://www.rsrt.org/>).

Tuttavia, il set di molecole che intendiamo analizzare è differente (nota del dott. Knapp). Riteniamo, quindi, che la nostra proposta

debba intendersi come un contributo, offerto all'Italia, per aumentare la probabilità di successo in tale direzione. Vogliamo inoltre precisare che lo strumento sperimentale da noi ideato, dal sistema cellulare alla strategia operativa, è completamente innovativo e il suo punto di forza è che non richiede di modificare il naturale corso dell'inattivazione dell'X. È pratica comune infatti, modificare geneticamente uno dei due X, al fine di renderlo permanentemente attivo (o inattivo, a seconda delle strategie specifiche). Invece, l'ideazione di uno strumento cellulare, che assicuri condizioni più strettamente fisiologiche all'XCI, abbassa la probabilità di 'falsi positivi' e richiede anche un minor numero di manipolazioni dei modelli murini.

La RTT è annoverata tra i disordini di tipo autistico, ma è considerata una patologia 'rara'. Pertanto, le agenzie, pubbliche e private, sono restie a finanziare progetti inerenti questa patologia. Eppure, il fatto che si conosca il gene causativo è già di per sé un vantaggio per le applicazioni terapeutiche, rispetto ad altre malattie di origine genetica. Il nostro progetto fa leva su questa conoscenza e, al tempo stesso, fa tesoro delle recenti scoperte della ricerca di base sul-

la reversibilità del fenomeno della inattivazione del cromosoma X.

Il progetto è ambizioso e sicuramente ha delle criticità che sono state discusse con i ricercatori intervenuti al convegno. Riteniamo, tuttavia, che a distanza di 18 anni dalla scoperta di MECP2, occorra 'riaccendere', insieme a MECP2, anche la speranza di tante famiglie, che sperimentano ogni giorno i ritardi della ricerca biomedica nel campo della patologia RTT. ■

Bibliografia

Archer H et al, 2007. Correlation between clinical severity in patients with Rett syndrome with a p.R168X or p.T158M MECP2 mutation, and the direction and degree of skewing of X-chromosome inactivation. *J Med Genet* 44:148-52.

Bhatnagar S et al, 2014. Genetic and pharmacological reactivation of the mammalian inactive X chromosome. *Proc Natl Acad Sci U S A* 111:12591-8.

Casalino L et al, 2012. An automated high throughput screening-compatible assay to identify regulators of stem cell neural differentiation. *Molecular biotechnology* 50:171-80.

Casalino L et al, 2011. Control of embryonic stem cell metastability by L-proline catabolism. *Journal of molecular cell biology* 3:108-22.

Guy J et al, 2007. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science* 315:1143-7.

Vacca M et al, 2016. X inactivation and reactivation in X-linked diseases. *Seminars in cell and developmental biology* 56: 78-87.

Studi preclinici sulla sindrome CDKL5: nuovi aggiornamenti

Tommaso Pizzorusso
Dipartimento NEUROFARBA Università di Firenze e Istituto Neuroscienze CNR di Pisa



La sindrome CDKL5 è una patologia che ha alcune similitudini con la sindrome di Rett classica

dovuta alle mutazioni di MeCP2 di cui in passato era considerata una variante. Rispetto alla Rett classica però, le conoscenze dei meccanismi che generano la sindrome CDKL5 sono meno avanzati, sia perché l'identificazione del gene la cui mutazione è responsabile è avvenuta più recentemente, sia perché i modelli animali che esprimono le mutazioni patologiche di CDKL5 sono disponibili da soli cinque anni e sono studiati da un numero di laboratori relativamente basso. Sappiamo quindi molto poco sulle conseguenze della mutazione CDKL5 a livello neuronale. Queste conoscenze sarebbero molto utili in quanto possono essere utilizzate per comprendere i meccanismi difettosi ed eventualmente correggerli, e per ottenere buoni biomarcatori per monitorare lo stato dei circuiti neuronali durante lo sviluppo o dopo i trattamenti in modelli della patologia o nei pazienti.

Gli studi del nostro laboratorio hanno analizzato in primo luogo le spine dendritiche, ovvero le parti del neurone su cui si trovano la maggior parte delle sinapsi e che permettono la comunicazione tra i neuroni. L'esigenza di questo studio deriva dalla mancanza di degenerazione neuronale nel disturbo CDKL5, che ci induce a ipotizzare che i sintomi derivino da alterazioni dei meccanismi di comunicazione neuronale piuttosto che nella perdita dei neuroni stessi.

Utilizzando un metodo di imaging (2-photon imaging) che consente di ripetere la visualizzazione degli stessi neuroni nel tempo, possiamo osservare che le spine dendritiche del modello animale di sindrome CDKL5 si formano normalmente, ma non si stabilizzano e tendono ad essere perse in modo eccessivo. Ciò si verifica in gran parte durante lo sviluppo ma anche negli adulti.

Applicando IGF-1 nei topi CDKL5 adulti abbiamo reso le spine dendritiche più resistenti e siamo riusciti a rimediare almeno in parte alle loro alterazioni biochimiche. Abbiamo quindi verificato se il danno alla spina dendritica fosse accompagnata da cambiamenti funzionali nella comunicazione neuronale. Usando metodi elettrofisiologici abbiamo scoperto che la comunicazione neuronale è ridotta e non è in grado di adattarsi ai cambiamenti nell'attività, una proprietà chiamata plasticità importante per l'apprendimento.

Un successivo studio ha mirato ad analizzare il comportamento integrato dei circuiti nella corteccia cerebrale dei mutanti CDKL5, esaminando le risposte visive in diverse fasi di sviluppo. Le risposte visive possono essere monitorate in modo oggettivo e non invasivo sia negli esseri umani che nei topi. Inoltre, delle alterazioni visive di origine corticale sono state riportate nei pazienti CDKL5. Abbiamo riscontrato che le risposte visive sono inizialmente normali ma non si sviluppano sia nei topi maschi senza CDKL5 che nelle femmine con espressione a mosaico di CDKL5.

Il modello animale con mutazione CDKL5 è anche utilizzato per la valutazione di terapie sperimentali. Queste analisi hanno portato a prove sperimentali sufficienti sulle prospettive della terapia sostitutiva del CDKL5 tali che una ditta farmaceutica americana, la Amicus, ha deciso di acquistare il brevetto mondiale e cercare di sviluppare questo approccio sperimentale in una possibile terapia. La terapia sostitutiva permetterebbe di far arrivare una quota di proteina CDKL5 alle cellule cerebrali sofferenti e, grazie ai sostanziosi investimenti della Amicus, si studieranno modifiche di questo approccio mirate a renderlo più attuabile anche nell'uomo. In particolare, occorre ancora migliorare l'arrivo della proteina CDKL5 ai neuroni dopo la sua iniezione nel circolo sanguigno e saranno necessarie prove cliniche nell'uomo.

In sintesi, gli ultimi studi sulla sindrome CDKL5 hanno mostrato che le cortecce sensoriali dei topi CDKL5 mostrano chiare anomalie morfologiche che possono essere revertite. Inoltre, i meccanismi molecolari coinvolti nella stabilizzazione sinaptica sono massimamente colpiti dalla perdita di CDKL5 e sono stati messi a punto test non invasivi e di alta fattibilità che possono essere usati nell'animale e nell'uomo e che hanno mostrato deficit progressivi della malattia. Quindi, molti fenotipi a diversi livelli (funzionali, morfologici, comportamentali) sono ora disponibili per i test preclinici di nuovi trattamenti. ■

Target molecolari e terapeutici in pazienti mutati FOXP1 e MECP2

Ilaria Meloni, Alessandra Renieri
Genetica Medica, Dipartimento di Biotecnologie Mediche, Università degli Studi di Siena



Negli anni passati il gruppo della Genetica Medica di Siena, coordinato dalla prof.ssa Alessandra Renieri,

ha generato cellule staminali pluripotenti indotte (induced Pluripotent Stem Cells = iPSCs) da pazienti con mutazione nei geni *MECP2* e *FOXP1*, al fine di utilizzarle come innovativo modello cellulare per lo studio dei meccanismi alla base della sindrome di Rett (RTT) classica (mutazioni in *MECP2*) e delle sue varianti (mutazioni in *FOXP1*). Le cellule iPSCs si ottengono a partire da Fibroblasti, cellule presenti nella cute che possono essere isolate tramite biopsia cutanea, una procedura medica minimamente invasiva; una volta ottenute, le iPSCs possono essere indirizzate con opportuni protocolli a differenziare in tipi cellulari specifici, incluse le cellule del cervello, i neuroni; queste cellule possono essere utilizzate come modello paziente-specifico per studiare come le mutazioni alterano lo sviluppo e la funzionalità dei neuroni.

Sia *MECP2* che *FOXP1* codificano per regolatori trascrizionali, cioè proteine la cui funzione all'interno della cellula è quella di controllori, che decidono quanto e quando altri geni debbano essere espressi. Per tale motivo, al fine di caratterizzare i meccanismi della malattia e identificare possibili bersagli terapeutici, abbiamo deciso di confrontare il profilo globale di espressione genica di neuroni mutati in *MECP2* o in *FOXP1* con quello di neuroni di controllo tramite RNA-seq, un tecnologia di

sequenziamento di ultima generazione che consente di analizzare contemporaneamente l'espressione di tutti i geni contenuti nel genoma umano. L'analisi è stata effettuata su neuroni differenziati da iPSCs derivate da 2 pazienti con diverse mutazioni in *MECP2*, scelte tra quelle più frequentemente riscontrate nelle pazienti, e due pazienti con diverse mutazioni nel gene *FOXP1*.

L'analisi dei neuroni mutati in *MECP2* ha evidenziato, rispetto ai controlli, una variazione nei livelli di espressione di circa 900 geni. Al fine di identificare processi biologici potenzialmente rilevanti per l'insorgenza della RTT, questi geni sono stati sottoposti ad una analisi bioinformatica che ha permesso di raggrupparli in base al coinvolgimento in processi biologici comuni. Tale analisi ha evidenziato, tra gli altri, una alterazione di geni collegati alla regolazione del network dei microtubuli. I microtubuli sono lunghe catene costituite da due componenti di base, la Tubulina- α e la Tubulina- β , e rappresentano una delle componenti principali del citoscheletro, lo "scheletro" della cellula. In particolare, le nostre analisi ci hanno permesso di identificare una eccessiva espressione di un gene, HDAC6, che rimuove dalla Tubulina- α uno specifico gruppo detto Acetile; il rapporto tra Tubulina- α con (acetilata) e senza gruppo Acetile (deacetilata) è importante per la regolazione di molti processi connessi con la maturazione e la funzionalità dei neuroni, alcuni dei quali risultano alterati in modelli sia animali che cellulari di sindrome di Rett. In linea con l'ec-

cessiva espressione di HDAC6, i neuroni delle pazienti presentano una riduzione della quantità di Tubulina- α acetilata. HDAC6 appartiene alla famiglia proteica delle Istone Deacetilasi (HDAC), proteine molto studiate dal punto di vista farmacologico per il loro coinvolgimento nel cancro. Sono state sviluppate negli ultimi anni diverse molecole in grado di ridurre l'attività di uno o più membri della famiglia delle HDAC. Al fine di ridurre il rischio di effetti collaterali dovuti all'azione su HDAC diverse da HDAC6, abbiamo concentrato la nostra attenzione su quelle molecole che agissero in modo selettivo su HDAC6. In particolare, abbiamo testato due inibitori altamente selettivi, per uno dei quali sono attualmente in corso trial clinici su pazienti oncologici. Entrambi i composti hanno dimostrato la capacità di incrementare i livelli di Tubulina- α acetilata; qualora l'effetto sia confermato su ulteriori pazienti, tali farmaci potrebbero quindi rappresentare un potenziale approccio terapeutico per la RTT.

Potenzialmente rilevante dal punto di vista terapeutico è anche l'eccessiva espressione osservata nelle cellule mutate in *MECP2* di 2 geni (*CACNA2D2* e *CANCA2D3*) che codificano per componenti dei canali del Calcio. I canali del Calcio sono attivati in seguito all'attività delle sinapsi e contribuiscono a modularla; in particolare, i due geni la cui espressione risulta alterata sono importanti per regolare l'apertura e la chiusura del canale, in risposta a vari neurotrasmettitori. Ciò che rende questi due geni particolarmente inte-

ressanti in un'ottica terapeutica è il fatto che essi rappresentano il sito di legame del Pregabalin, un farmaco comunemente utilizzato per il trattamento degli stati di ansia e che agisce modulando proprio l'attività dei canali del Calcio. Ulteriori studi saranno necessari al fine di validare la rilevanza dell'alterazione di *CACNA2D2* e *CANCA2D3* (e potenzialmente di altre subunità di canali del Calcio) nella RTT; se tale rilevanza sarà confermata, il Pregabalin potrebbe rappresentare una possibile opzione terapeutica di rapida applicazione.

L'analisi bioinformatica dei geni con espressione alterata emersi dall'RNA-seq per i neuroni mutati in *FOXG1* è attualmente in corso; da una prima valutazione emerge, tra i geni espressi in eccesso nei neuroni mutati, un arricchimento per geni coinvolti nel circuito del GABA. Il GABA è il principale neurotrasmettitore inibitorio, che regola in senso negativo l'attività neuronale. Una eccessiva espressione di geni coinvolti in questo circuito era già stata evidenziata da noi in passato sia nel modello animale (topo con una sola copia funzionante del gene *Foxg1*)

che in neuroni derivati da iPSCs ottenute da una paziente con delezione completa di una copia di *FOXG1* (Patriarchi T et al, Eur J Hum Genet 2016), confermando la rilevanza di questo circuito per la patogenesi della RTT dovuta a mutazioni in *FOXG1*. Dal punto di vista terapeutico, esistono in commercio diversi farmaci che modulano in senso negativo l'attività dei neuroni GABAergici e che potrebbero essere quindi valutati per una possibile applicazione terapeutica.

Negli ultimi anni ha guadagnato notevole rilevanza la tecnologia CRISPR/CAS9 che consente di manipolare in modo estremamente preciso il genoma di qualunque cellula eucariotica. Questa tecnologia deriva da una forma di sistema immunitario dei batteri, che consente loro di resistere alle infezioni virali, e si basa su due componenti principali: la CAS9, una proteina che agisce come una forbice tagliando il DNA, e dei corti frammenti di DNA, detti "guide", che indirizzano la CAS9 verso specifici siti di taglio. Scegliendo le guide in modo opportuno e aggiungendo una ulteriore componente, il DNA stampo, è possibile

utilizzare questa tecnologia per tagliare il DNA in corrispondenza di una specifica mutazione puntiforme e sostituire la sequenza mutata con quella normale, correggendo così il difetto. Studi recenti hanno dimostrato l'efficacia di questa tecnologia per la correzione del difetto genetico in cellule di pazienti affetti da X-Fragile, la più comune forma di disabilità intellettiva legata al cromosoma X. Il nostro laboratorio, con il supporto delle famiglie *FOXG1* che hanno effettuato una efficace campagna di fund-raising, sta quindi iniziando un progetto di ricerca che mira a testare l'efficienza e la sicurezza del sistema CRISPR/CAS9 per la sostituzione della copia mutata del gene *FOXG1* con la corrispondente sequenza normale. Scopo finale è dimostrare in un modello cellulare *ex-vivo* l'applicabilità del sistema CRISPR/CAS9 per un approccio di terapia genica. Gli esperimenti verranno effettuati in cellule iPSCs derivate da pazienti con diverse mutazioni puntiformi nel gene *FOXG1*; per permettere al CRISPR/CAS9 di entrare all'interno della cellula verrà utilizzato un sistema virale (AAV = Adeno-Associated Virus). ■



Alcune famiglie Rett presenti al Convegno con Mara Maionchi e Filippo Roma

Vecchi farmaci per nuove terapie: Mirtazapina e simili

Enrico Tongiorgi
Dipartimento di Scienze della Vita, Università di Trieste

Parte 1. Strategie terapeutiche e sperimentazioni cliniche nella sindrome di Rett: il punto della situazione.



La sindrome di Rett presenta delle notevoli sfide per la ricerca di una sua possibile cura a causa delle sue mille sfaccettature e dei tanti diversi sintomi, così variabili tra una bambina e l'altra. Molte speranze si sono accese negli ultimi anni a seguito alla scoperta

del normale programma di sviluppo che si era bloccato per l'assenza del gene MeCP2. Ma qual è la "chiave" giusta per risvegliare il programma di crescita interrotto dalla sindrome di Rett?

Ispirati da questa domanda scientifica, i ricercatori hanno definito delle strategie per lo sviluppo di una terapia seguendo sostanzialmente due strade principali, una "a monte", l'altra "a valle" del gene MeCP2 (Katz et al., 2016). Nella prima strategia (a monte), si cerca di ripristinare il normale

sano posto su uno dei due cromosomi X che è "silente". Tutte le bambine hanno due cromosomi X (femminili), ma ogni cellula dell'organismo ne usa solo uno e quindi l'altro cromosoma X viene "silenzioso", dividendo circa al 50% l'uso di ciascun cromosoma X. Nella sindrome di Rett un cromosoma X porta il gene mutato, l'altro, il gene sano e quindi in modo del tutto casuale, alcune cellule del corpo sono sane e altre sono malate. Una terapia ideale dovrebbe agire soltanto sulle cellule malate, riattivando il gene sano silenziato.

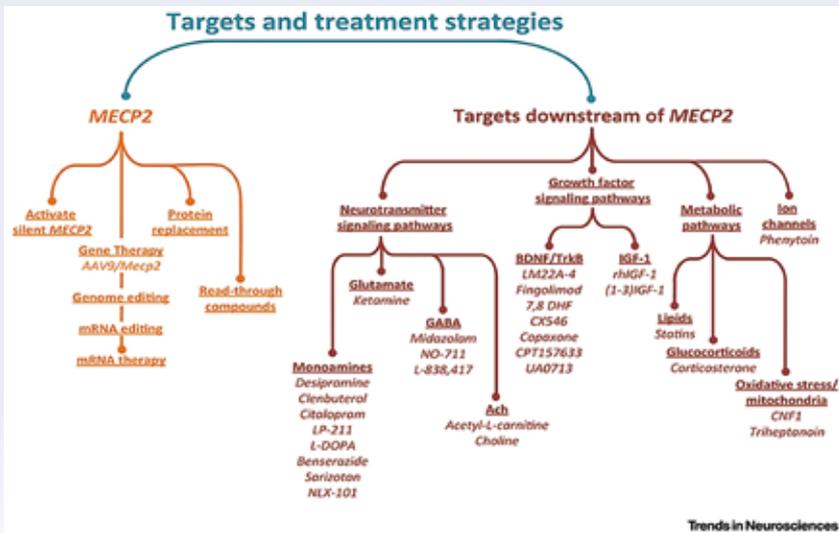


Figura 1. Da: D.Katz, A.Bird, M.Coenraads, S.J. Gray, D.U. Menon, B.D. Philpot, and D.C. Tarquinio (2016). Rett Syndrome: Crossing the Threshold to Clinical Translation. Trends Neurosci. 39(2): 100–113.

che nei topi MeCP2^{-/-} (Null), modello della sindrome di Rett "classica", la reintegrazione del gene MeCP2 normale è in grado di contrastare i principali sintomi della malattia (Guy et al. 2007). Per questo, nonostante le oggettive difficoltà, molti ricercatori sono convinti che si possa trovare una "chiave" capace di innescare la via molecolare per la riattivazione

funzionamento del gene MeCP2, nella seconda (a valle) si mira a potenziare particolari vie metaboliche che vengono attivate a cascata dal gene MeCP2 (Figura 1).

Più in dettaglio, quando il bersaglio della terapia è il ripristino del MeCP2, sono state intraprese 4 diverse strategie:

1) L'attivazione del gene MeCP2

2) L'espressione del gene MeCP2 sano mediante vettori di terapia genica. Si tratta in genere di trasferire il gene mediante un piccolo virus, innocuo, che penetra nelle cellule dell'organismo e produce i propri geni tra i quali si può inserire artificialmente il gene di interesse o un gene che è in grado di riparare il gene mutato (tecniche di genome editing, o di mRNA editing).

3) La somministrazione della proteina mancante. Questa terapia, è stata sperimentata con successo nei topi privi del gene CDKL5 a cui è stata iniettata la proteina umana CDKL5. Questa proteina-surrogato, grazie ad una appendice costituita da una piccola catena di aminoacidi, viene trasportata naturalmente all'interno delle cellule mantenendone la funzione (Brevetto US20150247134 A1 depositato da Elisabetta Ciani e Franco Laccone, Università di Bologna).

4) Composti che permettono ai ribosomi di produrre la proteina "saltando" le mutazioni di stop

(read-through compounds). In molte pazienti Rett la mutazione di una singola lettera del codice genetico genera un segnale di STOP prematuro, cioè posizionato nel cuore della sequenza del gene MeCP2 anziché al suo termine, come avviene normalmente. Perciò, quando il DNA che porta la sequenza con la mutazione di STOP viene letto dai ribosomi per produrre la proteina corrispondente, si ottiene una catena proteica più corta e generalmente priva delle funzioni di MeCP2 utili alla cellula. Alcuni composti sperimentati recentemente, permettono ai ribosomi di leggere la sequenza del DNA in modo meno preciso e quindi di inserire un aminoacido "utile" anche quando trovano un segnale di STOP prematuro, rispettando tuttavia il segnale di STOP canonico presente alla fine di una sequenza del codice da cui viene prodotta la proteina.

Ciascuna di queste strategie porta con sé delle problematiche tecniche nell'applicazione alla sindrome di Rett, dove solo la metà delle cellule del corpo sono colpite dalla malattia. Inoltre la quantità di proteina MeCP2 presente nelle cellule deve essere contenuta entro dei limiti ben precisi. Infatti, non solo bassi livelli o la completa assenza della proteina MeCP2 sono patologici per l'organismo, causando la sindrome di Rett, ma anche quantità in eccesso provocano una sindrome conosciuta come *MeCP2-duplication syndrome*.

Quindi la terapia dovrebbe essere in grado di ripristinare in modo selettivo il gene soltanto nelle cellule in cui **è presente il gene mutato ed il gene sano è inattivato**. Infatti, se usando la terapia genica (strategia 2) venisse inserito un gene soprannumerario nelle cellule "sane" si potrebbe generare la sindrome di duplicazione. Un problema simile si potrebbe creare anche nel caso della somministrazione di proteina surrogata

(strategia 3). Dato che non è mai stata testata nella Rett "classica" gli effetti di una terapia proteica con MeCP2 non sono noti, mentre nel caso dell'CDKL5 sembra produrre degli effetti benefici nel modello animale della sindrome. Analogamente, riattivando l'intero cromosoma X (strategia 1), si potrebbe generare un effetto di duplicazione per tutti gli altri geni sani del cromosoma X. Nel caso invece, in cui la terapia genica venisse utilizzata per riparare il gene mutato, ci si attende un risultato più mirato ed una minore tossicità, sebbene le tecnologie disponibili (per esempio la tecnica CRISPR/CAS9) abbiano dimostrato finora una limitata efficacia. Per quanto riguarda i farmaci che permettono ai ribosomi di saltare le mutazioni di STOP (strategia 4), si tratta di un'idea che esiste da alcuni decenni e recentemente è stato prodotto un gran numero di nuovi composti chimici destando un notevole interesse in quanto alcuni sono risultati efficaci nel ripristinare almeno parzialmente le funzioni di vari geni mutati. Alcune sperimentazioni cliniche sono già in stadio avanzato anche per malattie legate a geni del cromosoma X, anche se bisogna ammettere che esistono solo pochi composti veramente efficaci e pertanto questa terapia ha ancora un uso clinico limitato. Infatti, la capacità di un composto di saltare la mutazione STOP dipende molto dal tipo di mutazione. Questi composti risultano efficaci solo per alcuni pazienti mentre per altri pazienti, con altre mutazioni, non risultano utili. Pertanto c'è la necessità di disegnare nuovi composti "read-through" affinché siano attivi su tutte le varie tipologie di mutazioni. Le ricerche attuali si incentrano anche sul risolvere il problema dell'inserimento di un aminoacido sbagliato che potrebbe causare una disfunzione della proteina, o potrebbe produrre una proteina instabile.

La seconda strada per lo sviluppo di nuove terapie, prevede l'uso di farmaci che attivano le vie metaboliche a valle del gene MeCP2 e consiste in 4 strategie principali (Figura 1):

1) Farmaci che modulano i neurotrasmettitori e le loro vie di segnale.

Sono stati sperimentati trattamenti per aumentare i livelli di Acetilcolina, Noradrenalina, Serotonina, Dopamina, Glutammato e Acido-Gamma-Ammino-Butirico (GABA). Per le monoammine (Noradrenalina, Serotonina) sono stati utilizzati antidepressivi, mentre per la Dopamina, la levo-Dopa da sola o in combinazione con un inibitore della dopa-decarbossilasi (Szczena et al., 2014). Per aumentare la produzione dell'Acetilcolina è stata somministrata la Colina che è il nutriente da cui viene sintetizzato questo neurotrasmettitore (Nag e Berger-Sweeney, 2007). Per il Glutammato è in corso di sperimentazione clinica la Ketamina (vedi di seguito).

2) Farmaci che surrogano o potenziano i fattori neurotrofici.

I fattori neurotrofici bersaglio di questa strategia terapeutica sono sostanzialmente due: la neurotrofina Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF) e l'Insulin-like Growth Factor-1 (IGF-1). Entrambi sono in grado di promuovere la crescita dei neuroni Rett mediante il ripristino di vie di segnale in parte sovrapponibili, ed entrambi promuovono la riduzione di vari sintomi, incluso le apnee respiratorie. Tuttavia mentre la somministrazione di BDNF è poco efficace perché non raggiunge il cervello in quantità sufficienti e quindi è necessario usare dei farmaci che attivano il suo recettore, l'IGF-1 raggiunge bene il sistema nervoso ed è oggetto di sperimentazione clinica (vedi di seguito).

3) Farmaci che modulano i lipidi, gli steroidi endogeni o proteggono dallo stress ossidativo. In



Un momento ricreativo per le nostre bimbe e ragazze

questa categoria rientrano diverse strategie che hanno un obiettivo comune: una migliore produzione di energia attraverso una efficiente metabolizzazione degli acidi grassi, riducendo al contempo lo stress ossidativo che è normalmente associato alla produzione di energia e che nella sindrome di Rett risulta superiore ai livelli normali (Leoncini et al., 2015). Si ritiene che tale strategia possa avere degli effetti benefici per il trattamento delle crisi epilettiche.

4) Farmaci che ripristinano il funzionamento dei canali ionici. Precedenti approcci sono stati mirati ai canali coinvolti nell'epilessia, come il canale per il flusso degli ioni Sodio. Recentemente si è scoperto che un canale al Potassio/Cloro, noto con la sigla KCC2, è quasi assente nei neuroni Rett causando una ipereccitazione dei neuroni che sarebbe alla base delle crisi epilettiche (Tang et al., 2016). È stato inoltre dimostrato che il ripristino dei livelli normali di KCC2 permette ai neuroni Rett di maturare verso un fenotipo adulto, bilanciando correttamente segnali di tipo inibitorio (mediati dal neurotrasmettitore GABA) e quelli di tipo eccitatorio (mediati dal Glutammato) (Tang et al., 2016). Con livelli normali di KCC2, i neuroni sarebbero più efficaci nel trasmettere i segnali (Glutammato) mantenendo

tuttavia un corretto freno inibitorio (GABA) che evita ai neuroni di eccedere verso la generazione di correnti elettriche incontrollate di tipo epilettico.

Le sperimentazioni cliniche con la Colina, per aumentare i livelli di Acetilcolina o con Levo-Dopa per aumentare la produzione di Dopamina hanno prodotto risultati modesti (strategia 1). Mentre gli antidepressivi sono ancora in fase di sperimentazione e c'è una maggiore aspettativa di ottenere dei successi (strategia 1). Vi è un certo ottimismo anche per quanto riguarda i trattamenti per aumentare i segnali indotti dai fattori neurotrofici (strategia 2) mentre per i trattamenti con integratori alimentari (per es. Omega 3 e 6) e farmaci che regolano il metabolismo energetico dei mitocondri è necessario attendere l'esito delle sperimentazioni in corso (strategia 3). Infine per quanto riguarda i canali ionici (strategia 4), non esiste ancora una sperimentazione clinica mirata al ripristino del canale del Potassio/Cloro KCC2, e il candidato più promettente è la Fenitoina, un farmaco già presente sul mercato ed usato come antiepilettico che ha come target il canale per gli ioni Sodio.

Da notare che a parte alcuni composti nuovi, nella maggior parte

dei casi sopra esposti si tratta di farmaci già in commercio e somministrati per altre patologie, i quali tuttavia hanno dimostrato un effetto benefico nei modelli animali della sindrome di Rett. L'uso di "vecchi" farmaci per nuove applicazioni terapeutiche si definisce "**strategia di riposizionamento**" del farmaco. Ha il vantaggio di permettere una più rapida approvazione da parte delle autorità preposte al controllo dell'uso e al commercio dei farmaci omettendo la Fase 1 della sperimentazione clinica dedicata ai controlli di sicurezza, in ragione del fatto che i principali dati del farmaco sono già noti, come ad esempio quelli del metabolismo del composto attraverso i vari distretti del corpo (cervello, cuore, stomaco, fegato, reni, etc...). Tuttavia, dopo aver dimostrato effetti positivi nel modello animale, restano da dimostrare l'efficacia, l'entità di eventuali effetti collaterali e la tollerabilità specifica nelle pazienti affette dalla sindrome di Rett, soprattutto se in età pediatrica. Nella prima sperimentazione clinica per un farmaco "riposizionato" si può quindi saltare la Fase 1, e viene di norma condotta una Fase 2 dove per precauzione vengono coinvolti solo pochi pazienti in un numero generalmente compreso tra 10 e 40, o un numero doppio se alcuni pazienti ricevono il placebo. Nelle malattie rare molto spesso, la Fase 2 viene condotta dichiarando apertamente quali sono i pazienti che ricevono il farmaco (sperimentazione "Open label"). Solo dopo una prima valutazione del farmaco, se si dimostra una buona tollerabilità e c'è stata anche una minima efficacia si procede ad una sperimentazione su un numero maggiore di pazienti (circa un centinaio) in una cosiddetta Fase 3. Nelle tabelle che seguono vengono schematicamente riportati i principali "clinical trials" con indicazione della fase in cui si trovano (fonte: sito web NIH clinical trials).

Tabella 1. Sperimentazione clinica nella sindrome di Rett CON ESITI POSITIVI oppure IN CORSO

Integratore/Farmaco	A cosa serve? Quali effetti sono attesi?
<p>Triptanoato di glicerina Ago 2017 – reclutamento in corso 10 pazienti 3-18 anni Fase 2/Open label - Responsabile: Bruria Ben-Zeev (Israele)</p> <p>Dic 2016 – sperimentazione in corso 60 pazienti 3-18 anni Fase 2/Open label Ultragenyx Pharmaceutical - Responsabile: Daniel Tarquinio(USA)</p>	<p>Composto sintetico sperimentale sviluppato per fornire 'acidi grassi a catena dispari di media lunghezza', che possono essere metabolizzati per aumentare i substrati intermedi nel ciclo di Krebs, un fondamentale processo per la produzione dell'energia necessaria all'organismo da parte dei mitocondri.</p> <p>EFFETTI ATTESI: riduzione crisi epilettiche in 20 settimane(=5m) EFFETTI ATTESI: riduzione distonia e crisi epilettiche in 4 settimane (=1m), respirazione, cuore, depressione, cgii etc..</p>
<p>Sarizotan Ago 2016 – sperimentazione in corso 129 pazienti >6 anni Fase 2-Fase 3/Placebo Newron (multicentrico India, Italy, UK, USA)</p>	<p>Antipsicotico che agisce come agonista selettivo del recettore per la serotonina 5-HT1A e antagonista del recettore D2 per la dopamina. Testato per riduzione dei sintomi del Parkinson: non ha dimostrato efficacia.</p> <p>EFFETTI ATTESI: riduzione sintomi respiratori in 24 settimane(=6m)</p>
<p>Trofinetide (NNZ-2566) Mar 2016 – completato 82 pazienti 5-15 anni Fase 2/Placebo Neuren Pharmaceuticals USA (multicentrico) - Responsabili: Kaufmann, Percy, Kaminsky PREVISIONE: Fase 3/Placebo nel 2018</p>	<p>Il Trofinetide (Glycyl-L-2-Methylpropyl-L-Glutamic Acid) è un analogo sintetico degli ultimi 3 aminoacidi (GPE) del fattore IF-1 presente naturalmente nel cervello dove svolge una funzione neurotrofica e neuroprotettiva.</p> <p>RISULTATI: - Assenza di eventi avversi in 11 settimane (=3m). - NESSUN MIGLIORAMENTO di EEG, apnea, comportamento, funzioni autonome, Clinical Severity Score (CSS). - MIGLIORAMENTO n=27 pazienti alla dose più alta 200mg/kg mostrano 15-16% miglioramento del Rett Syndrome Behaviour Questionnaire (p=0.042), Clinical Global Impression of Improvement (p=0.029) and the Rett Syndrome Domain Specific Concerns (p=0.025), il trial continua</p>
<p>Fingolimod (FTY720) Ago 2013 – da completare nel 2017 6 pazienti >6 anni Fase 1-2/Placebo Novartis (Basilea, CH) PREVISIONE: Fase 2/Placebo nel 2018</p>	<p>Fingolimod è un agonista dei recettori sfingosina-1-fosfato e induce un aumento dei livelli della neurotrofina BDNF presente naturalmente nel cervello dove svolge funzioni neurotrofiche e neuroprotettive.</p> <p>RISULTATI: Nessun problema di sicurezza, il trial continua 0.5 or 0.25 mg/g per 12mesi</p>
<p>EPI-743 Ago 2013 – completato 24 pazienti 2.5-8anni Fase 2/Open label Edison pharmaceuticals - Responsabile: Hayek (Siena, Italy)</p>	<p>L'EPI-743 migliora il funzionamento dei mitocondri,</p> <p>RISULTATI : - MIGLIORAMENTO nella crescita della circonferenza della testa. - NESSUN MIGLIORAMENTO di EEG, apnea, comportamento, funzioni autonome, Clinical Severity Score (CSS). (6 mesi) incremento fino a 20mg/gg</p>

Tabella 2. Sperimentazione clinica nella sindrome di Rett CON ESITI NEGATIVI

Integratore/Farmaco	A cosa serve? Quali risultati sono stati ottenuti?
<p>Glatiramer Acetate (Copaxone) Ago 2013 – completato 20 pazienti 10> anni Fase 2/Open label - Responsabili: Aleksandra Djukic Montefiore (USA) Bruria Ben Zeev (Israele)</p>	<p>Il Copaxone è un farmaco utilizzato nella sclerosi multipla. Induce un aumento del BDNF neuronale.</p> <p>RISULTATI DJUKIC: n=10 pazienti mostrano 13%-95% miglioramento della velocità del passo (p=0.03), miglioramento della memoria (p<0.03) e riduzione delle scariche epilettiche nei 4 pazienti che le avevano.</p> <p>RISULTATI BEN ZEEV: n=4 pazienti hanno avuto EFFETTI AVVERSI di cui 3 con rischio di esito fatale – TRIAL INTERROTTO (6 mesi) incremento fino a 20mg/gg</p>

Parte 2. Il nostro approccio: Mirtazapina

L'osservazione di una riduzione dei neurotrasmettitori noradrenalina (NE), serotonina (5HT) e dopamina (DA), ha suggerito alcuni anni fa la possibilità di utilizzare gli antidepressivi nella sindrome di Rett (Zoghbi et al., 1985, Ide et al., 2005; Santos et al., 2010). Nel Laboratorio di Neurobiologia Cellu-

lare e dello Sviluppo dell'Università di Trieste abbiamo intrapreso uno studio di riposizionamento selezionando Mirtazapina, un farmaco antidepressivo che potenzia il rilascio dei neurotrasmettitori noradrenergici (NE), serotonina (5HT) e in misura minore anche dopamina (DA). Il primo antidepressivo testato nella sindrome di Rett è stato la desipramina, un antidepressivo trici-

clico che inibisce la ricaptazione di NE e in minor misura di 5HT. Nei topi, la desipramina stabilizza la respirazione, sostenendo la crescita dei neuroni dei centri del respiro, ed aumenta l'aspettativa di vita. Sebbene la desipramina non determini un recupero di peso del cervello, del corpo e dell'attività motoria, questi esperimenti hanno chiaramente indicato che un trattamento farmacologico mi-

rato ai sistemi serotoninergico e noradrenergico potrebbe essere d'aiuto per le pazienti Rett (Roux et al., 2007, Zanella et al., 2008). Purtroppo la desipramina ha gravi effetti collaterali, che comprendono l'incapacità di controllare la pressione sanguigna e il battito cardiaco, con improvviso arresto cardiaco in bambini e adolescenti con prolungati intervalli QT, una caratteristica tipica della sindrome di Rett (Pacher and Kecskemeti, 2004). In alternativa alla desipramina, abbiamo scelto un farmaco approvato dalla Food and Drug Administration (FDA) statunitense e dall'European Medicine Agency (EMA): Mirtazapina, un antidepressivo noradrenergico e serotoninergico specifico tetraciclico (NaSSA) che presenta la più alta tollerabilità se paragonato ad altri 12 principali antidepressivi (Cipriani et al., 2009). Mirtazapina è virtualmente priva di effetti collaterali di tipo anticolinergico (Burrows and Kremer, 1997) e ha pochi effetti collaterali cardiorespiratori, sebbene un sovradosaggio induca sedazione (Hartmann, 1999).

I nostri esperimenti, pubblicati recentemente (Bittolo et al., 2016), hanno dimostrato che in topi maschi MeCP2 knock-out (MeCP2^{0/0}), 2 settimane di trattamento con Mirtazapina (dal giorno postnatale P28 al giorno P42) sono sufficienti a recuperare sia i deficit della frequenza cardiaca che quella respiratoria, senza effetti collaterali sulla saturazione d'ossigeno del sangue arterioso né sulla distensione venosa (Bittolo et al., 2016). Mirtazapina può quindi recuperare il ritmo irregolare della respirazione descritto sia nelle pazienti Rett sia nei topi senza provocare gli effetti collaterali indesiderati a livello cardiovascolare osservati con la desipramina (Bittolo et al., 2016). È importante sottolineare come i nostri esperimenti abbiano anche dimostrato che la Mirtazapina è in grado di recuperare

l'atrofia cerebrale, come indicato dalle misurazioni del peso del cervello e dalle analisi quantitative della morfologia della corteccia somato-sensoriale (Bittolo et al., 2016). Le misure della morfologia corticale rappresentano un parametro molto robusto per valutare l'efficacia del trattamento farmacologico, in quanto le alterazioni della morfologia corticale nei topi maschi MeCP2^{0/0} e nelle femmine MeCP2^{+/-} sono altamente riproducibili in tutti i laboratori, incluso il nostro, e rappresentano molto verosimilmente le alterazioni della morfologia corticale osservate nelle pazienti (Katz et al., 2012). In particolare, abbiamo riscontrato che il trattamento con Mirtazapina ripristina lo spessore della corteccia somato-sensoriale, che era ridotto del 20% nei topi MeCP2^{0/0}, e ristabiliscono la citoarchitettura degli strati corticali. Questi effetti macroscopici della Mirtazapina sono associati ad un completo recupero della normale struttura microscopica dei neuroni piramidali degli strati II e III. In particolare abbiamo riscontrato un recupero della grandezza del soma, del diametro dei dendriti apicali, dell'arborizzazione dei dendriti basali e della densità delle spine, che risultavano ridotti nei

topi MeCP2^{0/0}. Inoltre, il trattamento con Mirtazapina ha ristabilito la normale trasmissione eccitatoria (glutamatergica) e inibitoria (GABAergica) sia nella corteccia che nel midollo allungato dove risiedono i centri di controllo del respiro (Bittolo et al., 2016; Tabella 3). In conclusione, grazie ai suoi ridotti effetti collaterali e all'efficacia dimostrata nel modello animale della sindrome di Rett, la Mirtazapina si presenta come un ottimo candidato per il trattamento dei sintomi Rett, compresi i deficit respiratori e l'atrofia cerebrale, e merita di essere valutata in una sperimentazione clinica.

Tuttavia, per ottenere l'autorizzazione alla sperimentazione clinica di Mirtazapina nelle bambine Rett è necessario che siano soddisfatti i seguenti prerequisiti: 1) che sia dimostrata l'efficacia del trattamento anche nelle femmine di topo con mutazioni del gene MeCP2; 2) che si ottengano informazioni sul meccanismo attraverso cui Mirtazapina esercita i suoi effetti terapeutici nella sindrome di Rett.

Grazie al generoso contributo dell'Associazione AIRETT abbiamo intrapreso uno studio per raccogliere le informazioni necessarie a redigere un dossier per ottenere

Tabella 3. Risultati principali della sperimentazione animale di Mirtazapina condotta all'Università di Trieste

Nei topi MASCHI (Bittolo et al., 2016) 10-50mg/kg 15 gg a P28:

- **Effetti avversi:** sedazione a 50mg/kg
- **Buona tollerabilità** con parziale sedazione a 10mg/kg
- **Nessun miglioramento motorio**
- **Recupero completo** atrofia cerebrale (macro/micro)
- **Normalizzazione** ritmo respiratorio
- **Ripristino** correnti sinaptiche glutamato e GABA
- **Miglioramento** aberrazione del comportamento ansioso
- **Eliminazione** salti parossistici (crisi epilettiche?)

Nei topi FEMMINE (progetto AIRETT) 10mg/kg 30 gg a 5-6 mesi:

- **Effetti avversi:** sedazione e minor vitalità a 50mg/kg
- **Ottima tollerabilità:** nessun effetto avverso a 10mg/kg
- **Nessun miglioramento motorio**
- **Miglioramento** aberrazione del comportamento ansioso
- **Miglioramento** deficit nella costruzione del nido
- **ANALISI IN CORSO** su atrofia cerebrale (macro/micro)

l'autorizzazione ad un trial clinico di Fase 2 sull'efficacia della Mirtazapina nella sindrome Rett. In particolare, obiettivi specifici del progetto sono di: 1) verificare che nelle femmine eterozigoti MeCP2^{+/}, la Mirtazapina produca gli stessi effetti osservati nei maschi sul ripristino dell'atrofia neuronale; 2) identificare i recettori e le vie di segnale intra- ed extra-cellulari attraverso cui Mirtazapina esercita i suoi effetti benefici sull'atrofia neuronale nei topi MeCP2.

In un primo esperimento è stata testata nelle femmine di 5-6 mesi una dose di 50 mg/kg che corrisponde a 5 volte la dose massima somministrabile negli esseri umani ed abbiamo notato una forte sedazione ed una diminuzione dei parametri con cui si misura la qualità della vita degli animali (*phenotypic scoring*). Abbiamo quindi ripetuto l'analisi con animali della stessa età, cioè 5-6 mesi, utilizzando una dose di 10 mg/kg che corrisponde alla dose massima somministrabile negli esseri umani e in questo caso abbiamo visto che la dose era ben tollerata e non abbiamo registrato effetti avversi. Il trattamento per un mese, a giorni alterni, non ha dimostrato miglioramenti a livello motorio come peraltro già in parte osservato preliminarmente nello studio sui topi maschi MeCP2^{0/} (*Null*) (Bittolo et al., 2016). Tuttavia abbiamo potuto osservare un miglioramento significativo delle aberrazioni del comportamento ansioso, confermando il risultato positivo riscontrato nei topi maschi (Bittolo et al., 2016). Infine, abbiamo osservato che Mirtazapina migliora la capacità delle femmine di costruire il nido, un comportamento caratteristico dei topi che richiede sia abilità di coordinamento motorio delle zampe anteriori, sia capacità cognitive e senso spaziale. La sperimentazione non è ancora conclusa e proseguirà con l'analisi anatomica dei cervelli dei topi femmina trat-

tati per vedere se c'è stato un ripristino dell'atrofia cerebrale e una normalizzazione del fenotipo dei neuroni Glutammatergici e GABA-ergici.

Infine, dato che 6 mesi per un topo corrispondono circa a 35 anni per un essere umano, intendiamo ripetere il trattamento ad un'età dei topi corrispondente a circa 14-16 anni per gli umani, in modo da verificare se su un cervello più giovane Mirtazapina possa esplicare un maggiore effetto terapeutico.

Conclusioni.

Sebbene ancora non sia disponibile una cura per la sindrome di Rett, le ricerche degli ultimi anni hanno portato ad una migliore comprensione dei meccanismi patogenetici della sindrome di Rett

consentendo di individuare alcuni bersagli su cui indirizzare le terapie. Sono stati quindi identificati dei potenziali farmaci che agiscono su recettori diversi innescando a livello cellulare varie tipologie di effetti. Alcuni farmaci promuovono il ripristino di una neurotrasmissione bilanciata tra segnali eccitatori e inibitori, altri una più efficiente produzione di energia cellulare che minimizzi la produzione di scorie ossidative dannose per la cellula, ed infine altri farmaci sono capaci di innescare i segnali dei fattori neurotrofici protettivi per la cellula. Significativamente, in base ai dati disponibili in letteratura, Mirtazapina potrebbe essere in grado di produrre tutti questi effetti contemporaneamente ed è per questo che la nostra sperimentazione su Mirtazapina continua. ■

Letteratura citata (in ordine di comparsa nel testo)

Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A. Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science*. Jan 2007; 315(5815):1143-7.

Katz D, Bird A, Coenraads M, Gray SJ, Menon DU, Philpot DC, and Tarquinio DC. Rett Syndrome: Crossing the Threshold to Clinical Translation. *Trends Neurosci*. Feb 2016; 39(2): 100-113.

Szczesna K, de la Caridad O, Petazzi P, Soler M, Roa L, Saez MA, Fourcade S, Pujol A, Artuch-Iriberrri R, Molero-Luis M, Vidal A, Huertas D, Esteller M. Improvement of the Rett syndrome phenotype in a MeCP2 mouse model upon treatment with levodopa and a dopa-decarboxylase inhibitor. *Neuropsychopharmacology*. 2014 Nov;39(12):2846-56.

Nag N, Berger-Sweeney JE. Postnatal dietary choline supplementation alters behavior in a mouse model of Rett syndrome. *Neurobiol Dis*. 2007 May;26(2):473-80.

Leoncini S, De Felice C, Signorini C, Zollo G, Cortelazzo A, Durand T, Galano JM, Guerranti R, Rossi M, Ciccoli L, Hayek J. Cytokine Dysregulation in MECP2- and CDKL5-Related Rett Syndrome: Relationships with Aberrant Redox Homeostasis, Inflammation, and -3 PUFAs. *Oxid Med Cell Longev*. 2015;2015:421624.

Tang X, Kim J, Zhou L, Wengert E, Zhang L, Wu Z, Carroumeu C, Muotri AR, Marchetto MC, Gage FH, Chen G. KCC2 rescues functional deficits in human neurons derived from patients with Rett syndrome. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Jan 19;113(3):751-6.

Zoghbi HY, Percy AK, Glaze DG, Butler IJ, Riccardi VM. Reduction of biogenic amine levels in the Rett syndrome. *N Engl J Med*. 1985 Oct 10;313(15):921-4

Ide S, Itoh M, Goto Y. Defect in normal developmental increase of the brain biogenic amine concentrations in the mecp2-null mouse. *Neurosci Lett*. 2005 Sep 23;386(1):14-7.

Santos M, Summavielle T, Teixeira-Castro A, Silva-Fernandes A, Duarte-Silva S, Marques F, Martins L, Dierssen M, Oliveira P, Sousa N, Maciel P. Monoamine deficits in the brain of methyl-CpG binding protein 2 null mice suggest the involvement of the cerebral cortex in early stages of Rett syndrome. *Neuroscience*. 2010 Oct 13;170(2):453-67

Roux JC, Dura E, Moncla A, Mancini J, Villard L. Treatment with desipramine improves breathing and survival in a mouse model for Rett syndrome. *Eur J Neurosci*. 2007 Apr;25(7):1915-22.

Zanella S, Mebarek S, Lajard AM, Picard N, Dutschmann M, Hilaire G. Oral treatment with desipramine improves breathing and life span in Rett syndrome mouse model. *Respir Physiol Neurobiol*. 2008 Jan 1;160(1):116-21.

Pacher P, Kecskemeti V. Cardiovascular side effects of new antidepressants and antipsychotics: new drugs, old concerns? *Curr Pharm Des*. 2004;10(20):2463-75.

Cipriani A, Furukawa TA, Salanti G, Geddes JR, Higgins JP, Churchill R, Watanabe N, Nakagawa A, Omori IM, McGuire H, Tansella M, Barbui C. Comparative efficacy and acceptability of 12 new-generation antidepressants: a multiple-treatments meta-analysis. *Lancet*. 2009 Feb 28;373(9665):746-58.

Burrows GD, Kremer CM. Mirtazapine: clinical advantages in the treatment of depression. *J Clin Psychopharmacol*. 1997 Apr;17 Suppl 1:34S-39S.

Hartmann PM. Mirtazapine: a newer antidepressant. *Am Fam Physician*. 1999 Jan 1;59(1):159-61.

Bittolo T, Raminelli CA, Deiana C, Baj G, Vaghi V, Ferrazzo S, Bernareggi A, and Tongiorgi E. Pharmacological treatment with mirtazapine rescues cortical atrophy and respiratory deficits in MeCP2 null mice. *Sci. Rep*. 2016 6, Article number: 19796.

Katz DM, Berger-Sweeney JE, Eubanks JH, Justice MJ, Neul JL, Pozzo-Miller L, Blue ME, Christian D, Crawley JN, Giustetto M, Guy J, Howell CJ, Kron M, Nelson SB, Samaco RC, Schaeveitz LR, St Hillaire-Clarke C, Young JL, Zoghbi HY, Mamounas LA. Preclinical research in Rett syndrome: setting the foundation for translational success. *Dis Model Mech*. 2012 Nov;5(6):733-45.

La stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS): quali possibilità di impiego nella Sindrome di Rett?

Alberto Priori, Clinica Neurologica III Università degli Studi di Milano, Polo Ospedaliero San Paolo, Milano



La stimolazione transcranica a corrente diretta (tDCS) è una tecnica semplice e non invasiva per la stimolazione cerebrale che produce dei cambiamenti funzionali prolungati nella corteccia cerebrale e nel cervelletto.

La tecnica (Nitsche et al., 2008; Priori, 2003) consiste nell'applicazione sullo scalpo di elettrodi connessi ad un generatore a corrente continua, al di sotto dei 2 milli amper. Queste correnti, applicate per qualche minuto, generano un campo elettrico che modula l'attività neurale

La metodica può essere somministrata anche attraverso semplici caschetti o cuffia PRECABLATA.

Gli studi di Priori seguiti da quelli di ricercatori tedeschi, dimostrarono, alla fine del secolo scorso, che tale corrente poteva indurre nell'area cerebrale motoria delle modificazioni di eccitabilità che persistevano diversi minuti.

Tale tecnica cominciò quindi ad essere utilizzata in ambito di ricerca per analizzare la plasticità e l'eccitabilità cerebrale, e in ambito clinico nel campo di alcuni disordini neuropsichiatrici. La stimolazione con corrente continua e diretta, infatti, presenta numerose applicazioni sia su aree corticali motorie e non, sia su aree non corticali. Sono stati condotti esperimenti anche sul cervelletto. La rivista "Nature" nel 2009 dedica un articolo che riporta la possibilità di



Figura 1

modificare alcuni aspetti cognitivi, motorio e linguistici in un cervello normale.

La corrente prodotta dalla tDCS interviene non solo sui neuroni ma anche sulla glia, sui vasi, sulla barriera ematoencefalica e sulla neurogenesi, dunque sia su aspetti generativi che di differenziazione delle cellule staminali.

Campi di applicazione:

Tra i principali ambiti vi sono l'ambito linguistico, della cura per l'emigrania, della memoria, di terapia di malattie neurodegenerative, la cura della depressione e l'affiancamento alla farmacoterapia in età adulta. Non ci sono ancora linee guida per l'età pediatrica perché gli studi scientifici randomizzati sono ancora pochi.

In particolare viene utilizzata nelle seguenti situazioni:

- diminuzione di crisi epilettiche,
- controllo di disturbi cognitivi e comportamentali e di sintomi simil autistici,
- modulazione a lungo termine della glia,
- miglioramento dei fenomeni comparativi neuronali.

Pertanto è ipotizzabile che un'ap-

plicazione ripetuta potrebbe influire sul neurosviluppo e modificare patologie come la sindrome di Rett o l'autismo.

Dal punto di vista della sicurezza si sottolinea che:

- non ha nulla a che vedere con l'elettro shock!!!
- un effetto collaterale può consistere nell'arrossamento sotto l'elettrodo e poco bruciore,
- l'elettrodo non va messo su cute alterata.

Pertanto tale modica si caratterizza per sicurezza e basso costo.

Sono ancora in corso studi volti a quantificarne l'efficacia, alla definizione di specifici protocolli per l'applicazione e all'identificazione di criteri per la scelta dei pazienti.

Bibliografia

È stata consultata anche la tesi in ingegneria biomedica di Sara Morotti (Università di Bologna, AA 2015-2016) da cui è stata tratta la figura 1.

Il ruolo della proteina JNK nella sindrome di Rett: possibili strategie terapeutiche

Tiziana Borsello, Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari, Università degli Studi di Milano, IRCCS Mario Negri, Milano



In questa relazione sono stati presentati i dati ottenuti utilizzando due modelli murini affetti dalla sindrome di Rett: a) Topi MeCP2 J. & b) MecP2 Bird e c) modello umano di iPSCs differenziate in neuroni al quale è stato somministrato il peptide cellula-permeabile D-JNKI1.

Utilizzare due modelli murini è stato necessario sia per completare i risultati sperimentali fino ad oggi ottenuti (per ricapitolare il più possibile tutte le caratteristiche della malattia) che per rafforzare i dati incoraggianti fino ad oggi ottenuti e quindi svolgere ulteriori indagini al fine di rendere lo studio più significativo.

A) DATI OTTENUTI SULLE FEMMINE ETEROZIGOTI, FENOTIPO DELLA MALATTIA MENO AGGRESSIVO, SVOLTO IN COLLABORAZIONE CON PROF. M. GIUSTETTO.

Il trattamento e la valutazione dell'effetto del peptide D-JNKI1 mediante somministrazione in cronico per 3 mesi è stato valutato utilizzando studi comportamentali mirati a valutare la coordinazione motoria. Il trattamento in cronico con il peptide ha migliorato il deficit motorio e quindi la disfunzione delle spine dendritiche.

b) DATI OTTENUTI SUL MODELLO MECP2 BIRD. MASCHI KO-FENOTIPO DELLA MALATTIA PIÙ AGGRESSIVO

Questi risultati conferiscono **MAGGIOR RISALTO ALLE POTENZIA-**

LITÀ dell'effetto del peptide D-JNKI1.

In questo studio abbiamo valutato la sinaptopatologia nei maschi e la sua caratterizzazione. La valutazione dell'effetto di D-JNKI1 mediante trattamento in cronico è stata misurata prima monitorando i parametri di benessere degli animali. Il risultato più importante è che il peptide permette una migliore qualità di vita nei topi KO, gravemente affetti dalla patologia. Abbiamo inoltre valutato mediante studi comportamentali la coordinazione motoria, evidenziando come il trattamento migliori le performance motorie sia nel test open-field che nel test rotarod.

Inoltre, con l'analisi biochimica delle spine dendritiche, abbiamo dimostrato come il trattamento con D-JNKI1 normalizzi i recettori nella zona attiva dell'elemento postsinaptico. I dati biochimici sono in accordo con il recupero funzionale ottenuto. Tutto porta a dire che il trattamento è in grado di ridurre la patologia.

Infine, per aggiungere un valore traslazionale a questi studi nel modello animale, abbiamo usato un modello umano di iPSCs, conferendo ai dati ottenuti nei due modelli animali una valenza clinica alla nostra ricerca e aumentando così l'importanza di quanto fin qui fatto nella ricerca preclinica.

C) IPSCS DI CELLULE DERIVANTI DAI PAZIENTI UMANI.

Le iPSCs mutate e isogeniche (sani) sempre sul modello di mutazioni genetiche riscontrate su gene MeCP2 (iPSCs con delle

mutazioni non senso su MeCP2) vengono differenziate in neuroni per 60 giorni. Questo studio è stato svolto in collaborazione con la Prof. A. Renieri.

Abbiamo dimostrato come i cloni mutati di iPSCs differenziate in neuroni abbiano un aumento dell'attivazione di JNK, mentre i cloni isogenici non presentino tale attivazione. Questa è la prima volta che si delinea l'importanza della chinasi JNK nei pazienti umani, dimostrando così la bontà dei dati fin qui raccolti nei modelli murini sperimentali. I pazienti con mutazione hanno una forte attivazione di JNK e questo causa una morte in vitro delle neuron-like iPSCs mutati, mentre i cloni sani non mostrano attivazione alcuna. Questo modello ci offre innegabili vantaggi, come la possibilità di studiare gli effetti dei nuovi farmaci sperimentali anche sulle cellule umane dei pazienti affetti dalla sindrome di Rett. Infatti, abbiamo dimostrato che l'effetto del peptide in coltura previene l'attivazione di JNK e la morte neuronale. Pensiamo che sia un valore aggiunto molto importante per la progettazione di una sperimentazione clinica sulle bambine. Il peptide D-JNKI1 ha realistiche applicazioni terapeutiche ed è già utilizzato in studi clinici di fase III per altri trattamenti. Attualmente sono in corso altri esperimenti sulle iPSCs differenziate in neuroni per indagare ulteriormente i meccanismi che sottendono alla morte neuronale nella sindrome di Rett. ■

Apprendo e comunico con il Tobii: come un sistema puntamento oculare può migliorare la qualità della vita

I primi sviluppi del Progetto “Aiutiamo le bimbe dagli occhi belli” finanziato da Fondazione Vodafone

Rosa Angela Fabio ⁽¹⁾, Samantha Giannatiempo ⁽²⁾, Martina Semino ⁽²⁾, Tindara Capri ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Dipartimento di Scienze Cognitive, Università di Messina

⁽²⁾ Dipartimento di Psicologia, Università Cattolica, Milano - Centro di Apprendimento TICE



Il mese di novembre ha dato ufficialmente il via al Progetto “Le bimbe dagli occhi belli” finanziato da AIRETT e dalla fondazione VODAFONE che prevedeva la consegna di 30 sistemi di puntamento oculare a 30

bambine/ragazze di un range d'età compreso fra 3 e 15 anni e provenienti da tutta Italia, selezionate da una équipe di specialisti appartenenti a diverse università italiane e formati da anni nel lavoro con le bambine con Sindrome di Rett (SR). Le partecipanti sono state ammesse al progetto grazie alla presenza di alcuni requisiti fondamentali (ad es. l'aver svolto attività di potenziamento cognitivo negli ultimi due anni; l'aver avuto insegnanti formate attraverso il Corso On Line dedicato al Potenziamento Cognitivo e alla Comunicazione Aumentativa Alternativa (CAA) nell'ultimo biennio; la disponibilità degli insegnanti/terapisti a svolgere quotidianamente e a documentare con la raccolta dei dati tutto il lavoro svolto con la propria allieva; il poter comunicare solo ed unicamente con lo sguardo); nelle regioni in cui non erano presenti bimbe che avessero tutti i requisiti richiesti sono state ammesse al progetto anche alcune bambine piccole che avevano appena ricevuto la diagnosi e che non avevano ancora iniziato attività di potenziamento

cognitivo allo scopo di valutare se l'utilizzo di tali ausili potesse velocizzare il percorso di apprendimento.

Il Progetto si è avviato grazie ad una formazione intensiva di 3 giorni tenutasi a Rimini il 3, 4 e 5 novembre e conclusasi con una cerimonia ufficiale di consegna degli strumenti alle famiglie.

Alla formazione tenuta dalla Prof.ssa Fabio, docente ordinario dell'Università di Messina e dalla Dott.ssa Samantha Giannatiempo, Pedagogista presso il Centro di Apprendimento e Ricerca Tice, hanno partecipato tutti gli insegnanti/educatori/terapisti delle bambine coinvolte e i loro familiari. La formazione si è concentrata:

- sulle principali strategie di Potenziamento Cognitivo e di Comunicazione Aumentativa Alternativa;
- sull'articolazione del progetto stesso e la descrizione delle sue fasi;
- sugli aspetti tecnici di funzionamento dell'ausilio (ad opera degli Psicologi Dott. Alberto Gatti ed Andrea Bordignon della SRLABS);
- sulla descrizione del Software di Potenziamento Cognitivo creato appositamente per le bambine con questa Sindrome e che stiamo testando da anni anche su sistemi Touch Screen;
- sulla descrizione dell'Assessment di valutazione iniziale e dei relativi fogli di presa dati necessari al monitoraggio del percorso individuale di ogni bambina.

La formazione è stata quindi sia di tipo teorico che pratico in quanto ha

visto gli insegnanti/terapisti/educatori testare in prima persona l'ausilio e la modalità di lavoro. Successivamente a questo primo momento di formazione una équipe di supervisori dedicati al Progetto ha concordato con ogni insegnante un primo incontro di consulenza in vivo in ogni scuola/centro frequentato dalle partecipanti al fine di supportare gli insegnanti/terapisti in questa prima fase di avvio del Progetto.

L'obiettivo della ricerca è stato indagare nella SR la modificabilità dei parametri neuropsicologici a seguito del potenziamento cognitivo attraverso il Tobii. Il Tobii è un dispositivo portatile, simile a un laptop, dotato di raggi infrarossi, posizionati alla base dello schermo che consentono di leggere il movimento oculare e di decifrare le scelte dei soggetti in risposta agli stimoli cui di volta in volta vengono sottoposti (figura 1).



Il campione, come detto prima, era composto da 30 bambine/ragazze con SR di un range d'età compreso fra 3 e 15 anni, provenienti da tutta Italia.

Il piano della ricerca era strutturato come segue: una fase di assessment iniziale, una fase di training, e una fase di assessment multipli, tenuta ogni tre mesi, dei risultati ottenuti durante il training.

La fase di assessment iniziale ha previsto: la valutazione delle abilità di ogni bambina/ragazza allo scopo di individuare gli obiettivi specifici di Apprendimento e gli obiettivi Comunicativi per ognuna di loro concentrandosi sia su una valutazione sia dei prerequisiti di base (forme, colori, dimensioni, discriminazione delle immagini) che del livello più avanzato (lettura di parole, numeri, sillabe, discriminazione delle emozioni di base) prendendo inoltre nota del numero e dell'intensità delle stereotipie, del numero di fonemi e parole emesse spontaneamente e non e della capacità di ogni partecipante di avvicinarsi o meno ad un oggetto; la somministrazione di alcuni test volti alla valutazione delle abilità a lungo termine come le scale Vineland (Valutazione e misurazione del comportamento adattivo), la scala RARS (per la misurazione dell'intensità della gravità delle bambine con SR) e le matrici di Raven (test non verbale sul QI). Tali strumenti saranno nuovamente somministrati ogni 3 mesi (fase di assessment multipli) al fine di monitorare i progressi di ogni bambina ottenuti nella fase di training.

Successivamente alla fase di *assessment* ogni bambina a seconda del proprio livello di apprendimento ha iniziato la fase di training svolgendo da un minimo di 2 ad un massimo di 5 sedute settimanali di potenziamento cognitivo e CAA della durata di circa 1 ora. La fase di training ha previsto l'utilizzo dei 30 puntatori oculari, il Tobii I-Series, su cui è stato installato un software di CAA appositamente creato per i soggetti con Sindrome di Rett.

I risultati ottenuti hanno rilevato un miglioramento dei parametri considerati. Nello specifico, sono emersi effetti statisticamente significativi relativamente ai parametri: "Minuti di attenzione selettiva" e "Numero di interventi educativi", "Numero di scelte per settimana", rispettivamente $Z(28) = 8,11, p < .05$; $Z(28) =$

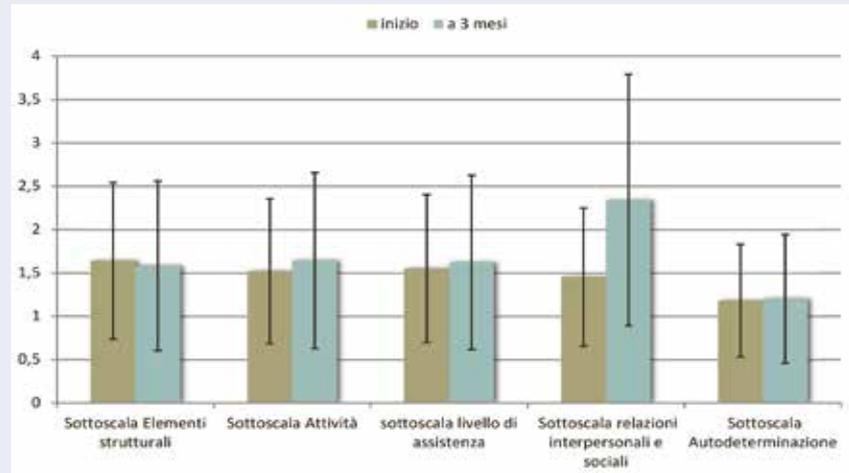


Grafico 1

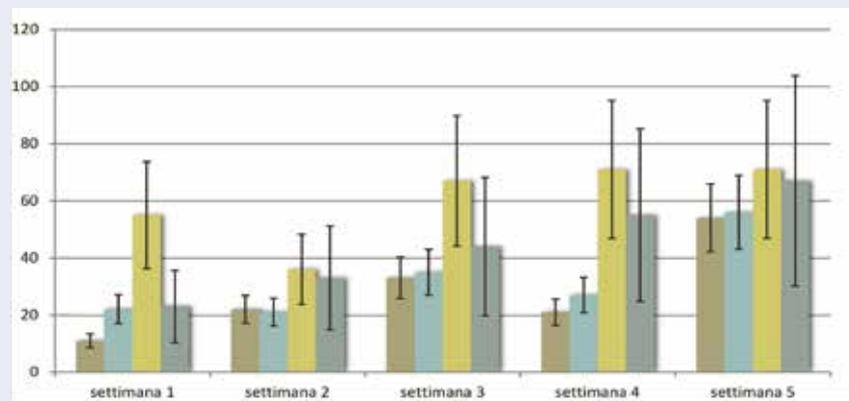


Grafico 2

$6,21, p < .05$; $Z(28) = 22,11, p < .05$. Per quanto concerne le variabili "tipologia e l'intensità delle stereotipie" non sono emersi risultati statisticamente significativi: $Z(28) = 1,01, N.S.$ Questo è un dato atteso tenuto conto delle caratteristiche della sindrome e che gli interventi di potenziamento cognitivo non erano finalizzati al contenimento delle stereotipie.

Relativamente ai risultati emersi dalla somministrazione dalle scale Vineland, RARS e dal questionario sulla qualità della vita (QQV), si evince un netto miglioramento nella sottoscala "Relazioni interpersonali e sociali" del QQV, mentre si evidenzia un trend stabile nelle scale RARS e Vineland. Probabilmente, il miglioramento ottenuto nell'area delle relazioni interpersonali e sociali è legato al fatto che l'utilizzo del Tobii, quale strumento innovativo e tecnologico, ha attirato l'attenzione dei compagni di classe delle bimbe tanto da aumentare le occasioni

di scambio e di interazione sociale (Grafico 1).

Inoltre, sono state misurate anche le capacità di riconoscimento di immagini e parole, la capacità di discriminazione e di riconoscimento di oggetti, colori e forme, e le capacità di lettura attraverso i parametri dell'eye-tracker. I risultati ottenuti hanno indicato un miglioramento significativo della performance nelle abilità suddette (Grafico 2).

In conclusione, questo studio supporta il ruolo del potenziamento cognitivo attraverso il Tobii nel favorire la modificabilità dei parametri neuropsicologici nella SR. ■

Riferimenti bibliografici

- Antonietti, A., Castelli, I., Marchetti, A., FABIO, R.A. (2000). La sindrome di rett: prospettive e strumenti per l'intervento, Carocci.
- Fabio, R.A., Pellegatta, B. (2005). Attività di potenziamento cognitivo: l'empowerment dei processi cognitivi: attenzione, ragionamento logico, memoria ed espressione (VOL. I). Trento, Erickson editore.

Sintesi del progetto “Io con te Posso volare”

Lotan Meir¹ e Alberto Romano²

¹ Università di Tel Aviv

² Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Centro Smart Onlus, Aire



Nell'ambito del progetto “Io con te posso volare”, finanziato da AIRett, tra il 2013 e il 2017 sono state valutate per gli aspetti riabilitativi motori 145 ragazze con sindrome di Rett

con un range d'età compreso tra 3 e 43 anni (media = 15,3± 9,5). Il progetto ha coinvolto 3 campus estivi (52 partecipanti) organizzati dall'associazione (anni 2013, 2014, 2016) e un progetto itinerante (93 partecipanti) volto a raggiungere le ragazze sul territorio di appartenenza (anni 2016, 2017). Le valutazioni sono state svolte dal professor Meir Lotan, tra i maggiori esperti nella riabilitazione motoria delle ragazze dagli occhi belli a livello internazionale, in collaborazione con i professionisti di AIRett.

Attraverso i 4 anni il progetto è evoluto in modo significativo nelle modalità in cui venivano proposte le indicazioni riabilitative alle famiglie, adattandosi alle criticità che venivano riscontrate di anno in anno.

Nel 2013 presso il campus estivo AIRett sono stati proposti dei programmi di attività riabilitativa individualizzati e progettati per essere inseriti nella quotidianità delle ragazze. I programmi prevedevano semplici esercizi mirati al raggiungimento di obiettivi riabilitativi specifici concordati con le famiglie e svolti dai genitori al domicilio su base giornaliera. Le attività pro-

poste prevedevano una durata di circa 1-2h/die non continuative. Lo svolgimento dei programmi veniva seguito a distanza da un fisioterapista specializzato che raccoglieva mensilmente un resoconto sulle attività svolte dalla bambina e sulla possibilità dei genitori di portare avanti il programma concordato. La principale criticità è stata rappresentata dalle problematiche organizzative delle famiglie che impedivano di portare avanti il programma proposto.

Così durante il campus AIRett 2014, in seguito alle valutazioni svolte, è stato redatto un report scritto contenente le caratteristiche degli aspetti riabilitativi motori. Sono stati forniti una serie di accorgimenti per i genitori da applicare durante la gestione giornaliera delle ragazze e i suggerimenti e le indicazioni per l'intervento riabilitativo svolto dai professionisti sul territorio. Tuttavia gli stessi operatori hanno riportato la difficoltà a replicare gli esercizi proposti nel report e richiesto la possibilità di osservare le valutazioni.

Durante il campus svolto nell'estate 2016 le valutazioni sono state filmate per l'intera durata. In questo modo è stato possibile restituire alle famiglie oltre al report scritto, creato con le stesse modalità del campus precedente, anche la registrazione integrale della valutazione. La condivisione del video e del report è avvenuta tramite e-mail. Le registrazioni sono state salvate online su un server dedicato e le famiglie vi potevano accedere cliccando su un link al-

legato alla mail. Lo stesso link poteva essere facilmente condiviso con gli operatori del territorio semplicemente attraverso procedura di copia/incolla. Soltanto chi era in possesso del link poteva accedere alle registrazioni. In sede di valutazione è stato fatto firmare un modulo di consenso al trattamento dei dati multimediali ai fini di ricerca e formazione. In questo modo il server contenente i video potrà essere utilizzato come database per raccogliere un gran numero di informazioni e strategie riabilitative. Rimaneva chiara la necessità di portare le conoscenze teorico/pratiche relative agli aspetti riabilitativi sul territorio italiano, a professionisti e famiglie.

Tra settembre 2016 e aprile 2017 è stato avviato un progetto di valutazione riabilitativa motoria itinerante che ha toccato 8 città in 8 diverse regioni: Veneto, Piemonte, Puglia, Lazio, Sicilia, Emilia-Romagna, Lombardia e Toscana. Il progetto ha interessato ragazze provenienti da tutto il territorio nazionale ed ha affiancato alle valutazioni riabilitative individualizzate un ciclo di seminari di formazione teorico-pratica gratuiti rivolti a terapisti e famiglie. I seminari avevano lo scopo di portare le conoscenze di base relative alla sindrome nei diversi territori e di offrire un approfondimento sulle strategie riabilitative di avanguardia. Anche in questo caso sono stati restituiti alle famiglie un report e la video-registrazione delle valutazioni con le modalità già descritte. Questa modalità è stata trovata come la più funzionale tra quelle descritte per fornire un servizio efficace di

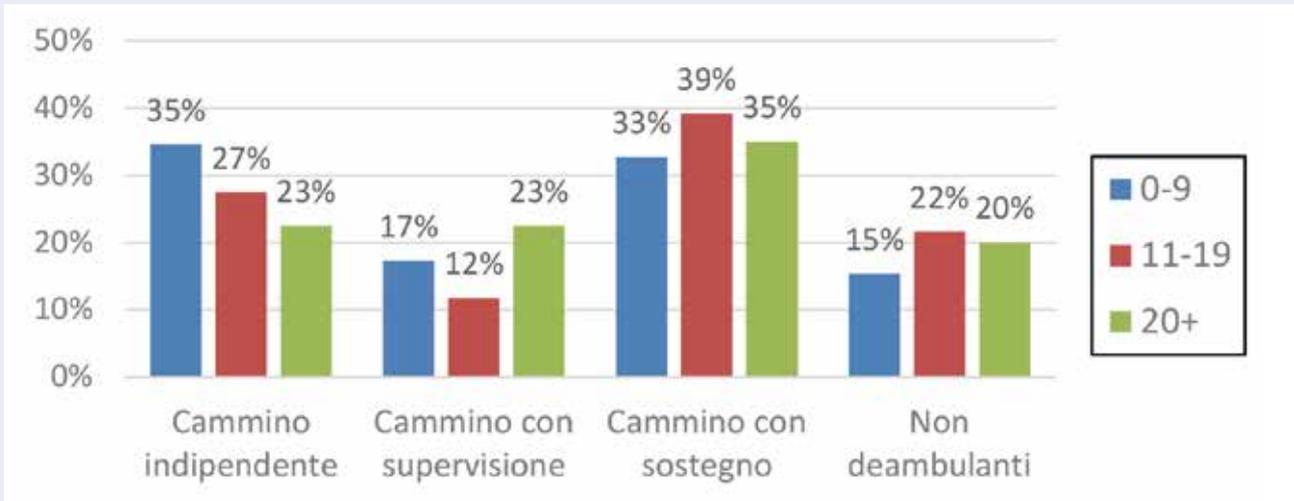


Figura 1. Abilità di cammino divise per età.

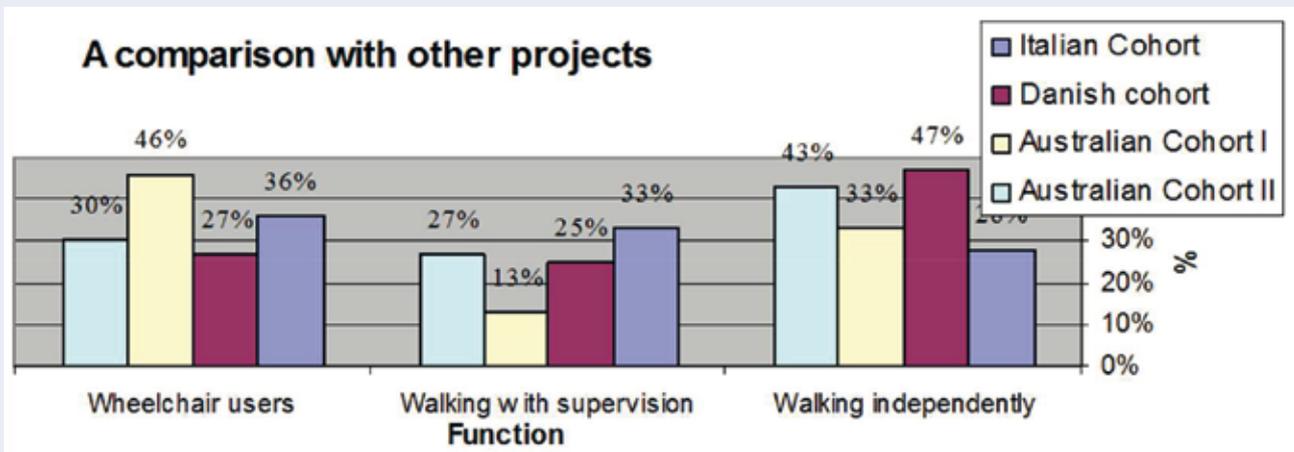


Figura 2. Abilità di cammino a confronto con popolazioni.

informazione e valutazione riabilitativa che apporti alle famiglie una chiara indicazione sulle migliori modalità di gestione quotidiana delle ragazze e ai professionisti un inquadramento di base della patologia e un approfondimento professionale sugli aspetti terapeutici. La prosecuzione del progetto “Io con te posso volare” è attualmente in fase di progettazione e strutturazione con l’intenzione di integrarlo con lo svolgimento di attività di ricerca in ambito riabilitativo.

Considerazioni e aspetti dell’approccio riabilitativo in un gruppo italiano di pazienti con sindrome di Rett

Tra le ragazze che hanno parteci-

pato al progetto “Io con te posso volare” al momento della valutazione 40 (28%) erano in grado di deambulare autonomamente, 23 (16%) potevano deambulare con supervisione (in modo indipendente, ma con un caregiver accanto che non forniva supporto), 50 (35%) potevano camminare con sostegno mono- o bi-laterale e 27 (19%) utilizzavano una sedia a rotelle. Le abilità di cammino riportate all’età sono riportate in Figura 1. Dal grafico si evince che la perdita del cammino autonomo o con supervisione avviene principalmente nella fascia d’età 11-19 anni e si stabilizza nel gruppo di età maggiore di 20 anni. Questo è coerente con la riduzione degli interventi riabilitativi che solitamente

coincide con l’adolescenza e con l’incremento della passività tipico di questa fase. Inoltre sembra che le ragazze che hanno mantenuto il cammino durante il periodo adolescenziale frequentemente lo mantengano anche nelle fasi successive. Ciò ci suggerisce la necessità di mantenere alto il livello di attività fisica delle ragazze (p.e. facendo una passeggiata ogni giorno con i familiari) anche in adolescenza nonostante sia più frequente e gradito uno stato di passività. La comparazione delle abilità di cammino mostrate dal gruppo italiano con quelle di altre coorti (danese e australiana) è riportata in Figura 2 e non mostra significative differenze tra le popolazioni.

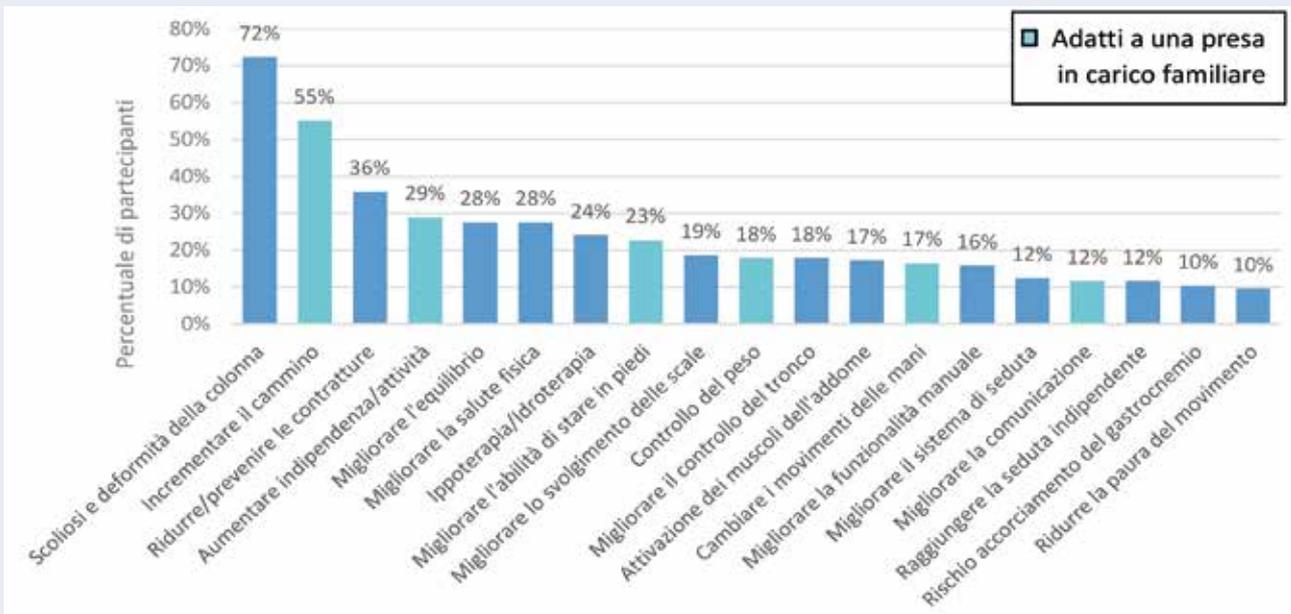


Figura 3. Principali problematiche e necessità terapeutico-riabilitative mostrate dalla coorte italiana. In azzurro gli elementi che possono essere presi in carico dai familiari presso il domicilio senza competenze riabilitative specifiche.

La Figura 3 mostra le principali problematiche e necessità di interesse terapeutico e riabilitativo mostrate dalle partecipanti riportate in percentuale. Sei quelle riportate (colorate in azzurro) possono essere facilmente prese in carico dai familiari senza necessità di competenze riabilitative specifiche, senza rischi per le ragazze e senza grandi impieghi di tempo. La possibilità dei famigliari di prendere in carico alcuni degli aspetti problematici delle ragazze è di particolare interesse riabilitativo in quanto permette di ottimizzare il tempo impiegato durante le sedute di terapia dedicandolo al trattamento di quegli aspetti di più complessa gestione. Rispetto agli elementi che possono essere seguiti dai familiari il terapeuta assume un ruolo di supervisione e consiglio monitorandone l'andamento del lavoro domestico e confrontandosi con la famiglia sulle modalità ottimali per portarlo avanti e inserirlo nella propria quotidianità. Nel suggerire di svolgere determinate attività a casa sembra indispensabile guidare un cambiamento di mentalità nella gestione delle ragazze rendendo efficaci

alcuni momenti già presenti nelle loro routine giornaliere, ma senza stravolgerle e senza richiedere un particolare sforzo dei familiari (p.e. facendo una passeggiata quotidiana, guardando una puntata del programma preferito in piedi anziché seduta, utilizzando lo strumento comunicativo compensativo in ogni momento, ecc.). Inoltre, le stesse strategie saranno poi facilmente condivisibili dagli stessi genitori, sempre con la supervisione del terapeuta, con tutti coloro che si occupano delle ragazze: insegnanti, educatori dei centri di riferimento e domiciliari, baby-sitter. In questo modo l'intervento riabilitativo di questi aspetti assume un'entità molto maggiore in termini di tempo di quello perseguibile dal solo terapeuta durante le sessioni di terapia che sono frequentemente limitate a poche ore a settimana se non completamente assenti. L'intervento riabilitativo viene così rafforzato e ne viene aumentata l'efficacia e la generalizzazione attraverso i contesti. Durante le valutazioni sono emerse diverse necessità per il sostegno alle famiglie che possono

essere uno spunto interessante per lo sviluppo di progetti futuri. In particolare sembra prioritario fornire un supporto che offra una guida nella gestione sanitaria delle ragazze e che si riferisca ad un elenco nazionale di professionisti che comprenda medici (NPI, fisiatra, neurologo, dietologo...) e terapisti (TNPEE, FKT, logopedista, musicoterapista, terapeuta comportamentale...) con formazione specifica sul trattamento della sindrome di Rett che possano fornire consulenze specialistiche indirizzando l'intervento svolto sul territorio. Altra necessità sembra essere quella di raccogliere informazioni e pareri (eventualmente piccole recensioni) dei familiari rispetto ai centri frequentati dalle ragazze in modo da costruire delle liste regionali di strutture sanitarie (CDD, CRS, RSD) di cui le famiglie abbiano avuto un'esperienza positiva. Infine, potrebbe essere di notevole utilità, in particolare per le nuove famiglie che affrontano la patologia, sfruttare le nuove tecnologie per creare un luogo virtuale di incontro tra familiari dove condividere problematiche, soluzioni ed esperienze. ■

I problemi funzionali dell'apparato gastroenterico: prevenzione, diagnosi e cura. Nutrizione ed integratori

Dott.ssa Sabrina Perazzoli
D.A.M.A., Ospedale di Circolo e Fondazione Macchi, Varese



La deglutizione è un evento piuttosto complesso, consta di varie fasi che necessitano essere ben

articolate tra loro e vede la partecipazione di varie strutture anatomiche, tra cui un breve canale chiamato faringe, che percorre un tratto comune al sistema digerente ed a quello respiratorio.

Il meccanismo della deglutizione ha lo scopo di incanalare il bolo nell'esofago ed impedirne l'ingresso nelle cavità nasali o nella trachea.

L'input per l'inizio della deglutizione è volontario, tuttavia dopo essere stato innescato con un meccanismo cosciente, l'intero processo prosegue in maniera autonoma. Quando la lingua spinge il bolo (o l'acqua o la saliva) contro le pareti posteriori della bocca, i recettori meccanici presenti nella cavità orale informano il sistema nervoso centrale, che modula la contrazione ed il rilasciamento della muscolatura della cavità orale, della faringe e dell'esofago. Il reclutamento o l'inibizione di questi muscoli ha lo scopo di escludere le vie respiratorie.

La spasticità, le malformazioni scheletriche, l'introito di liquidi, l'utilizzo di farmaci, l'epoca di insorgenza dei sintomi neurologici, sono alcuni dei fattori che concatenandosi tra loro, interferiscono con la qualità dell'attività deglutitoria.

La preparazione del bolo alimentare è condizionata da un buon controllo dell'attività muscolo scheletrica generale, implica una corretta gestione della saliva e dell'attività muscolare della lingua e dei pilastri posteriori del cavo orale e dei muscoli delle guance.

In caso di disturbi della masticazione, questa attività muscolare non risulta efficace e conseguentemente, non risultano efficaci la deglutizione e la gestione della saliva, pertanto la preparazione del bolo alimentare risulta difficoltosa e questo causa una riduzione della quota nutrizionale con un conseguente ulteriore peggioramento del controllo della motilità muscolo scheletrica generale.

La storia familiare e le abitudini alimentari (ovvero la dieta alimentare) e le modalità di assunzione degli alimenti (ossia i tempi di assunzione del cibo, la consistenza degli alimenti, eventuali presenza di "distrazioni") hanno anch'esse un ruolo altrettanto importante nella preparazione e nella gestione del bolo alimentare. L'attività peristaltica così come la coordinazione della motilità muscolo scheletrica generale sono influenzate anche dalle terapie anticomiali o neurolettiche.

Si crea quindi un circolo vizioso, nel quale a seguito di un rallentamento dell'attività peristaltica si manifestano problematiche cliniche legate sia al ritardato svuotamento gastrico (scialorrea, RGE)

sia al ritardato svuotamento intestinale (incremento della stipsi) con un incremento del rischio di accumulo di terapie farmacologiche e conseguente incremento dei disturbi neuromuscolari.

È importante prima di tutto predisporre delle strategie che migliorino i tempi di svuotamento gastrico e pertanto è importante somministrare il pasto in un luogo tranquillo e predisponendo un tempo adeguato, il pasto deve essere di piccolo volume, privilegiando cibi ricchi in carboidrati e proteine privilegiando una cottura veloce e "semplice" (meglio evitare intingoli e cibi grassi o alimenti acidi).

Altrettanto importanti sono le attenzioni da tenere dopo il pasto, ovvero è importante mantenere una posizione semiortostatica per almeno 90 minuti, evitando di far eseguire attività fisica (o fisioterapia) prima che siano trascorsi 120 minuti dal termine del pasto.

Gli approfondimenti clinici sono da eseguirsi se, nonostante tutte le attenzioni sovraindicate, si presentano sintomi quali nausea, eruttazioni, vomito, alitosi, scialorrea, tosse stizzosa soprattutto ai cambi posturali o dopo i pasti, rifiuto del cibo o subitanea interruzione dello stesso, risvegli notturni, pianto o irritabilità.

Per riuscire ad inquadrare più approfonditamente la problematica

sono solitamente necessari uno studio nutrizionale (comprensivo di approfondimenti ematochimici), una valutazione polispecialistica con uno specialista odontoiatra, dietista ed un deglutologo e spesso è utile valutare la risposta ad una terapia "ex-adiuvantibus" prima di predisporre l'effettuazione di indagini strumentali più approfondite che necessitano una sedazione farmacologica con assistenza anestesiológica.

I disturbi funzionali dell'apparato gastroenterico sono infatti come una combinazione variabile di sintomi gastrointestinali cronici o ricorrenti non spiegati da anomalie organiche, strutturali o biochimiche. I sintomi funzionali originano da tessuti con apparente normale anatomia e fisiologia senza evidenza di alcuna patologia organica, trattasi pertanto di una diagnosi di esclusione.

Alle frequenti problematiche che coinvolgono le alte vie digestive, altrettanto frequenti sono le problematiche funzionali che coinvolgono l'intestino e che possiamo schematicamente riassumere in:

- dolore addominale funzionale,
- stipsi funzionale,
- diarrea funzionale,
- areofagia,
- sindrome del colon irritabile o intestino irritabile.

Il *dolore addominale funzionale* è un disturbo cronico (ossia della durata di almeno 6 mesi) che interferisce notevolmente con la qualità di vita ed è responsabile di molti ricoveri d'urgenza.

I segnali d'allarme verso cui prestare attenzione sono le caratteristiche del dolore (dolore continuo e/o ingravescente), la durata (dolore che dura a lungo), irradiato al dorso o all'inguine, in particolare se il dolore è localizzato in fossa iliaca destra, se c'è stato un recente trauma addominale, se sono

presenti sintomi associati quale alvo chiuso a feci e gas, vomito (in particolare vomito biliare) e una prostrazione o un'importante sonnolenza dopo l'attacco doloroso e se è presente una temperatura differenziale.

La *stipsi funzionale* si presenta con stimoli persistenti di defecazione infrequente (meno di 3 volte alla settimana) o apparentemente incompleta (tenesmo). È un disturbo frequentissimo ad etiologia multifattoriale, soventemente sottostimato e per tale ragione non viene trattato adeguatamente. Spesso al sintomo è associata una reazione comportamentale non adeguata. Infatti soventemente al posto di rilasciare, lo sfintere anale esterno viene contratto con conseguente risalita di feci nell'ampolla rettale che si dilata e che quindi è causa di una riduzione dello stimolo alla defecazione. Il passaggio delle feci può essere inoltre avvertito come doloroso (soprattutto in caso di passaggio di scariche alvine troppo consistenti) e causare ragadi anali e/o emorroidi.

Una diagnosi tempestiva ed un trattamento individuale che tenga conto di differenti variabili (età, modalità di assunzione di cibi e liquidi, diete alimentari, terapie farmacologiche, familiarità, tipo di stipsi), possono far arrivare alla risoluzione del problema.

La *diarrea funzionale* è definita come una frequente emissione di feci aumentate di volume e poco formate accompagnate da un bisogno impellente di defecare.

Aerofagia è la presenza di almeno 2 dei seguenti criteri almeno una volta alla settimana per almeno 2 mesi prima della diagnosi: deglutizione d'aria e distensione addominale a causa dell'aria endoluminale con eruttazioni frequenti e/o meteorismo.

La *Sindrome del Colon Irritabile o Intestino Irritabile* è una sindrome caratterizzata da sintomi addomi-

nali ed alterazioni dell'alvo.

Per riuscire a trattare con successo le problematiche funzionali dell'apparato gastroenterico è importante personalizzare gli interventi (quindi non è indicato definire un trattamento "a priori"); in generale però ci sono dei principi generali di terapia che si possono schematicamente individuare con trattamenti atti a:

- accelerare il tempo di svuotamento gastrico; pertanto occorrerà intervenire sull'alimentazione consigliando una dieta varia, con alimenti facilmente assorbibili, non acidi e non fermentanti, fornita nelle adeguate quantità e nei modi, nei tempi e nelle consistenze corrette ed occasionalmente utilizzare dei farmaci procinetici,
- accelerare il transito intestinale; quindi incrementare l'introito di liquidi per bocca che andranno assunti preferibilmente tra un pasto ed un altro e proponendo farmaci lassativi (per periodi più o meno lunghi) evitando di utilizzare (se non in caso di urgenza e per brevi periodi) i prodotti irritanti la mucosa intestinale (prodotti contenenti Sali, preparati erboristici), cercando anche di stimolare lo sfintere anale esterno.

Per concludere, le patologie funzionali dell'apparato gastroenterico nella Sindrome di Rett non devono essere sottovalutate ed è importante che la sintomatologia (spesso sfumata o aspecifica) venga valutata quanto prima per riuscire a porre dei correttivi. Questi interventi correttivi infatti, se la patologia funzionale è iniziale, possono essere dei semplici accorgimenti dietetici o di modalità di somministrazione/assunzione del cibo ma possono migliorare in modo significativo la qualità di vita, rallentando la progressione della patologia. ■

Nutrizione e integratori nella sindrome di Rett

Tina Talarico
Servizio Dietetico - Asst-Settelaghi Varese

Nella Sindrome di Rett, come è noto dalla letteratura, si manifestano complicanze di tipo neurovegetativo che portano a manifesti disturbi di tipo gastroenterico con risvolti sul piano nutrizionale.

I disturbi nutrizionali più frequenti riguardano: difficoltà nella masticazione, disfagia, MRGE, scialorrea, vomito/rigurgito, stipsi/diarrea.

Questi disturbi possono condizionare il raggiungimento e/o mantenimento del peso corporeo ottimale, manifestando o un calo ponderale patologico (e se avviene durante l'accrescimento ne condiziona la crescita) o al contrario eccesso di peso.

La *difficoltà nella masticazione* comporta un allungamento dei tempi dedicati al pasto, pertanto si può ovviare proponendo pasti piccoli e frequenti, di consistenza morbida, cibi tritati e umidi, più facili da masticare e deglutire, evitare cibi secchi o croccanti.

La *disfagia* può essere causa di frequenti ab ingestis, condizione piuttosto pericolosa che può portare a polmoniti con esiti a volte sfavorevoli. Per contrastare questo problema è assolutamente necessario seguire indicazioni nutrizionali adeguate, meglio se personalizzate dopo aver effettuato test appositi effettuati da personale sanitario dedicato.

Fattore comune è astenersi da cibi a doppia consistenza (solidi e liquidi assunti contemporaneamente), evitare cibi con semi e filamenti, evitare di bere l'acqua e i liquidi non addensati (alcuni tollerano il tè, il succo di frutta, il latte), si possono utilizzare delle polveri per addensare questi liquidi (sono presenti in commercio).

Può essere utile deglutire con il capo flesso in avanti.

Sono da preferire cibi compatti, omogenei, senza grumi, (ottimi sono i purea, le creme, i budini, le

mousse, i passati densi di frutta, verdura o di carne).

La presenza di *MRGE* è causa frequente di tosse, vengono raccomandati cibi di facile digestione, poveri di grassi, preparati con cotture semplici, evitando cibi secchi, piccanti o speziati, alcool, menta, cioccolato, caffè, salse, brodo di carne, aglio e cipolla, agrumi, pomodoro.

Mantenere l'alvo regolato, riportare il peso in eccesso al peso forma.

Coricarsi non prima che siano trascorse 1-2 ore dall'ultimo pasto e dormire con il capo sollevato ad almeno 30°.

Il *meteorismo intestinale* può migliorare evitando cibi ricchi di fibra insolubile (come la crusca e i cibi integrali), cibi poco lievitati, gomme da masticare e bevande gassate.

Può dare beneficio ingerire cibi arricchiti in probiotici (latte, yogurt... con lactobacilli o bifidobatteri).



Alcuni dei medici presenti al Convegno Airett

Anche la presenza di intolleranze alimentari può dare meteorismo, oltre ad altri sintomi, si parla di intolleranza al lattosio o al glutine, diagnosticate con test validati.

Nella prima è sufficiente utilizzare latticini delattosati, oramai presenti in tutti i negozi al dettaglio, cibi privi di lattosio o presente solo in tracce (dipende dalla presenza residua di lattasi nell'intestino).

L'uso di bevande vegetali al posto del latte arricchite in calcio possono rappresentare un valido sostituto.

Nell'intolleranza al glutine vanno eliminati dalla propria dieta gli alimenti che lo contengono: segale, spelta, grano, kamut, avena, farro preferendo invece: riso, miglio, tapioca, amaranto, quinoa, soya, mais, grano saraceno, sorgo.

In presenza di *scialorrea*, data principalmente dalla difficoltà a deglutire la saliva, si consiglia inoltre di evitare i cibi che ne stimolano la secrezione, quindi i cibi piccanti, molto salati o molto zuccherini, speziati o affumicati.

Quando è presente *vomito o rigurgito* (hyper gag) è preferibile almeno inizialmente somministrare cibi poltacei dolci e tiepidi.

Per contrastare la *stipsi*, in genere funzionale, si consiglia di bere nella giusta quantità (liquidi addensati), consumare frutta come spuntino e verdura due volte al giorno.

Nelle fasi di *diarrea* invece si consiglia la fibra solubile (patate, carote, mela, banana), e la temporanea sospensione del lattosio. Evitare cibi e bevande troppo calde o troppo fredde.

Il modello di dieta raccomandato è quello mediterraneo, (PIRAMIDE DIETA MEDITERRANEA - INRAN 2009) che prevede un maggior consumo di carboidrati (55-60%), e minor consumo di proteine (15%) anche animali e grassi (30%) in particolare da latticini magri, semi

e olio extra vergine di oliva. Vanno ridotti i cibi ipercalorici come i dolci a meno di 2 volte alla settimana, i salumi a meno di 1 e la carne rossa a meno di 2.

Inoltre si incentiva l'attività fisica e il consumo di acqua.

Questo modello tuttavia va personalizzato tenendo conto delle indicazioni nutrizionali proposte dai LARN, dalla presenza di eventuali disturbi o patologie e se si è di fronte ad un soggetto sottopeso o in soprappeso.

La malnutrizione può essere presente sia nel sottopeso che nel soprappeso.

Si può diagnosticare con la rilevazione sia degli indici antropometrici (BMI) che degli indici bioumoriali e immunologici (tramite esami ematici).

Nel malnutrito sottopeso si consigliano pasti piccoli e frequenti, iperglucidici, ed eventualmente supplementi nutrizionali (AFMS).

Gli Alimenti a Fini Medici Speciali (AFMS) sono normati dal regol. UE n. 609/2013 e 2016/128, hanno caratteristiche diverse tali da poter essere consigliati anche in presenza di patologie metaboliche. Vi sono gli ONS (supplementi nutrizionali orali) liquidi o in forma di creme-dessert, questi ultimi adatti ai soggetti disfagici, miscele nutrizionali complete liquide o in polvere da infondere attraverso sondini (peg, sng, digiunostomie) con utilizzo di nutripompe (soprattutto in presenza di rigurgiti) e formule modulari che forniscono un solo principio nutritivo (solo proteine o solo carboidrati) o anche due (grassi e zuccheri). Gli AFMS sono erogabili dal SSN quasi completamente e tramite procedure definite, devono essere richiesti da un medico prescrittore.

In alcune realtà vengono ancora proposte diete artigianali frullate e infuse attraverso sng o stomie (peg) con schizzettone ma vi sono motivi validi per consigliare diete artificiali già pronte fornite dall'industria.

Quando non è possibile utilizzare l'apparato digerente (in presenza di stenosi, occlusioni..) o per impossibilità a praticare un accesso (stomie) per infondere i nutrienti si dovrà utilizzare la via parenterale, con accesso venoso periferico o centrale, in questo caso sono disponibili anche sacche preconfezionate che forniscono tutti i principi nutritivi indispensabili alla vita.

Quando è possibile è preferibile l'utilizzo della Nutrizione Enterale rispetto alla Parenterale per la minore probabilità di andare incontro a complicanze (settiche per es.).

Quando ci si espone poco al sole, è più facile incorrere a ipovitaminosi D con aumentato rischio di sviluppare osteomalacia nell'adulto e rachitismo durante la crescita. Pertanto è consigliabile prevedere l'esposizione quotidiana alla luce del sole anche per pochi minuti.

Dal punto di vista alimentare si consiglia di attuare una dieta a base di cibi ricchi in vit. D.

È altrettanto importante ingerire cibi ricchi in Calcio che insieme alla vit. D contribuiscono a mantenere sano l'apparato scheletrico.

Gli alimenti più ricchi in Calcio oltre ai latticini sono alcune verdure e soprattutto l'acqua minerale ad alto contenuto in questo minerale in quanto è contenuto nella forma chimica più assorbibile.

Vi sono sostanze presenti naturalmente in alcuni alimenti che ostacolano l'assorbimento del calcio se assunti contemporaneamente, sono i fitati, gli ossalati e i tannini.

Un'altra condizione riscontrabile in soggetti con S.Rett è il soprappeso, a causa di eccessiva assunzione di cibi ipercalorici e/o scarsa attività fisica.

In tal caso si consigliano pasti ipocalorici, a basso contenuto di zuccheri semplici, rispettando l'orario dei pasti, 3 più due spuntini, e inserire un programma di attività fisica settimanale, costante anche se blando e comunque compatibile con le disabilità presenti. ■

Problematiche respiratorie nella sindrome di Rett

Beatrice Chiarini Testa, UO Broncopneumologia, Ospedale Pediatrico Bambino Gesù, Roma



La sindrome di Rett è una malattia neurologica che colpisce prevalentemente il sesso femminile,

representando una delle più comuni cause di grave disabilità intellettuale femminile. L'incidenza stimata è di un caso ogni 10.000 bambine nate vive. La forma classica della malattia è caratterizzata da uno sviluppo apparentemente normale nei primi 6-18 mesi di vita, cui segue un rallentamento dello sviluppo e una regressione delle abilità psicofisiche, con riduzione della capacità di socializzare e comparsa di movimenti stereotipati, soprattutto delle mani. Alla malattia solitamente si associano altre manifestazioni che interessano altri apparati ed includono: difficoltà nella deambulazione e nei movimenti volontari, disturbi respiratori (alternanza di apnee e iperventilazione), costipazione ed estremità fredde. Esistono anche forme atipiche della sindrome di Rett, in cui i sintomi possono essere attenuati o più severi e si possono manifestare in tempi differenti rispetto alla forma classica

La disfunzione respiratoria sta assumendo un ruolo sempre più centrale nella patologia multisistemica della sindrome di Rett. Da quanto riportato nei vari studi internazionali la causa principale delle multiformi irregolarità respiratorie nella Rett è da attribuire a gravi disturbi di tipo neuro-autonomico del respiro o ad immaturità del tronco encefalico (Julu et al. 2008, Gallego 2012). Le apnee che si riscontrano frequentemente nelle pazienti sono state finora attribuite a fenomeni essenzialmen-

te "centrali" anche se negli ultimi anni, perlomeno nella forma classica della malattia, sono stati individuati nella sindrome altri meccanismi alla base della complessa disfunzione respiratoria quali ad esempio l'anomalia degli scambi respiratori polmonari e la presenza dello Stress Ossidativo (De Felice et al. 2014)

Tuttavia nella sindrome di Rett alla complessità della problematica respiratoria partecipano molti altri fattori co-protagonisti come ad esempio il reflusso gastro esofageo (disturbi della motilità gastro esofagea), la disfagia, la scoliosi e l'ipotonia muscolare che predispongono sia ad una condizione di danno parenchiamale che di insufficienza respiratoria cronica di tipo restrittivo.

Pertanto, in presenza di sintomi respiratori ricorrenti quali tosse, e persistenza di abbondanti secrezioni tracheo bronchiali è importante effettuare indagini volte ad escludere tutte le possibili cause di inalazione cronica.

Il reflusso gastroesofageo potrà essere indagato attraverso la pH impedenzometria e/o la scintigrafia gastrica, mentre per la disfagia esiste la possibilità di effettuare un vero e proprio studio della deglutizione attraverso un deglutidogramma o digerente prime vie, esofago-stomaco-duodeno, tenue seriato. Per questa indagine si utilizza un mezzo di contrasto che è un prodotto inerte e senza tossicità. Il pasto viene normalmente somministrato sotto controllo con raggi X (fluoroscopico o fluorografico). Questo esame serve a studiare l'aspetto dell'esofago, dello stomaco e delle anse intestinali valutando la loro forma e funzio-

ne e la progressione del mezzo di contrasto nel tratto gastrointestinale. È possibile rilevare quindi importanti informazioni riguardanti la funzione della deglutizione ed alcune anomalie che non sarebbero visibili alla radiologia tradizionale o all'ecografia, come ad esempio le malrotazioni o le stenosi.

Nella gestione delle problematiche respiratorie dei pazienti affetti da patologia cronica come nella sindrome di Rett rientrano le tecniche di fisioterapia respiratoria volte alla rimozione delle secrezioni bronchiali. Quest'ultime, se non adeguatamente rimosse dalla tosse o dai sistemi di clearance, tendono ad accumularsi dando origine ad addensamenti polmonari e conseguenti stati di ipossia che rappresentano una delle principali cause di ricovero in ambiente ospedaliero.

È quindi importante nell'elaborazione di un piano di cura non tralasciare un programma di fisioterapia respiratoria riguardante soprattutto le tecniche di disostruzione bronchiale, per ottimizzare le capacità spontanee delle pazienti.

Non esistendo attualmente cure per la Sindrome di Rett è fondamentale una diagnosi precoce di tutte le complicanze; è necessario che le pazienti e le loro famiglie vengano supportate da un team multidisciplinare rappresentato da neurologi, psicologi, dietisti, fisioterapisti, broncopneumologi, terapisti occupazionali, logopedisti etc., in grado di valorizzare le loro capacità residue e di mettere in atto un'efficace strategia terapeutica. ■

Infezioni urogenitali: prevenzione, diagnosi e cura

Patrizia Ponte

Responsabile Ambulatorio Ginecologia Infanzia e Adolescenza - Istituto G. Gaslini, Genova

Vulvovaginiti

Vulviti **Vulvovaginiti**

Iperemia vulvare e perineale con possibili lesioni da grattamento

Presenza di secrezioni che fuoriescono dall'introito vaginale e interessano tutto il canale

VULVO VAGINITI

infezioni **disbiosi**

- Stato patologico causato da uno o più specifici microorganismi
- Alterato equilibrio locale che può consentire la proliferazione di patogeni opportunisti in grado di generare malattia con riduzione delle difese dell'ospite (pH elevato)

DISTURBI DISFUNZIONALI URINARI E INTESTINALI

- Vescica iperattiva: urgenza, aumentata frequenza di minzioni al giorno, incontinenza da urgenza
- Minzione disfunzionale: ridotta frequenza delle minzioni, enuresi, nicturia, minzione differita
- Reflusso uretrovaginale: mutandine bagnate, infezioni vescico-uretrali (spesso associate a sovrappeso e sinechie), pollachiuria diurna (>8)

CAUSE DISBIOSI in DISABILITA' GRAVE

- 1) Ridotto controllo motorio, difficoltà deambulazione (utilizzo carrozzina)
- 2) Costipazione, ritenzione fecale alternata a incontinenza (utilizzo pannolone)
- 3) Ritenzione e incontinenza urinaria
- 4) cicli mestruali nelle puberi

- Il meccanismo dipende da frizione ripetuta con urina ed enzimi fecali irritanti e/o sangue mestruale, che determina una iperidratazione cutanea con maggiore permeabilità e conseguente aumento del pH ed un effetto irritante su mucosa vestibolare e vaginale.

- L'aumento pH crea un ambiente idoneo alla colonizzazione di batteri e funghi a cui possono seguire dermatiti e vulvovaginiti resistenti a terapie e che possono evolvere in dermatiti erosive e/o ulcere vulvari.

CORPI ESTRANEI

- Presenti nel 18% dei casi di perdite vaginali ricorrenti e soprattutto:
- Forme recidivanti dopo trattamento
- Riscontro di patogeni multipli in coltura
- Piccoli sanguinamenti e/o pus maleodorante
- Bimbe con disabilita' psichica

VAGINITI SPECIFICHE (infezioni provenienti da patogeni delle vie respiratorie)

- Streptococcus pyogenes
- Streptococcus pneumoniae
- Staphylococcus pneumoniae
- Haemofhylus influenzae
- Neisseria meningitidis

VAGINITI SPECIFICHE (infezioni provenienti da patogeni dell'apparato gastrointestinale)

- Streptococco Agalactiae
- Escherichia Coli
- Enterococcus Faecalis
- Klesbiella
- Proteus
- Candida Albicans e Glabrata

CANDIDA ALBICANS

- E' la piu' frequente causa di vulvovaginiti per chi fa uso di pannoloni, dopo terapia antibiotica, corticosteroidea o in situazioni di immunodepressione.
- I sintomi principali sono il prurito e la leucorrea bianca e consistente che la differenziano dalle altre vaginiti specifiche che hanno come sintomo principale il bruciore

DIAGNOSI

La diagnosi si fa con l'esame obiettivo e in alcuni casi con tampone vulvare e/o vaginale.
Considerando i limiti dell'esame, che coltiva sia batteri presunti patogeni, ma anche microorganismi della flora saprofitaria, i risultati vanno comunque letti alla luce della anamnesi e della sintomatologia clinica

TERAPIA

- Valutare e trattare situazione intestinale
- Suggestire prebiotici e probiotici, per os o vaginali
- Valutare e trattare situazione urinaria e minzionale
- Evitare uso improprio di antibiotici per bocca per rischio induzione resistenze
- Utilizzare terapie topiche

PREVENZIONE

- 1) Lavaggio accurato delle mani prima e dopo avere accudito la disabile
- 2) Sempre lavaggio accurato dopo ev.le bagno in piscina
- 3) Lavare spesso le mani della ragazza per evitare contaminazioni
(bocca/vagina/ano)
- 4) Adeguata igiene personale con frequenti cambi per evitare ristagni di urina e feci

PREVENZIONE

- 5) Biancheria sempre in cotone bianco, lavata con detersivi privi di profumi ed ammorbidenti
- 6) carta igienica non colorata né profumata
- 7) utilizzo di probiotici
- 8) evitare uso improprio di antibiotici per os privilegiando terapie topiche

Nutraceutica: quali possibili utilizzi?

Maria Pintaudi, Neuropsichiatra Infantile, Genova



L'utilizzo dei nutraceutici nella pratica clinica si sta diffondendo negli ultimi anni, anche a seguito

delle sempre più numerose evidenze scientifiche sull'efficacia di derivati erboristici e sostanze naturali. La parola *nutraceutico*, coniata nel 1989, racchiude le voci *nutriente* e *farmaceutico* e viene usata per de-

scrivere prodotti derivati da fonti alimentari ma con benefici per la salute che vanno oltre il valore nutritivo. I nutraceutici sono commercializzati come supplementi dietetici finalizzati alla prevenzione ed al contributo al trattamento di alcune patologie.

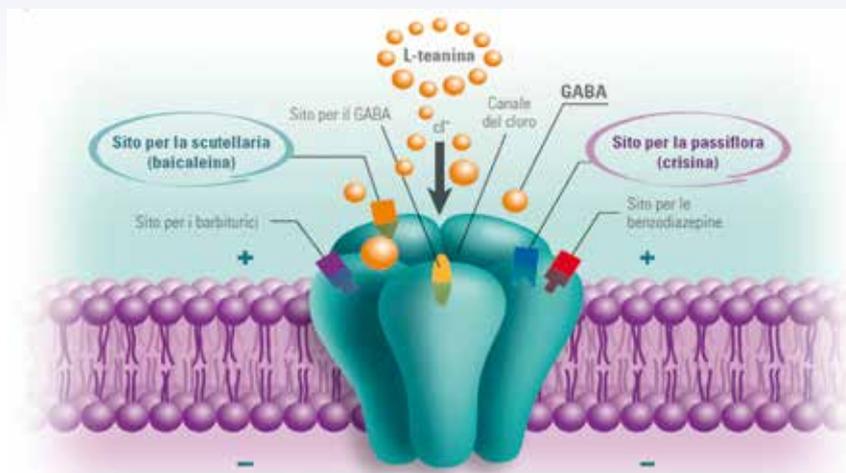
I principi attivi sono presenti in moltissimi ingredienti alimentari ad estratti vegetali. La manipolazione

di queste fonti naturali consente la contrazione e la veicolazione di dosi biologicamente attive. È fondamentale la qualità del nutraceutico, in particolare la purezza degli estratti e la concentrazione di principi attivi: i fattori ambientali e le metodiche di estrazione e di veicolazione influenzano la concentrazione e la biodisponibilità dei principi attivi contenuti nella pianta (Fig. 1).

Figura 1



Figura 2



I nutraceutici possono essere utilizzati come terapia iniziale in monoterapia in pazienti che rifiutano il farmaco o in cui si vuole/può adottare un approccio più soft oppure in add-on (in aggiunta) alla terapia farmacologica tradizionale per incrementarne l'efficacia clinica. Il miglior utilizzo è il modello integrato con terapie farmacologiche e non.

I principi attivi dei nutraceutici possono interferire con altri farmaci assunti. Pertanto se ne sconsiglia l'uso come automedicazione in assenza del parere del medico curante.

In ambito neuropsichiatrico i nutraceutici vengono utilizzati come risorse aggiuntive nella gestione di vari disturbi come, ad esempio, i disturbi d'ansia, depressivi, del sonno e cefalea.

Per i *disturbi d'ansia* si utilizza una composizione che sfrutta la stimolazione gabaergica avvalendosi della sinergia fra tre principi attivi:

- L-teanina che aumenta i livelli di GABA,
- la passiflora che agisce da agonista gabaergico simil BDZ,

- la scutellaria che esplica la sua azione sul recettore GABA-A su un sito non- benzodiazepinico ed antagonizza la GABA-transaminasi.

Vi sono anche composizioni utilizzate come risorse aggiuntive nella gestione dei *disturbi depressivi* caratterizzate da S-adenosyl methionine (SAME), l'Acido Folico e N-Acetil-Cisteina (NAC).

Per i *disturbi del sonno* si può utilizzare una composizione di melatonina, ormone naturalmente prodotto dalla ghiandola pineale che ha attività ipnoinducente e regolatrice del ritmo sonno-veglia, magnololo e metil-honokiolo che hanno dimostrato in diversi modelli un'attività sul sistema GABAergico analoga alle benzodiazepine e L-teanina.

Per alcuni *pazienti emicranici* può essere indicata la supplementazione con magnesio o con Triptofano e 5-HTP.

Nell'ambito della sindrome di Rett vi sono studi sull'utilizzo di alcu-

ne sostanze, come la creatina, la colina, l'acido folico, vitamina D. La maggior parte di questi studi, tuttavia, riguarda una casistica limitata di pazienti e i risultati non sono univoci.

Coorti più ampie di soggetti sono invece state indagate negli studi di valutazione dell'efficacia della supplementazione di omega 3 che negli ultimi anni sempre più spesso fanno parte del piano terapeutico delle pazienti.

Un'ulteriore possibile indicazione all'utilizzo dei nutraceutici nella sindrome di Rett riguarda i disturbi del sonno e l'agitazione psicomotoria.

Anche per la Sindrome di Rett i nutraceutici possono essere utilizzati come primo approccio terapeutico o in add-on alla terapia farmacologica tradizionale per incrementarne l'efficacia clinica.

La valutazione dell'opportunità di prescrivere un nutraceutico spetta al medico curante che indica la composizione più adeguata in base:

- alla conoscenza approfondita del quadro sintomatico della paziente,
- alla conoscenza delle interazioni con i farmaci,
- alla conoscenza dei potenziali benefici ma anche dei rischi,
- alla qualità della dieta.

Pertanto si ritiene che anche per le pazienti con Sindrome di Rett i nutraceutici possano trovare un'indicazione clinica. Tuttavia pur essendo "farmaci da banco" se ne sconsiglia la somministrazione in assenza del parere e prescrizione specifica del medico curante. ■

Bibliografia essenziale

Diapositive tratte dalla presentazione di FB HEALTH Corporate e dalla presentazione della Prof.ssa E. Veneselli al convegno "Nutraceutica in età evolutiva" tenutosi a Genova il 14.01.2017

Documenti tratti dal sito www.sinut.it - Società Italiana di Nutraceutica



Un momento della serata in onore delle nostre bimbe

Cannabinoidi: prospettive attuali ed esperienze effettuate

Dott.ssa Giulia Prato, UOC Neuropsichiatria Infantile, Istituto G. Gaslini, Università di Genova in collaborazione con Dott. Luca Manfredini, Centro di Riferimento Regionale Ligure di Terapia del Dolore e Cure Palliative Pediatriche, Istituto G. Gaslini, Genova



Le notizie riguardanti i cannabinoidi sono molte e di vario genere. Il nostro tentativo è quello di fare

luce sulla questione riportando le esperienze internazionali descritte in letteratura, alcuni sporadici casi di pazienti seguiti presso il nostro istituto e, infine, la nostra esperienza clinica in seguito all'emanazione della Delibera Regionale n° 271/2016 della Regione Liguria.

I cannabinoidi

I cannabinoidi si ricavano dalla pianta di *C. sativa* in cui vi sono circa 70 composti chimici. Due sono le principali molecole attive ad uso medico: tetra-idro-cannabinolo (THC), con effetti psicotropi, antalgici ed antiemetici e cannabidiolo (CBD, Figura 1) con proprietà miorelassanti e anticonvulsivanti.

I cannabinoidi sono stati storicamente utilizzati per trattare l'epilessia. Recentemente, l'interesse verso il composto non psicoattivo di cannabinoidi è stato nuovamente riaperto in merito all'utilizzo di terapie add-on nelle encefalopatie epilettiche, come Lennox-Gastaut e spasmi infantili (Vezyroglou 2016). Già in passato studi pre-clinici avevano dimostrato l'efficacia anticonvulsivante dei cannabinoidi in vivo ed in vitro. (Devinsky 2014).

L'utilizzo terapeutico privilegia la via orale. L'assorbimento per tale via è indicativamente pari al 25-30% rispetto alla via inalatoria, con distribuzione in tutto l'organismo; la trasformazione avviene a livello del fegato, mentre l'eliminazione avviene con



Un momento del Convegno

le urine (dove ne sono riscontrabili tracce anche dopo diverse settimane dall'ultima assunzione).

Il decreto del 9 Novembre 2015 individua in Italia le aree da destinare alla coltivazione di piante di cannabis medica per la produzione delle relative sostanze e preparazioni di origine vegetale e la superficie dei terreni su cui la coltivazione è autorizzata e regolamentata per la produzione ad uso terapeutico.

L'utilizzo medico della cannabis riguarda: l'analgesia nella spasticità associata a dolore resistente alle terapie convenzionali e nel dolore cronico, in particolare neurogeno; il rilassamento muscolare; l'effetto antichinetosico ed antiemetico nella nausea e nel vomito da chemio-radioterapie, anche se, come abbiamo già detto, in letteratura si

possono trovare gli impieghi più diversi.

Il primo farmaco approvato è stato il Sativex, spray oromucosale contenente sia THC che CBD, prescrivibile per il controllo della spasticità nei pazienti affetti da Sclerosi Multipla, resistenti o con scarsa tolleranza ad altri trattamenti disponibili.

Sono inoltre reperibili altri preparati con concentrazioni standardizzate dei principi attivi, tra cui il Bediol, contenete 6% THC e almeno l'8% di CBD.

Trials internazionali

Recentemente sono stati pubblicati alcuni articoli su riviste internazionali riguardanti trial cosiddetti "open label" (un trial in cui sia i ricercatori sia i pazienti conoscono cosa si sta somministrando al paziente stesso)

riguardanti l'utilizzo dei cannabinoidi in diverse patologie.

Uno studio pubblicato su Lancet Neurology nel 2016 ha raccolto l'esperienza di 214 pazienti con encefalopatie epilettiche (tra cui 8 pazienti con mutazione CDKL5) trattati con Epidiolex, cercando di valutare l'efficacia e la sicurezza e la tolleranza del cannabinoide (un composto contenente CBD) e l'efficacia sulle crisi epilettiche.

Il dosaggio iniziale è stato per tutti i pazienti dai 2-5 mg/kg aumentato gradualmente fino al dosaggio di 25/50 mg/kg. Il follow-up considerato è di 12 settimane.

I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi: un gruppo in cui si è valutato la sicurezza e la tolleranza, ed un gruppo in cui è stata valutata la sola efficacia.

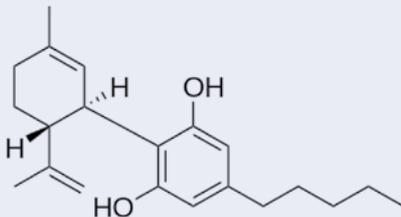


Figura 1. CBD, uno dei metaboliti attivi della *C. Sativa*.

Il risultato osservato è stata la riduzione delle crisi epilettiche di un terzo a fronte del 79% di effetti avversi (sonnolenza, alvo diarroico, astenia). Per quanto riguarda gli effetti avversi, si discute su quali siano realmente correlati con il farmaco. In alcuni pazienti, infatti, è stato riscontrato un aumento delle transaminasi, dovuto verosimilmente alle restanti terapie antiepilettiche (acido valproico); in altri è stata riscontrata sonnolenza, verosimilmente dovuta all'aumento del metabolita del clobazam (n-desmetilclobazam) (Devinsky 2016).

Un altro lavoro, pubblicato su Epilepsy and Behavior nel 2017, ha verificato l'efficacia del CBD in pazienti con sindrome di Dravet (O'Connel 2017) riportando i dati dello studio preliminare, fase 3. I pazienti arruolati sono stati 120, tutti con epilessia farmacoresistente e politerapie antiepilettiche e sono stati suddivisi in un braccio con placebo ed un braccio con il farmaco. Ognuno ha ricevuto un dosaggio di CBD di 20mg/kg/die. La mediana della riduzione delle crisi è stata del 39% rispetto al braccio del placebo 13%.

Esperienze pregresse

Nel nostro istituto abbiamo seguito pazienti che hanno assunto, in passato e non sotto stretta sorveglianza medica, cannabinoidi in diverse formulazioni (Epidiolex, Bediol, Bedrolite). Alcuni hanno sospeso il farmaco per effetti avversi dovuti probabilmente al concomitante utilizzo di Clobazam (che come abbiamo detto può indurre un aumento di sonnolenza), altri hanno sospeso il farmaco per mancanza di efficacia, ma utilizzando dosaggi che adesso sappiamo essere non sufficienti.

Una paziente in particolare, affetta da mutazione KCNQ2, ha avuto notevole beneficio dalla terapia con cannabinoidi. Ha assunto CBD fino al dosaggio di 10 mg/kg/die con notevole miglioramento sul piano EEG con riduzione dell'attività parossistica (Figura 2,3), miglioramento comportamentale e miglioramento sul ritmo sonno-veglia. Purtroppo il CBD è stato sospeso a causa della eccessiva sonnolenza. Adesso si sa che tale effetto avverso potrebbe essere correlato con il metabolita del clobazam, che la paziente

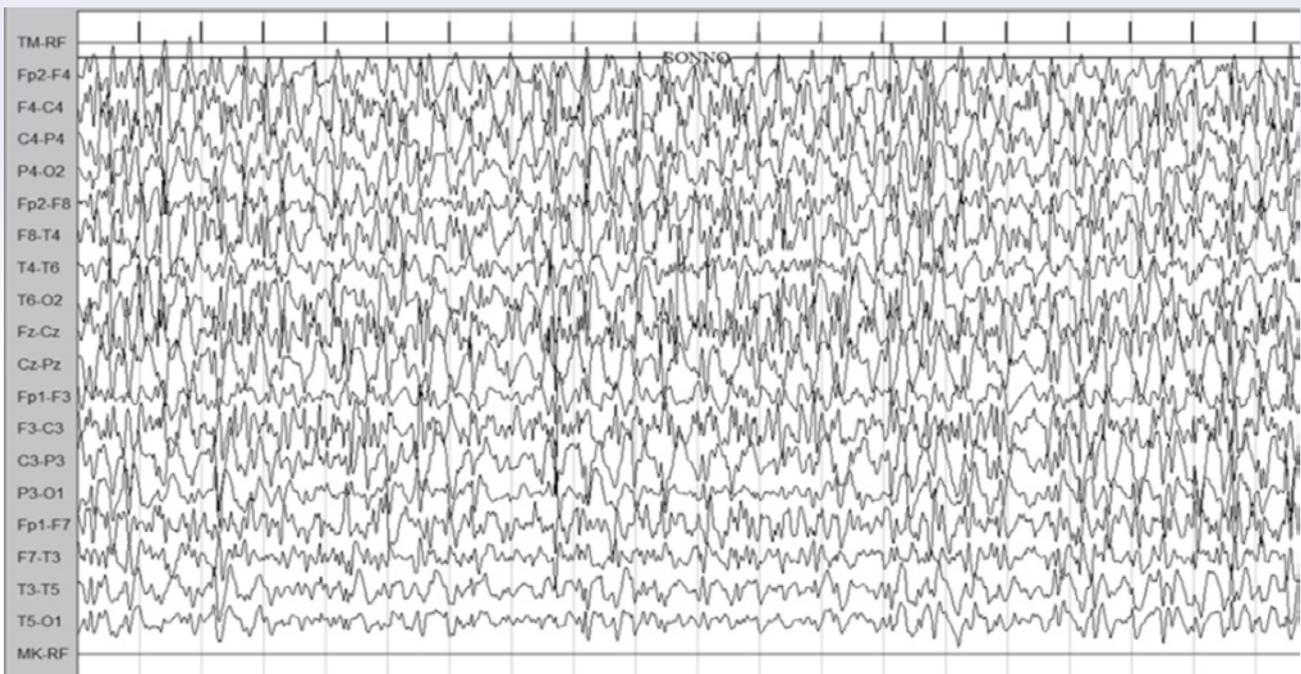


Figura 2. EEG con attività parossistica continua a prevalenza sull'emisfero di destra.

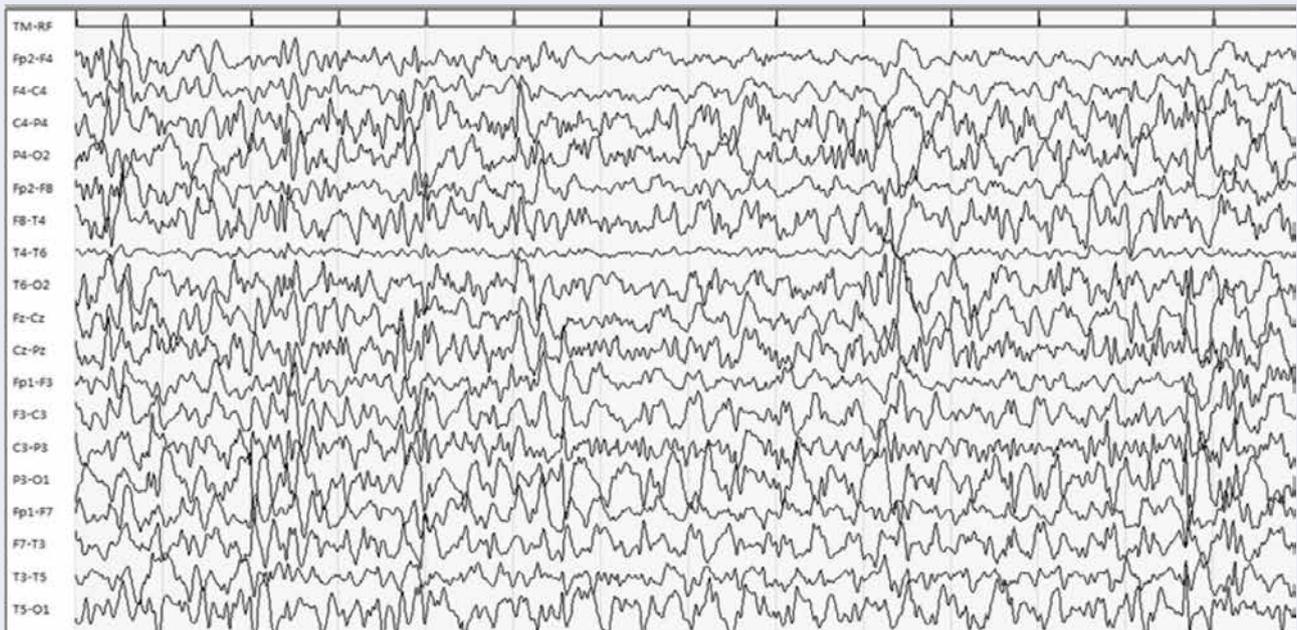


Figura 3. EEG della stessa paziente dopo tre mesi dall'assunzione di CBD: si osserva netto miglioramento dell'attività parossistica.

assumeva in concomitanza con i cannabinoidi.

Un'altra paziente, con mutazione CDKL5 ha mostrato un beneficio clinico sull'EEG e sul comportamento, non riportando effetti avversi seri.

Questi sono però solo isolati case reports; il problema è che fino ad oggi non esistono studi controllati e randomizzati, sui cannabinoidi e che, di conseguenza, è difficile esprimere giudizi nonostante i promettenti risultati ottenuti fino ad oggi.

Esperienza clinica in seguito alla Delibera Regionale n° 271/2016

Nel nostro istituto, grazie alle leggi regionali della Liguria n. 26/2012 e n. 28/2013, alla Delibera Regionale n. 271/2016, in collaborazione e su iniziativa del Team per la terapia del dolore, abbiamo avviato l'uso terapeutico del Bediol attualmente in pazienti liguri di età inferiore a 25 anni, affetti da:

- encefalopatie epilettiche e/o encefalopatie con epilessia, farmacoresistenti;
- patologie neurologiche o neuromuscolari con spasticità/distonia

e dolore muscolare ad essa secondario;

- patologie neurologiche o degenerative con dolore cronico refrattario alle terapie farmacologiche in commercio.

La metodologia prevede il ricovero, dopo una valutazione dal personale medico e la compilazione di un consenso informato. Una prima somministrazione con un dosaggio iniziale basso con successivo incremento della dose adattato in base all'efficacia e tollerabilità di ogni singolo paziente. Nello stesso ricovero vengono eseguiti prelievi per la valutazione e lo studio della farmacocinetica del farmaco, per avere dati obiettivi di riscontro.

Ad oggi abbiamo iniziato questa esperienza con 4 pazienti con range di età dai 3 ai 18 anni, 4

femmine, tra cui una bambina con Sindrome di Rett correlata a mutazione di MECP2. Nella nostra esperienza, dai primi risultati possiamo effettuare alcuni rilievi: i cannabinoidi possono essere una terapia utile, efficace e sicura per varie affezioni neurologiche complesse, con indicazioni ben precise; per ottenere successo e sicurezza con l'uso di queste sostanze occorre un Team dedicato/esperto (neuropsichiatra, terapeuta del dolore/palliativista, fisiatra, fisioterapista, infermiere, ecc.) che ne segua la somministrazione attentamente e in modo individuale e che sia disponibile ad effettuare il successivo monitoraggio.

Insomma, cannabinoidi sì, ma con dosaggi identificati individualmente sotto stretto controllo medico specialistico esperto. ■

Bibliografia

Vezyroglou K, Cross JH. Targeted Treatment in Childhood Epilepsy Syndromes. *CurrTreat Options Neurol.* 2016 Jun;18(6):29
 Devinsky O, Cilio MR, Cross H, et al. Cannabidiol: pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuropsychiatric disorders. *Epilepsia.* 2014;55:791-802
 Devinsky O, Marsh E, Friedman D, Thiele E, Laux L, Sullivan J, Miller I, Flamini R, Wilfong A, Filloux F, Wong M, Tilton N, Bruno P, Bluvstein J, Hedlund J, Kamens R, Maclean J, Nangia S, Singhal NS, Wilson CA, Patel A, Cilio MR. Cannabidiol in patients with treatment-resistant epilepsy: an open-label interventional trial. *Lancet Neurol.* 2016 Mar;15(3):270-8
 O'Connell BK, Gloss D, Devinsky O. Cannabinoids in treatment-resistant epilepsy: A review. *Epilepsy Behav.* 2017 May;70(Pt B):341-348

Terapia con CBD: esempio di sicurezza ed efficacia in 2 casi di encefalopatia epilettica CDKL5-correlata

Giacomini T¹, Prato G¹, Gagliardini G¹, Uccella S¹, Meola I¹, Cordani R¹, Gherzi M¹, Mancardi MM¹, De Grandis E¹, Barabino P³, Iurilli V³, Manfredini L², Veneselli E¹

¹ U.O. e Cattedra di Neuropsichiatria Infantile, Istituto G. Gaslini, Università di Genova

² Centro di Riferimento Regionale di Terapia del Dolore e Cure Palliative Pediatriche, Istituto G. Gaslini

³ U.O. Farmacia, Istituto G. Gaslini

Le mutazioni sul gene x-linked CDKL5 sono una nota causa di encefalopatia epilettica ad esordio precoce e di gravi quadri neurologici. Le principali caratteristiche cliniche sono l'esordio di crisi epilettiche entro i 4 mesi di vita, la presenza di microcefalia secondaria e di grave ritardo psicomotorio e del linguaggio, spesso si associano stereotipie motorie delle mani. Il ritardo psicomotorio, accompagnato da scarso aggancio visivo e difficoltà di nutrizione, possono precedere l'esordio dell'epilessia. La patologia è molto rara nei maschi che presentano un quadro clinico più grave delle femmine. Per la somiglianza delle caratteristiche cliniche con le pazienti affette da mutazioni MECP2, spesso viene definita come variante precoce della sindrome di Rett o Rett atipica. Nelle forme più gravi di CDKL5 le caratteristiche tipiche della sindrome di Rett sono mancanti. Nella Sindrome di Rett classica le crisi epilettiche raramente esordiscono prima dei 3 anni, mentre nelle forme correlate a CDKL5 e, in minor misura, nelle forme congenite correlate a MECP2, le crisi compaiono tra i primi giorni di vita e il quarto mese frequentemente con spasmi infantili. Alcuni pazienti vanno incontro ad una remissione delle crisi epilettiche dopo i 3 anni di vita, i restanti continuano a presentare spasmi refrattari alle terapie antiepilettiche, crisi multifocali e miocloniche. In un recente studio di Muller et al. è stato visto come difficilmente i

farmaci antiepilettici siano efficaci a lungo termine in questi pazienti che spesso presentano un'epilessia resistente ai tradizionali trattamenti inclusi la dieta chetogenica e i boli di terapia steroidea.

I fitocannabinoidi sono circa 70 composti chimici presenti nella pianta di *C. sativa*, di cui due sono le principali molecole attive: il **tetra-idro-cannabinolo (THC)** che ha effetti psicotropi ed analgici e il **cannabidiolo (CBD)** con proprietà miorilassanti e anticonvulsivanti. L'assorbimento per via orale è pari al 25-30% rispetto alla via inalatoria, le sostanze si distribuiscono in tutto l'organismo e la trasformazione ha sede a livello del fegato nel metabolita biologicamente attivo (11-OH-THC), l'eliminazione avviene attraverso le urine (dove ne sono riscontrabili tracce anche dopo diverse settimane dall'ultima assunzione). L'azione del THC è sui recettori cannabinoidi CB1 (SNC) e CB2 con **effetti sistemici** cardiovascolari, polmonari, neuro-cognitivi, muscolo-scheletrici, oculari. Gli impieghi di cannabis ad uso medico sono numerosi e riguardano in particolare: l'**analgesia** nella spasticità associata a dolore resistente alle terapie convenzionali e nel dolore cronico, in particolare neurogeno, il **rilassamento muscolare** nella S. di Tourette, l'effetto antichinetico ed antiemetico nella nausea e nel vomito da chemio-radioterapie, l'effetto stimolante dell'appetito nei casi di cachessia ed anoressia,

l'effetto ipotensivo nel glaucoma; dagli studi presenti in letteratura si aggiungono inoltre proprietà **antidepressive, anticonvulsivanti** e di **induzione e regolazione del sonno**.

Il CBD ha mostrato effetti anticonvulsivanti sia negli esperimenti effettuati in vitro che in vivo; l'effetto neuroprotettivo del CBD è stato anch'esso confermato da studi in vitro. Gli studi open label svolti fino ad ora sull'uso di CBD ne supportano sicurezza ed efficacia in molte forme di epilessia farmacoresistenti tra cui quelle associate a sclerosi tuberosa, FIRES, epilessia focale, sindrome di Sturge-Weber ed altre. L'efficacia del THC rimane invece ancora oggetto di studio.

Nella nostra Unità Operativa abbiamo avuto la possibilità di seguire due bambini con epilessia farmacoresistente CDKL5 correlata che hanno presentato beneficio dalla terapia con cannabinoidi.

Il primo caso è una bambina di 10 anni con encefalopatia epilettica CDKL5 correlata, tetraparesi spastico-distonica e grave disabilità intellettiva. Ha presentato esordio degli episodi critici ad un mese di vita con crisi toniche a frequenza pluriquotidiana. Negli anni sono stati effettuati numerosi tentativi terapeutici con scarso beneficio e persistenza di crisi polimorfe pluriquotidiane. In particolare sono stati somministrati: vigabatrin, topiramato, carbamazepina, cicli di ACTH e idrocortisone (nel primo anno di

vita, sospesi per comparsa di effetti collaterali), lamotrigina, clobazam, acetazolamide, nitrazepam, clonazepam, fenobarbital, dieta chetogenica, rufinamide. All'età di 4 anni è stata posta diagnosi genetica di mutazione de novo sul gene CDKL5 in eterozigosi (c.879dupG) presso la NYU MC di New York e la Columbia University. Nello stesso periodo negli Stati Uniti ha avviato terapia con felbamato con beneficio e riduzione della frequenza delle crisi epilettiche, successivamente è stato reintrodotta clobazam in add on, dapprima con lieve beneficio, poi con ritorno a crisi a grappoli, settimanali, con fluttuazioni. Dall'estate 2014 avviato CBD (inizialmente Bediol che contiene anche quantità ridotte di THC, poi ha cambiato formulazione passando a Bedrolite contenente unicamente CBD al 9,9%) con graduale aumento posologico fino ad arrivare al dosaggio di 20 mg/kg/die: la terapia è ben tollerata e ha indotto riduzione della spasticità e della frequenza delle crisi, che si presentano a grappolo solo in corrispondenza di episodi infettivi o di stress; si è rilevato un marcato beneficio elettroclinico ed è stato possibile ridurre la posologia dei farmaci antiepilettici in uso.

Il secondo caso è quello di un ragazzino di 12 anni con encefalo-

patia epilettica CDKL5 correlata, tetraparesi spastico-distonica, grave disabilità intellettiva, portatore di gastrostomia per nutrizione enterale dai 10 anni di vita. Ha presentato esordio di episodi critici all'età di 20 giorni con cianosi ed ipertono ai 4 arti e dai 3 mesi comparsa di spasmi, per cui era stato somministrato un ciclo di ACTH ed avviata terapia con vigabatrin, senza beneficio. In seguito ha sviluppato una forma di epilessia farmaco-resistente con crisi pluriquotidiane polimorfe; sono stati somministrati numerosi farmaci tra cui: acido valproico, clonazepam, lamotrigina, levetiracetam, lacosamide, topiramato, tutti sospesi per scarsa efficacia. Nella prima valutazione presso la nostra Unità Operativa nel 2015, è stato eseguito pannello next generation sequencing per encefalopatie epilettiche con riscontro di una mutazione de novo sul gene CDKL5 (p.Ser557fs). È stata proposta alla madre terapia con CBD, avviata poi con la formulazione Bedrolite fino al dosaggio di 20 mg/kg/die, con riferita buona tolleranza in assenza di effetti collaterali. Il ragazzo ha assunto la terapia per alcuni mesi con marcato beneficio: graduale scomparsa degli episodi critici (in precedenza crisi toniche a frequenza settimanale), riduzione della spasticità, miglioramento del-

la disfagia e riduzione della stipsi. La terapia è stata sospesa lo scorso autunno per trasferimento del medico prescrittore e conseguenti difficoltà di approvvigionamento, con peggioramento della spasticità e della frequenza delle crisi epilettiche. All'ultimo contatto la famiglia, che ha rilevanti difficoltà a spostarsi, ha individuato un nuovo medico prescrittore locale e ha quindi in programma riavvio di tale trattamento.

La terapia con CBD si è dimostrata sicura ed efficace nella riduzione in frequenza degli episodi critici anche negli studi open label effettuati fino ad ora in pazienti con epilessie farmaco-resistenti. L'efficacia e la tollerabilità del THC isolato o in associazione al CBD sono tuttora oggetto di studio. Considerata l'attuale diffusione ed il crescente utilizzo di preparati a base di fitocannabinoidi in questo tipo di patologie, si ritengono necessari ulteriori studi osservazionali e trial randomizzati controllati su numeri più rilevanti di pazienti per meglio comprenderne i profili di efficacia, le interazioni con gli altri farmaci antiepilettici ed il corretto utilizzo. ■

Bibliografia essenziale

1 Cannabinoids in treatment-resistant epilepsy: A review. O'Connell BK, Gloss D, Devinsky O. *Epilepsy Behav.* 2017 Feb 8. pii: S1525-5050(16)30625-4.

2 Cannabidiol as a new treatment for drug-resistant epilepsy in tuberous sclerosis complex. Hess EJ, Moody KA, Geffrey AL, Pollack SF, Skirvin LA, Bruno PL, Paolini JL, Thiele EA. *Epilepsia.* 2016 Oct;57(10):1617-1624.

3 Cannabidiol: State of the art and new challenges for therapeutic applications. Pisanti S, Malfitano AM, Ciaglia E, Lamberti A, Ranieri R, Cuomo G, Abate M, Faggiana G, Proto MC, Fiore D, Laezza C, Bifulco M. *Pharmacol Ther.* 2017 Feb 22. pii: S0163-7258(17)30065-7.

4 The current status of artisanal cannabis for the treatment of epilepsy in the United States. Sulak D, Saneto R, Goldstein B. *Epilepsy Behav.* 2017 Feb 18. pii: S1525-5050(16)30477-2

5 Retrospective evaluation of low long-term efficacy of antiepileptic drugs and ketogenic diet in 39 patients with CDKL5-related epilepsy. Müller A, Helbig I, Jansen C, Bast T, Guerrini R, Jähn J, Muhle H, Auvin S, Korenke GC, Philip S, Keimer R, Striano P, Wolf NI, Püst B, Thiels Ch, Fogarasi A, Waltz S, Kurlmann G, Kovacevic-Preradovic T, Ceulemans B, Schmitt B, Philipp H, Tarquinio D, Buerki S, von Stülpnagel C, Kluger G. *Eur J Paediatr Neurol.* 2016 Jan;20(1):147-51.



Un momento del workshop nella sessione parallela del Convegno

La cannabis e i cannabinoidi: l'uso terapeutico e indicazioni

Formulazioni, meccanismi di azione, esperienze

Nicola Specchio
Dipartimento di Neuroscienze, Ospedale Pediatrico Bambino, IRCCS, Roma



Peramporan
 Elicarbazepina
 Etigabina
 Lacosamide
 Rufinamide
 Pregabalin
 Oxcarbazepina
 Topiramato
 Gabapentin
 Felbamato
 Lamotrigina
 Zonisamide
 Vigabatrin
 Topiramato
 Carbamazepina
 Etosuccinimide
 Benzodiazepine
 Fenitoina
 Fenobarbitale
 Bromuro

farmaco-resistenti

30%

Expert Opinion on Investigational Drugs

Investigational new drugs for focal epilepsy

Le ultime tre generazioni di FAE sono concentrati sostanzialmente sugli stessi obiettivi neurobiologici: i canali ionici voltaggio-dipendenti, modulazione diretta di neurotrasmissione GABAergica e glutamatergica

Progress report on new antiepileptic drugs: A summary of the Twelfth Eilat Conference (EILAT XII)

- 6 molecole in fase preclinica
- 12 molecole in fase clinica (fase I/II/III)
 - CBD
 - Cannabidivarina

Si punta non solo a farmaci con diverso target ma anche a capire epilettogenesi

Definizioni

Cannabis

- canapa da cui deriva marijuana

Marijuana

- le foglie secche, fiori, steli e semi dalla pianta della canapa

Cannabinoidi

- sostanze chimiche che interagiscono con i recettori specifici situati all'interno di diverse parti del sistema nervoso centrale

Cannabis

Genere di piante angiosperme della famiglia delle Cannabaceae. Si distinguono tre specie:

- C. sativa (> THC)
- C. indica (> CBD/THC)
- C. ruderalis

Cannabis Sativa:

Pianta che contiene più di 100 composti chimici chiamati fitocannabinoidi, i più abbondanti dei quali sono:

- Delta-9 tetraidrocannabinolo (THC) composto psicoattivo
- Cannabidiolo (CBD) composto non psicoattivo
- Cannabidivarina

Cannabinoidi

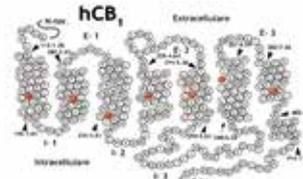
Ogni composto che ha la capacità di interagire con i recettori cannabinoidi

- 1. Endocannabinoidi** si identifica una classe di messaggeri lipidici endogeni
Gli endocannabinoidi più abbondanti:
 - N-arachidonoiletanolamide (anandamide, AEA)
 - 2-arachidonoilglicerolo (2-AG)
- 2. Naturali:** fitocannabinoidi
- 3. Sintetici**

Recettori cannabinoidi

due tipi di recettori cannabinoidi:

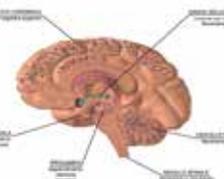
- CB1 [1990 Matsuda et al.1990, Gerard et al. 1991]
- CB2 [1993 Munro et al. 1993, Griffin et al. 2000]



Recettori cannabinoidi

CB1:

- Cervelletto, gangli della base, striato e substantia nigra
- Corteccia
- Ippocampo, amigdala,
- Organi e tessuti periferici tra cui ghiandole endocrine, salivari, leucociti, milza, cuore apparato riproduttivo urinario e GI



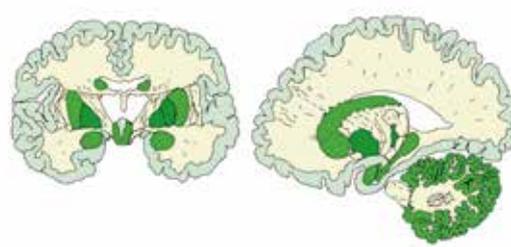
CB2:

- A livello periferico: nelle cellule immunocompetenti tra cui i leucociti, la milza e le tonsille, il midollo osseo emopoietico ma anche nel pancreas.

Recettori cannabinoidi

The therapeutic potential of cannabis **Review**

David Baker, Gareth Pryor, Gavin Giovannoni, and Alan J Thompson
Lancet Neurology 2003; 2: 291-98



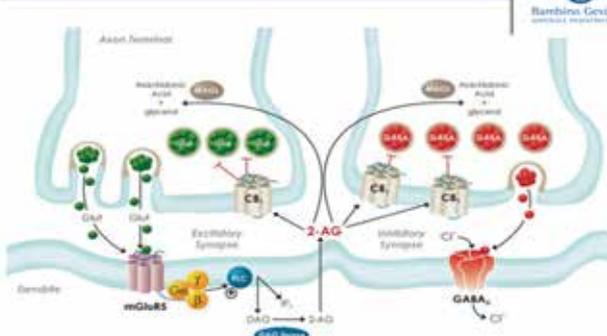
Il sistema endocannabinoide

In base alla localizzazione dei recettori, è stato ipotizzato che il sistema endocannabinoide sia coinvolto in un gran numero di processi fisiologici:

1. controllo motorio,
2. la memoria e l'apprendimento,
3. la percezione del dolore,
4. la regolazione dell'equilibrio energetico e comportamenti come l'assunzione di cibo
5. alle funzioni endocrine,
6. alle risposte vascolari,
7. alla modulazione del sistema immunitario,
8. alla neuroprotezione



Il sistema endocannabinoide



Imperatore cinese Fu Hsi: 2900 ac

Nel 19 secolo ac: casi aneddotici



Equilibrio fra yin e yang: perfetto equilibrio



Uso cannabis




- Dolori mestruali
- Gotta
- Reumatismi
- Malaria
- Beri beri
- Dolore

William Brooke O'Shaughnessy

le virtù terapeutiche della pianta accantarono fama e diffusione in occidente.

1839: Egli defini la cannabis "...il perfetto rimedio anticonvulsivo..." per le sue qualità analgesiche e rilassanti.

Dal 1842 iniziò a raccomandarla presso medici e farmacisti inglesi, e ben presto anche negli USA venne prescritta in numerose malattie.

Perfino il medico della Regina Vittoria la usava regolarmente per la sua paziente, e preparazioni a base di cannabis si potevano acquistare regolarmente nei drug stores.




Russell Reynolds e William Gower

Cannabinoids: Pharmacology and potential therapeutic role in epilepsy and other neuro-psychiatric disorders

Nel 19° secolo: casi aneddotici



In Europa la cannabis arriva probabilmente 2500 anni fa e viene usata sulla base di ricette derivate dalla tradizione e dalla medicina popolare;

tra il 1840 e il 1900 vengono pubblicati in Europa e negli USA più di 100 articoli sugli usi medici della cannabis come potente narcotico, analgesico, sonnifero, per il trattamento delle convulsioni, la corea, l'isteria, la depressione mentale, la pazzia, la dismenorrea e la menorragia.



All'inizio del novecento l'uso della cannabis conosce una sempre maggiore diffusione, compare nelle farmacie europee ed americane e viene inserito nella farmacopea ufficiale;

nel 1937 la cannabis viene inserita, negli USA, nella lista degli stupefacenti e il suo uso, anche a scopo terapeutico, diventa illegale. Di conseguenza, l'utilizzo della cannabis come farmaco crolla notevolmente anche in Europa, e le pubblicazioni scientifiche dedicate all'argomento scompaiono quasi del tutto nei decenni successivi.



THC vs CBD

CBD	THC
<p>Isolato nel 1963</p> <p>Il più abbondante dei cannabinoidi, (40%)</p> <p>Non sembra di legarsi a uno CB1 o CB2, ma interagisce con i canali ionici, enzimi e altri recettori</p> <p>Inibisce cicloossigenasi e lipossigenasi - con effetti anti-infiammatori e analgesici</p> <p>Diversi studi hanno dimostrato che diminuisce l'attività psicotropa di THC</p> <p>Può aumentare l'attività dei cannabinoidi endogeni, l'anandamide</p> <p>Può avere un effetto anti-ansia</p>	<p>Isolato nel 1964</p> <p>agonista parziale sia CB1 e CB2 ma agisce anche sui recettori non-CB</p> <p>Possibile proconvulsivante</p> <p>effetti deleteri sullo sviluppo del cervello e la cognizione</p>

Baron EP, Headache, June 2015

Epilepsy & Behavior

Pharmacology of cannabinoids in the treatment of epilepsy

Tab: S. Ganesan, Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics

- **TrpV1:** recettore canale che appartiene alla superfamiglia dei TRP ion channel (transient receptor potential)
- **VGCC:** T-type voltage gated calcium channels
- **VGSC:** voltage gated sodium channel
- **Recettori serotonina:** 5-HT1A and 5-HT2A
- **GPR55:** G-coupled protein receptor protein 55
- **modulazione recettori adenosina (A1 and A2)**
- **VDAC1:** (receptors voltage-dependent anion-selective channel protein1)





Formulazioni

Cannabinoide and Epilepsy

1. Epidiolex (99% CBD derivato dalla C. sativa)
2. CBD sintetico Chandler USA
3. Transdermal CBD gel USA
4. Altri composti che si possono comprare online

The slide includes a screenshot of a research paper titled 'CANNABIDIOL ORAL SOLUTIONS' and a flowchart showing the chemical structure of CBD.

Perché i genitori usano la cannabis ?

- casi aneddotici di bambini trattati con successo con la cannabis medica (arricchiti di CBD)
- attenzione di internet e dei media nazionali
- la convinzione che i trattamenti derivati da prodotti naturali sono più sicuri o più efficace e potenzialmente pericolosa

Cilio MR et al. Epilepsia. 2014; 55 (6): 787-790

Charlotte

- Charlotte è una bambina del Colorado con la sindrome di Dravet
- frequenti crisi febbrili e afebrili e stati epilettici
- farmacoresistenza: levetiracetam, oxcarbazepina, topiramato, zonisamide, valproato, clobazam, clonazepam, e diazepam
- a 5 anni di età, presentava notevole ritardo cognitivo e motorio
- 50 crisi tonico-cloniche generalizzate al giorno

http://www.cnn.com/2013/06/01/health/charlotte-child-medical-marijuana/

Charlotte

- utilizzo di una formulazione con elevato rapporto di CBD / THC

I genitori hanno cominciato a dare a Charlotte basse dosi di un estratto vegetale aumentando lentamente la dose nel tempo

a 3 mesi: riduzione > 90% in crisi tonico-cloniche generalizzate; sospesi gli altri farmaci antiepilettici

a 20 mesi: 2-3 crisi generalizzate notturne, si alimenta da sola, riduzione dei comportamenti autistici

http://www.cnn.com/2013/06/01/health/charlotte-child-medical-marijuana/

I dati sperimentali su modelli animali indicano chiaramente l'efficacia del CBD in termini di riduzione delle crisi

L' evidenza clinica dei Cannabinoidi in Epilessia:

1. Case report
2. Sondaggi
3. Studi epidemiologici
4. Trials clinici

Image of cannabis leaves.

Survey cannabis arricchita di CBD

Report of a parent survey of cannabidiol-enriched cannabis use in pediatric treatment-resistant epilepsy

Popolazione

- Età: 2 - 38 anni
- Tipo di crisi
- Sindrome di Dravet: 13
- Sindrome di Doose: 4
- Sindrome di Lennox-Gastaut: 1
- Epilessie idiopatiche early-onset: 1
- In malattia, senza FAE
- Frequenza crisi pre-CBD: da 2/settimana a 250/die

Risultati

- 16/19 (84%) riportavano una riduzione della frequenza delle crisi
- 2/16 riportavano libertà da crisi
- 8/16 riportavano una riduzione delle crisi > 80 %
- 3/16 riportavano una riduzione delle crisi > 50 %
- 12/19 sospensione degli altri FAE

Altri effetti:

- Miglioramento dell'umore (15/19, 79%)
- Aumento della vigilanza (14/19, 74%)
- Miglioramento sonno (13/19, 68%)
- Sonnolenza (7/19, 37%)
- Stanchezza (3/19, 16%)

Survey cannabis arricchita di CBD

- Impossibile verificare:
 - Dose
 - Risposta
- I genitori hanno un interesse a utilizzare il CBD per le crisi dei loro figli → risultati positivi
- Forniscono un profilo di effetti collaterali favorevole con potenziali benefici anche sul cognitivo

Porter BE et al. Epilepsy Behav. 2013; 29(3):516-517

Cannabidiol in patients with treatment-resistant epilepsy: an open-label interventional trial

Orin Devinsky*, Eric Marsh*, Daniel Friedman*, Elizabeth Thiele, Linda Laux, Joseph Sullivan, Ian Miller, Robert Flaminio, Angus Wilfong, Francis Filbin, Matthew Wang, Nicole Tibbo, Patricia Burns, Judith Bluvstein, Julie Hedlund, Rebecca Kamens, Jane Maclean, Srihari Nangia, Nikita Shah Singhal, Carey A Wilson, Anup Patel, Maria Roberto Cillo

Lancet Neurol 2016; 15: 220-28

Obiettivo:

- Studio prospettico, in aperto
- verificare la sicurezza, la tollerabilità e l'efficacia del CBD come terapia aggiuntiva ai farmaci anti-epilettici convenzionali in bambini e nei giovani adulti con epilessia farmacoresistente

Limiti:

Parental reporting of response to oral cannabis extracts for treatment of refractory epilepsy

Craig A. Press, Kelly G. Knapp, Kevin E. Chagnac*

Epilepsy & Behavior 45 (2015) 49-52

Bambini che avevano ottenuto una riduzione delle crisi del 50 %

- 22 % nella famiglie del Colorado
- 47 % nella famiglie non del Colorado

Limiti:

- CBD è un potente inibitore di CYP3A4 e CYP2C19
- Inibisce metabolismo del Clobazam (60 % clobazam, 500 % del Nd-clobazam)

70 pazienti del gruppo di efficacia assumevano Clobazam

67 pazienti del gruppo di efficacia non assumevano Clobazam

36 (51 %) → riduzione del 50 % o più delle crisi motorie

18 (27 %) → riduzione del 50 % o più delle crisi motorie

Aumentando le concentrazioni clobazam è altamente probabile avere un effetto sulla frequenza delle crisi !!

35 studi – Sindrome di Dravet

- Antiepileptic Efficacy Study of GWP42003-P in Children and Young Adults With Dravet Syndrome (GWPCARE1)
- GWPCARE2 A Study to Investigate the Efficacy and Safety of Cannabidiol (GWP42003-P) in Children and Young Adults With Dravet Syndrome
- A Dose-ranging Pharmacokinetics and Safety Study of GWP42003-P in Children With Dravet Syndrome (GWPCARE1)
- A Study to Investigate the Efficacy and Safety of Cannabidiol (GWP42003-P; CBD) as Adjunctive Treatment for Seizures Associated With Lennox-Gastaut Syndrome in Children and Adults (GWPCARE3)

GW pharmaceuticals

Title Trial: A randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group, exploratory dose-range finding study to investigate the safety and efficacy of cannabidiol (GWP42006; CBDV) in female patients with Rett syndrome.

Clinical Trial Type: Phase 2

Indication: Rett syndrome (typical or atypical)

Primary Objectives

Key objectives:

- To evaluate the safety of GWP42006 in female patients with Rett syndrome
- To evaluate the efficacy of GWP42006 in Rett syndrome symptom severity

GW pharmaceuticals

1-1 Trial Design and Treatment Schematic

Visit 1 Day -28, Visit 2 Day 1 + 3, Visit 3 Day 15 + 3, Visit 4 Day 29 + 3, Visit 5 Day 41 + 3, Visit 6 Day 71 + 3, Visit 7 Day 99 + 3, Visit 8 (Dropout) Day 113 + 3, Visit 9 (Dropout) Day 141 + 3

20 days, 14 days, 14 days, 14 days, 28 days, 28 days, 14 days, 28 days

GW pharmaceuticals

Key endpoints:

- Safety:**
 - Adverse events (AEs)
 - Clinical laboratory parameters
 - Vital signs
 - Physical examination procedures
 - 12-lead electrocardiogram (ECG)
- Efficacy:**
 - Rett Syndrome Motor-Behavior Assessment Scale (MBA) Change Index
 - Physician Global Impression of Change
 - Caregiver Top Three Concerns Visual Analogue Scale (VAS)
 - Intra-patient percentage change from baseline to the end of treatment in countable seizure's frequency (total seizures and per seizure type)
 - Changes in autonomic function: respiratory rhythm, hyperventilation, apnea, oxygen desaturation, and heart rate variation
 - Sleep Quality NRS
 - Epworth Sleepiness Scale

GW pharmaceuticals 

Inclusion Criteria
For inclusion in the trial, patients must fulfil ALL of the following criteria:

- Patient is female aged 5–55 years (inclusive).
- Patient's parent(s)/legal representative is willing and able to give informed consent for participation in the trial.
- Patient and their caregiver are willing and able (in the investigator's opinion) to comply with all trial requirements.
- Patient must have a **clinical diagnosis of Rett syndrome** (typical or atypical), defined according to RettSearch Consortium criteria.
- Patient must be post-regression i.e., presenting with **clinical stages 3 or 4** defined according to the Hagberg 4 clinical stages of classical Rett syndrome.
- Patient must have a disease severity of between 10 and 36, defined according to the Rett syndrome Natural History/Clinical Severity Scale.
- All medications or interventions for Rett syndrome related symptoms must have been stable for 4 weeks prior to screening and the patient/caregiver is willing to maintain a stable regimen throughout the trial.

GW pharmaceuticals 

Inclusion Criteria (2)

- Patient's regimen of non-pharmacological interventions (physical therapy, speech therapy etc.) must have been stable for at least 4 weeks prior to screening and the patient/caregiver is willing to maintain a stable regimen throughout the trial.
- Ability to swallow study medication provided as a liquid solution, or via gastrostomy tube.
- Patient and/or parent(s)/legal representative is willing to allow the responsible authorities to be notified of participation in the trial, if mandated by local law.
- Patient and/or parent(s)/legal representative is willing to allow his or her primary care practitioner (if they have one) and consultant (if they have one) to be notified of participation in the trial, if the primary care practitioner/consultant is different to the investigator.
- Patients must be willing to remain in the clinical research facility for approximately 9 hours (i.e. from 1 hour before until approximately 8 hours after administration of investigational medicinal product [IMP]). This will be for Visit 5 only.

Conclusioni 

- Per oltre un millennio ci sono state evidenze che hanno dimostrato che il CBD può essere usato in pazienti con Epilessia Farmacoresistente
- **Molte domande rimangono non risposte:**
 - Meccanismo di azione
 - Perché efficace su alcuni tipi di epilessia
 - Sicurezza ed efficacia nell'uso a breve e lungo termine
 - Necessari studi multicentrici in doppio cieco, randomizzati, controllati verso placebo


normale fortunato super fortunato

Grazie per l'attenzione



Un momento del workshop nella sessione parallela del Convegno



Trial internazionale placebo-controllato con Sarizotan* per i sintomi respiratori nella Sindrome di Rett: fase di arruolamento

Joussef Hayek (Principal Investigator)¹, Claudio De Felice (Co-Principal Investigator)², Silvia Leoncini (Study Coordinator)¹, Alessio Cortelazzo (Study Coordinator)¹

¹ U.O.C. Neuropsichiatria Infantile – Policlinico “S. Maria alle Scotte” Azienda Ospedaliera Universitaria Senese - Siena

² U.O.C. Terapia Intensiva Neonatale – Policlinico “S. Maria alle Scotte” Azienda Ospedaliera Universitaria Senese - Siena



Il Sarizotan è una molecola che esibisce elevata affinità per i recettori della serotonina di tipo 5-HT_{1A} e D2 (Bartoszyk et al. 2004).

Il razionale del trial è basato sui seguenti punti:

1. Inizialmente è stato sviluppato come anti-psicotico e per il trattamento di discinesie associate alla malattia di Parkinson.
2. Studi farmacologici pre-clinici hanno fornito evidenze per possibili utilizzi terapeutici psichiatrici e neurologici.
3. Effetto positivo del Sarizotan sulla disfunzione respiratoria in un modello murino di sindrome di Rett (RTT) (Abdala et al. 2014).

Lo studio, sponsorizzato da Newron Pharmaceuticals

SpA, è in doppio cieco, placebo controllato, multicentrico (centri situati negli Stati Uniti, Italia, UK, India, Australia).

Tutte le valutazioni cliniche sono effettuate da clinici esperti nella RTT. Al fine di ridurre al minimo i possibili bias, la maggior parte delle valutazioni di efficacia (esami di laboratorio, refertazione ECG, analisi monitoraggio respiratorio domici-



liare e in clinica) sono centralizzate in Centri esterni altamente qualificati e controllati per tutti i Centri di reclutamento internazionali.

Obiettivo primario è la valutazione della tollerabilità ed efficacia del Sarizotan nel trattamento delle anomalie respiratorie nelle pazienti RTT. Il miglioramento della sintomatologia respiratoria è ottenuto tramite l'uso ripetuto a casa del dispositivo BioRadio (un pletisimo-grafo portatile in grado di misurare vari aspetti della funzionalità respiratoria, come apnee, iperventilazioni, anomalie respiratorie, saturazione dell'ossigeno nel sangue).

Obiettivi secondari sono:

1. valutazione della sicurezza e tollerabilità del Sarizotan (5-10 mg *b.i.d.*) in pazienti RTT con sintomatologia respiratoria;
2. valutazione dell'efficacia del Sarizotan rispetto al gruppo trattato con placebo mediante valutazioni della gravità clinica e della percezione dei genitori/caregiver.

Inizialmente il trial era limitato alla fase doppio cieco di 6 mesi. In data 28 giugno 2017, è stato approvato un emendamento che ha consentito la somministrazione del farmaco sperimentale in open label per la durata di 6 mesi. Questa fase è attualmente in corso nel nostro centro di Reclutamento.

Criteri di inclusione:

1. Età ≥13 anni; peso corporeo ≥ 25 Kg
2. Presenza di anomalie respiratorie significative:
 - almeno 10 episodi di anomalie respiratorie al giorno riportate dai genitori
 - percentuale ≤10 % di anomalie respiratorie /ora
 - almeno 10 episodi di anomalie respiratorie definite come episodi di apnea con durata ≥10 secondi /ora valutati con monitoraggio respiratorio domiciliare BioRadio.

È attualmente in corso l'approvazione da parte di AIFA e Comitati Etici locali di emendamenti che consentano il reclutamento di bambine più piccole (dai 6 anni di età).

*Sarizotan Treatment of Apneas in Rett Syndrome (STARS)

Milestones del protocollo

Period	Screening	Baseline	Randomized Treatment Period					
Study Day(s)	-28 to -1	Days 0 and 1 (pre-dose)	Days 1 and 2	Days 14 and 15 (Week 2)	Week 8	Week 16	Week 24 (or early d/c)	2 weeks after last dose
Duration	28 days	1 day	2 days	2 days	1 day	1 day	1 day	1 day

Fase di arruolamento: dal 26 ottobre 2016 ad oggi è stato arruolato un totale di 11 pazienti (N=1 ritirato il consenso) con una distanza media $447,6 \pm 296,8$ km ($77,5 - 1083$ km) simile a tutte le circa 150 pazienti RTT afferenti al centro ($447,6 \pm 296,8$ km).

Nella popolazione arruolata l'età di insorgenza dei disturbi respiratori varia notevolmente ($8,5 \pm 5,0$ anni, 95% C.I. $5,2 - 11,9$ anni).

La nostra esperienza attualmente in corso ci parla di un protocollo estremamente accurato ed estremamente attento alle possibili fonti di *bias* anche se logisticamente impegnativo sia da parte della struttura di reclutamento che da parte delle famiglie. Grande attenzione è posta sulla sicurezza in ogni fase del trial. I risultati definitivi saranno noti solamente al termine della sperimentazione internazionale. In ogni caso, i risultati del trial saranno utili per comprendere meglio una caratteristica specifica della RTT di notevole importanza clinica e di notevole impatto sulle famiglie.



Il pubblico presente al Convegno

Popolazione STARS - Sito 11 (Siena)

- > Soggetti arruolati N=10 *
- > Età media 17.9 ± 5.6 anni
- > Età alla diagnosi 2.6 ± 1.0 anni
- > Tipo di mutazione *MECP2* (Large deletions N=1, T158M N=3, R294X N=1, R168X N=1, R306C N=1, Other N=2, C Terminal deletion N=1, R270X N=1 *)
- > Peso 57.1 ± 22.2 pct §
- > Altezza 70.2 ± 21.7 pct §
- > Circonferenza cranica (COF) 61.8 ± 19.4 pct §
- > Indice di massa corporea (BMI) 42.0 ± 31.7 pct §

* N=1 withdrawal

§ Dati normalizzati per curve di crescita RTT specifiche (Tarquinio et al. Neurology 2012)

In attesa dei risultati, non possiamo che consigliare a tutte le famiglie RTT interessate di partecipare a questo trial che, in ogni caso, aggraverà un'importante tessera nella comprensione del mosaico fenotipico della malattia.

Una componente importante dello studio è il coinvolgimento diretto dei genitori/cargiver nel monitoraggio respiratorio domiciliare.

Le famiglie delle pazienti selezionate percepiscono la gravità dei sintomi respiratori come un top concern all'incirca quadruplicato rispetto alla percezione delle famiglie RTT in generale.

La compliance media è risultata finora molto buona con ottima col-

laborazione da parte delle famiglie nel superare le difficoltà logistiche e i punti di complessità del protocollo sperimentale. In questo trial è previsto il rimborso totale dei costi di viaggio e hotel per tutte le pazienti e per tutte le visite.

Centro di Reclutamento: U.O.C. Neuropsichiatria Infantile - Policlinico "S. Maria alle Scotte" Azienda Ospedaliera Universitaria Senese - Siena

Indirizzi e-mail
j.hayek@ao-siena.toscana.it
geniente@gmail.com
s.leoncini74@gmail.com
corteale@gmail.com

Recapiti telefonici
 0577 - 586534 Ufficio dott. Hayek,
 0577- 586585 Segreteria

A breve sarà attivato un nuovo Centro di Reclutamento in Italia, il **Centro dell'Ospedale San Paolo di Milano (dott.ssa A. Vignoli)**. ■

Bibliografia

Bartoszyk GD, Van Amsterdam C, Greiner HE, Rautenberg W, Russ H, Seyfried CA. Sarizotan, a serotonin 5-HT_{1A} receptor agonist and dopamine receptor ligand. 1. Neurochemical profile. *J Neural Transm* 2004;111:113-126.

Abdala AP, Liroy DT, Garg SK, Knopp SJ, Paton JF, Bissonnette JM. Effect of Sarizotan, a 5-HT_{1a} and D₂-like receptor agonist, on respiration in three mouse models of Rett syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol*. 2014;50(6):1031-9.

Microbiota intestinale e sindrome di Rett

Agliaia Vignoli, UO Neuropsichiatria Infantile-Centro Epilessia, ASST Santi Paolo Carlo, Dipartimento di Scienze della Salute, Università degli Studi di Milano



Il microbiota comprende tutte le popolazioni microbiche che risiedono dentro (ad esempio il microbiota intestinale) e fuori (ad esempio il microbiota cutaneo) il nostro corpo. Il microbiota è costituito da batteri, virus e eucarioti. Nell'uomo, accanto a 10^{12} cellule umane, coabitano 10^{14} batteri.

L'ecosistema microbico è formato da diverse specie microbiche, che posso essere più o meno eterogenee e più o meno ricche. Questi parametri vengono utilizzati per definire le caratteristiche del singolo ecosistema. Da un punto di vista evolutivo, maggiore ricchezza e eterogeneità delle specie si traducono in una maggior resilienza rispetto a numerose variabili (abitudini di vita e alimentazione, infezioni, etc).

Il microbiota intestinale nello specifico ha diverse interazioni biunivoche, con il metabolismo epatico, con i meccanismi di difesa immunitari, con la motilità intestinale e le sue alterazioni e con il sistema nervoso centrale (il cosiddetto asse intestino-cervello).

Il maggior modulatore del microbiota intestinale è la dieta: è stato dimostrato su un campione di più di mille soggetti sani che alcuni alimenti favoriscono le diversità microbica (per es. la frutta e la verdura, il caffè, lo yogurt e il thè), altri alimenti la riducono (per es. gli snacks, la birra, il latte intero, le salse). L'impatto della dieta sul microbiota intestinale ha un valore determinante nello sviluppo di malattie croniche come il diabete e l'obesità, in cui è dimostrata la coesistenza con una disbiosi intestinale.

Altri fattori determinanti nell'alterazione del microbiota intestinale sono l'uso di antibiotici, i ritmi di vita stressanti, la modalità di parto del soggetto. Questi fattori contribuiscono allo sviluppo di malattie infiammatorie croniche intestinali e di altre malattie autoimmuni.

L'interazione fra il microbiota e l'ospite è biunivoca: il metabolismo fermentativo dei cibi non completamente digeriti e dei prodotti derivati dall'ospite crea un metaboloma microbico che ha a sua volta un impatto sul metaboloma dell'ospite.

In particolare, nell'interazione fra il microbiota intestinale e il sistema nervoso centrale agiscono meccanismi immunologici (attraverso le citochine), nervosi (attraverso il nervo vago) e metabolici (attraverso gli acidi grassi a corta catena, prodotti dal microbiota intestinale e in grado di passare il torrente ematico e giungere a livello cerebrale). Alterazioni del microbiota intestinale sono state dimostrate in diverse patologie neurologiche, come la malattia Alzeihmer, il morbo di Parkinson e nell'autismo.

Partendo dall'osservazione clinica e dal dato di letteratura sull'importante impatto della patologia gastrointestinale nella sindrome di Rett, nonché dalla recente associazione fra insorgenza delle crisi epilettiche e crescita statuto-ponderale, abbiamo eseguito uno studio su un campione di 8 soggetti con sindrome di Rett, confrontando i dati del microbiota delle ragazze con un campione di soggetti sani, di pari sesso e età. Abbiamo analizzato anche i parametri nutrizionali dei due gruppi, osservando un maggior introdu-

zione di proteine di origine animale e un minor apporto di fibre nelle ragazze con sindrome di Rett rispetto ai controlli.

A livello microbico, i campioni fecali sono stati analizzati mediante analisi metagenomica con l'ausilio di Next Generation Sequencing. Si sono evidenziate differenze nel grado di biodiversità delle specie, inferiore nella popolazione con sindrome di Rett e inversamente proporzionale al grado di severità della patologia. Anche a livello tassonomico, si sono rilevate delle differenze con una minor rappresentazione di Firmicutes e un aumento di Bacteroidetes.

Sono state valutate anche le differenze nella produzione di acidi grassi a corta catena, di produzione microbica, ma strettamente dipendenti dalla dieta. Se nel complesso non abbiamo osservato differenze statisticamente significative fra i due gruppi, abbiamo però rilevato un aumento relativo di propionato e butirato nelle pazienti rispetto ai controlli.

Con il nostro studio, pur in un limitato campione di soggetti, abbiamo dimostrato che le ragazze con sindrome di Rett hanno una riduzione della biodiversità microbica intestinale correlata alla severità del fenotipo clinico e associata ad una diversa concentrazione di metaboliti microbici.

Questi risultati ci stimolano a continuare i nostri studi con l'intento di approfondire il ruolo dei metaboliti microbici e della loro alterazione sull'asse intestino-cervello e di sviluppare approcci alternativi e complementari (dieta, uso di probiotici ad hoc) per la sindrome di Rett. ■



Per associarsi

Per iscriversi all'AIRETT (Associazione Italiana Rett) Onlus e/o ricevere la rivista ViviRett è necessario compilare il seguente modello ed inviarlo **via fax al n. 045 9239904**, unitamente alla fotocopia della ricevuta dell'avvenuto pagamento della quota associativa annuale nella modalità prescelta (c/c postale o bancario).

Nome Cognome

Via N°.....

Cap..... Città. Prov.

Tel. e-mail

- Desidero iscrivermi per ricevere la rivista ViviRett versando la somma di € 16,00
- Desidero iscrivermi come Socio Genitore all'AIRETT versando la somma di € 50,00
- Desidero rinnovare l'iscrizione come Socio Genitore all'AIRETT versando la somma di € 50,00
- Desidero iscrivermi come Sostenitore all'AIRETT versando la somma di €

I versamenti devono essere effettuati su:

☞ C/C postale n. 10976538 intestato a AIRETT - Viale Bracci, 1 - 53100 Siena che trovate allegato alla rivista

☞ C/C bancario intestato all'AIRETT IBAN IT64P0200811770000100878449

L'abbonamento alla rivista ViviRett è gratuito per i Soci Genitori e Sostenitori.

Ai sensi dell'art. 13 del decreto legislativo 30 giugno 2003 n. 196, recante il Codice in materia di protezione dei dati personali desideriamo informarLa che i dati personali da Lei volontariamente forniti saranno trattati, da parte dell' AIRett adottando le misure idonee a garantirne la sicurezza e la riservatezza, nel rispetto della normativa sopra richiamata.