



# UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA

**Scuola di Scienze Mediche e Farmaceutiche  
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA**

**Tesi di Laurea  
“Terapia genica nella SMA: esperienza dell’Istituto  
Giannina Gaslini”**

**Relatore**

Prof. Claudio Bruno

**Correlatrice**

Dott.ssa Marina Pedemonte

**Candidata**

Elisa Bazzurro

*anno accademico 2022/2023*



## Sommario

<b>1. Scopo dello studio</b> .....	<b>5</b>
<b>2. Definizione</b> .....	<b>6</b>
<b>3. La Genetica</b> .....	<b>6</b>
<b>4. Classificazione e quadro clinico</b> .....	<b>8</b>
4.1 SMA di tipo 0 (SMA-0).....	9
4.2 SMA di tipo I (SMA-1) .....	9
4.3 SMA di tipo II (SMA-2) .....	11
4.4 SMA di tipo III (SMA-3).....	12
4.5 SMA di tipo IV (SMA-4).....	12
4.6 Non sitters, sitters e walkers .....	13
<b>5. Complicanze</b> .....	<b>14</b>
5.1 Nutrizionali .....	14
5.2 Metaboliche .....	17
5.3 Respiratorie .....	20
5.4 Ortopediche.....	23
<b>6. Diagnosi</b> .....	<b>26</b>
<b>7. Le terapie disponibili</b> .....	<b>27</b>
7.1 Le Terapie SMN correlate .....	28
7.1.1 Modulatori SMN2 .....	28
7.1.2 Ripristino gene SMN1.....	30
7.2 Terapie non SMN correlate.....	31
7.2.1 Neuroprotezione: Olesoxime.....	31
7.2.2 Potenzamento muscolare.....	32
7.3 Terapie di editing genetico.....	32
7.4 Le misure di outcome motorio .....	33

7.4.1 CHOP-INTEND: Children’s Hospital Of Philadelphia .....	33
7.4.2 HINE: Hammersmith Infant Neurological Examination .....	34
7.4.3 HMFSE: Hammersmith Functional Motor Scale Expanded.....	34
7.4.4 RULM: Revised Upper Limb Module for SMA.....	35
7.5 Screening neonatale .....	39
<b>8. Materiali e metodi .....</b>	<b>41</b>
<b>9. Case report 1.....</b>	<b>42</b>
9.1 Outcome neuromotorio .....	42
9.2 Outcome neurofisiologico.....	45
9.3 Outcome psicomotorio.....	46
<b>10. Case report 2 .....</b>	<b>47</b>
10.1 Outcome neuromotorio .....	47
10.2 Outcome neurofisiologico.....	50
10.3 Outcome psicomotorio.....	51
<b>11. Case report 3 .....</b>	<b>53</b>
11.1 Outcome neuromotorio .....	53
11.2 Outcome neurofisiologico.....	57
11.3 Outcome psicomotorio.....	57
<b>12. Discussione .....</b>	<b>59</b>
<b>13. Conclusioni .....</b>	<b>62</b>
<b>14. Bibliografia.....</b>	<b>63</b>
<b>15. Ringraziamenti .....</b>	<b>73</b>

# 1. Scopo dello studio

L'atrofia muscolare spinale (SMA) è una grave malattia genetica autosomica recessiva causata da un difetto del gene SMN1 situato sul cromosoma 5q caratterizzata dalla progressiva degenerazione e perdita dei motoneuroni alfa situati nelle corna anteriori del midollo spinale, con conseguente debolezza e atrofia muscolare progressive. La SMA rappresenta la seconda malattia genetica più frequente dopo la fibrosi cistica ed era considerata la principale causa di morte in età pediatrica tra le malattie genetiche, prima dell'avvento delle terapie. Negli ultimi anni, infatti, differenti terapie ormai in commercio hanno rivoluzionato la storia naturale di questa patologia, in particolare per la forma di tipo I, per la quale sono disponibili terapie SMN dipendenti, che agiscono ripristinando il gene SMN1 a livello di DNA (terapia genica), o modulando il gene SMN2 a livello di RNA.

Ogni strategia terapeutica ha i suoi punti di debolezza e di forza e rimane ancora aperto il dibattito su quale sia la finestra terapeutica ottimale per massimizzare i benefici per i pazienti sottoposti a questo trattamento.

Lo scopo di questo studio è quindi quello di presentare l'esperienza dell'Istituto Giannina Gaslini nella somministrazione di terapia genica con Onasemnogene Apeparvovec a pazienti SMA con forma severa di tipo I sottolineando i benefici che si ottengono quando questa terapia viene somministrata nel periodo neonatale rispetto a trattamenti successivi.

## 2. Definizione

L'atrofia muscolare spinale (SMA, Spinal Muscular Atrophy) è una grave patologia neuromuscolare, autosomica recessiva, caratterizzata da degenerazione e perdita dei motoneuroni alfa delle corna anteriori del midollo spinale e dei nuclei del tronco encefalico che comporta progressiva debolezza e atrofia muscolare. (1)

L'incidenza stimata di questa malattia è di 1 su 10.000 nati vivi, rendendola la seconda malattia genetica più frequente dopo la fibrosi cistica. La frequenza dello stato di portatore è di 1 su 40 – 1 su 60. (2)

## 3. La Genetica

Nel 95% dei casi la SMA è causata da delezioni in omozigosi dell'esone 7 o sia del 7 che dell'8 sul gene SMN1, che si trova sul cromosoma 5 (q11.2-q13.3). Questo gene codifica per una proteina espressa ubiquitariamente nell'organismo umano: SMN, acronimo di Survival Motoneuron. (3)

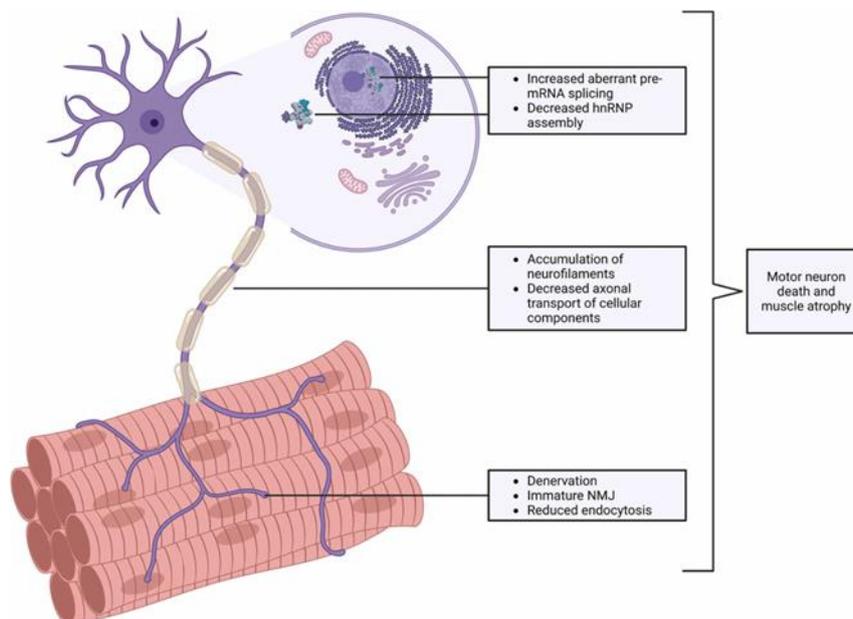


Figura 1: Patogenesi dell'atrofia muscolare spinale

Nel restante 5% di casi la causa risiede ancora nella stessa mutazione dell'esone precedente, ma in questo caso non si tratterà di omozigosi, bensì eterozigosi combinata con mutazioni puntiformi. (4)

SMN sembra avere molti ruoli all' interno delle cellule, ad esempio è coinvolta nella biogenesi delle piccole ribonucleoproteine nucleari (snRNP), nel metabolismo, nella traduzione e trascrizione del micro RNA, nell'endocitosi, nella formazione di granuli da stress, nella sopravvivenza cellulare, nell'omeostasi dell'ubiquitina e nella risposta al danno al DNA.(5)

Nel cromosoma 5q non si trova solo il gene SMN1 di cui sopra, ma anche, in posizione centromerica, il suo paralogo SMN2. Questo si differenzia da SMN1 per un solo nucleotide nell'esone 7, in particolare il T in posizione c.840. A causa di questo singolo nucleotide si ha un difetto nello splicing, in cui si salta l'esone 7 e si produce, nel 90% dei trascritti nel pre-mRNA, una proteina tronca e inattiva. (6)

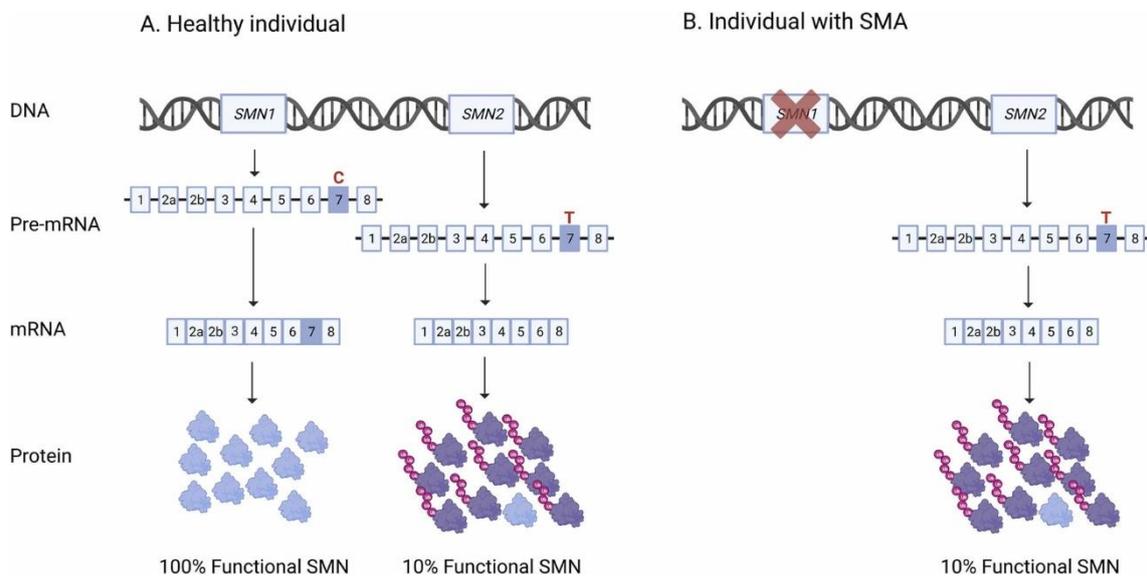


Figura 2: differenze tra i geni SMN1 e SMN2

Questo non succede per il gene SMN1, che invece produce una proteina completamente normale. Nel caso della SMA, il gene SMN2 diventa fondamentale perché, essendo il gene SMN1 mutato e quindi non funzionante, è l'unica fonte di proteina SMN. Da ciò si può intuire che è il numero di copie della proteina prodotta dal gene SMN2 a definire, con un rapporto di proporzionalità inversa, la gravità e il fenotipo della SMA. In particolare la SMA-0 è solitamente caratterizzata dalla presenza di una sola copia di SMN2 (in quanto è necessaria la presenza di almeno una copia di SMN2 perché si sviluppi la SMA), SMA-1 tipicamente ha 2 o 3 copie, SMA-2 è caratterizzata da 3 copie, SMA-3 da circa 3 o 4 copie, mentre SMA-4 da più di 4.(7) Questo concetto, in realtà, si è scoperto

non essere assoluto perché sembra esserci una percentuale di pazienti con la forma più grave della patologia che hanno tre copie di SMN2, e che quindi secondo il precedente ragionamento dovrebbero corrispondere ad un fenotipo lieve della malattia.(5)

<i>SMN2</i> Copy Number	SMA Clinical Phenotype <sup>1</sup>		
	SMA I	SMA II <sup>2</sup>	SMA III/IV <sup>3</sup>
1	96%	4%	0%
2	79%	16%	5%
3	15%	54%	31%
>=4 <sup>4</sup>	1%	11%	88%

Figura 3: associazione numero di copie con sottotipo di SMA ( Adam, Margaret P, et al., editors. GeneReviews®. University of Washington, Seattle, 1993.)

Esisterebbero infatti altri fattori, oltre al numero di copie di SMN2, che influenzano la gravità della patologia, come la variante c.859G>C, la cui presenza si associa con un fenotipo più lieve di SMA. Questa sostituzione infatti permette una maggiore inclusione dell'esone 7 nel trascritto di SMN2 maturo, aumentando quindi la produzione della proteina funzionale. (8)

Nel sospetto di SMA, il test genetico, cioè la ricerca della delezione degli esoni 7 e/o 8 del gene SMA, viene effettuato con la tecnica MPLA.

## 4. Classificazione e quadro clinico

L'Atrofia Muscolare Spinale è convenzionalmente forme in base all'età di esordio e alle abilità motorie. È evidente una forte correlazione tra la severità del fenotipo e l'età d'esordio nei pazienti, oltre che con il numero di copie SMN2. Recentemente è stato introdotto un quinto fenotipo, estremamente grave, i cui sintomi sono presenti già in epoca gestazionale.

## 4.1 SMA di tipo 0 (SMA-0)

Questa rappresenta il fenotipo più precoce in quanto esordisce già nella vita intrauterina e presenta un'incidenza minore dell'1%. Non solo è la forma più precoce, ma è anche quella che determina più rapidamente il decesso del paziente, in quanto causa l'exitus nelle prime settimane o addirittura nei primi giorni di vita. (9)

Durante la vita intrauterina, il feto può avere una scarsa mobilità che può determinare delle retrazioni articolari già alla nascita, portando ad un quadro di artrogriposi multipla congenita. È importante porre evidenza su quest'ultimo aspetto poiché, in passato, la presenza di artrogriposi alla nascita era invece considerato un criterio di esclusione per la diagnosi di SMA.

## 4.2 SMA di tipo I (SMA-1)

Malattia di Werdnig-Hoffman, forma infantile a fenotipo più grave. Rappresenta la prima causa di morte in età pediatrica per patologia genetica. In questo caso l'esordio è nei primi sei mesi di vita (0-6 mesi). La sintomatologia dei bambini affetti è caratterizzata da ipotonia e ipostenia ingravescenti, riduzione dei movimenti spontanei e assenza dei riflessi osteotendinei (Fig. 4). (10)



Figura 4: Ipotonia muscolare

Inoltre non vengono raggiunte le tappe del fisiologico sviluppo neuromotorio

(controllo del capo, acquisizione della posizione seduta autonoma, deambulazione).

Gli aspetti cognitivi al contrario sono perfettamente conservati.

La grave debolezza muscolare coinvolge anche la muscolatura respiratoria determinando entro i primi mesi dall'esordio l'instaurarsi di una progressiva insufficienza respiratoria cronica, che porta all'exitus entro i 2 anni di vita. (11)

Il coinvolgimento della muscolatura respiratoria è caratterizzato in questi bambini da una relativa preservazione della funzione diaframmatica. Questo determina il cosiddetto

“respiro paradosso” (collasso della parete toracica e protrusione addominale durante l’inspirazione) e la deformità del torace “a campana” (“bell shaped thorax”). (12)

Spesso, a causa della grave ipotonia, anche la suzione e la deglutizione diventano deficitarie entro il primo anno di vita, determinando gravi problemi di nutrizione e un elevato rischio di inalazione e soffocamento durante il pasto. (13)

È presente inoltre coinvolgimento bulbare, dei muscoli della lingua (fascicolazioni linguali), del volto (facies amimica) e dei muscoli mascellari, con risparmio dei muscoli estrinseci dell’occhio e degli sfinteri. (14)

Esistono tre sottotipi di SMA di tipo 1 (sottotipi 1A-C) attualmente riconosciuti da un consorzio internazionale di esperti neuromuscolari, e questi sottotipi corrispondono alle età di insorgenza della debolezza osservate nei pazienti, dalla nascita ai 6 mesi di età. Un sistema alternativo di sottoclassificazione proposto da Mercuri et al. (15), che utilizza anch'esso la nomenclatura 1A-1C, combina l'età di insorgenza e il raggiungimento del controllo del capo come fattori di differenziazione tra i gruppi di pazienti.



Figura 5: Torace a campana

La forma più grave di SMA di tipo 1, il sottotipo 1A, si manifesta entro le prime due settimane di vita, se non addirittura alla nascita. I neonati con SMA di tipo 1A presentano debolezza globale, profonda ipotonia, difficoltà di alimentazione e insufficienza respiratoria. Questi bambini non raggiungono alcun traguardo motorio significativo e hanno la durata di vita più breve tra i pazienti affetti da SMA di tipo 1. Secondo lo schema di sottoclassificazione proposto da Mercuri et al. (15) un neonato con sottotipo 1A avrà un esordio neonatale e non acquisirà il controllo del capo.

I pazienti con il sottotipo 1B della SMA di tipo 1 presentano un esordio di grave debolezza generalizzata e ipotonia entro i 3 mesi di età. I pazienti con il tipo 1B presentano spesso un torace a campana e un pattern di respirazione paradossa causato dall'utilizzo di muscoli accessori per compensare la debolezza dei muscoli della parete toracica. I pazienti con il tipo 1B possono avere un certo sviluppo motorio, ma non possono rotolare o sedersi senza

supporto. La sottoclassificazione SMA 1B di Mercuri et al. (15) prevede un esordio dopo il periodo neonatale e l'assenza di controllo del capo.

Il sottotipo 1C della SMA è caratterizzato da una debolezza generale con un coinvolgimento più prossimale, maggiore negli arti inferiori. L'esordio dei segni e dei sintomi nel sottotipo 1C avviene dopo i 3 mesi e di solito prima dei 6 mesi di età. Nei pazienti con SMA 1C può verificarsi uno sviluppo motorio, ma questi pazienti non potranno mai sedersi senza sostegno. La sottoclassificazione della SMA 1C proposta da Mercuri e colleghi (15) stabilisce che questi pazienti presentano un esordio di debolezza dopo il periodo neonatale e, a differenza di altri sottotipi di SMA di tipo 1, acquisiscono un buon controllo del capo.

### 4.3 SMA di tipo II (SMA-2)

La SMA di tipo II (conosciuta anche come malattia di Dubowitz) insorge più tardivamente rispetto alle precedenti due forme, con esordio tra i 6 e i 18 mesi di età (1). Alcuni studi hanno evidenziato che la tappa dello sviluppo neuromotorio più avanzata che in genere si ottiene è quella del raggiungimento autonomo della posizione seduta (16). Tuttavia questo non implica necessariamente che questa abilità venga mantenuta nel



Figura 6: Posizione seduta raggiunta dai pazienti SMA-2

tempo, tantomeno risulta possibile la deambulazione autonoma. Anche in questo fenotipo di malattia si possono riscontrare problemi di nutrizione e respirazione che portano a patologie restrittive, mentre le anomalie cardiache sono meno comuni(17).

È presente anche una scoliosi severa che peggiora con l'andamento della patologia se non trattata adeguatamente.(18)

## 4.4 SMA di tipo III (SMA-3)

Questo tipo di patologia (detta anche malattia di Kugelberg-Welander) si manifesta dopo i 18 mesi di età (19). In questa tipologia di pazienti, la muscolatura degli arti inferiori è più gravemente colpita rispetto a quella degli arti superiori. Di solito viene acquisita la deambulazione autonoma, ma questa, a causa della debolezza della muscolatura prossimale, è caratterizzata da frequenti cadute e difficoltà più o meno importanti a salire e scendere le scale(20). Oltre a ciò si è osservata anche la presenza di un certo grado di astenia che può determinare una diminuzione della qualità di vita anche significativa(21).

In base all'età di esordio dei sintomi questa forma viene distinta in due categorie:

- SMA-IIIa, in cui l'esordio dei sintomi avviene prima dei 3 anni;
- SMA-IIIb, in cui l'esordio dei sintomi avviene dopo i 3. (22)

In questi pazienti in generale le problematiche respiratorie (23), nutrizionali e ortopediche, tipiche dei precedenti fenotipi, sono meno frequenti. Le funzioni cardiache e cognitive, invece, sono solitamente nella norma. (24)



Figura 7:  
Presentazione clinica  
paziente SMA-3

## 4.5 SMA di tipo IV (SMA-4)

Forma dell'età adulta, con esordio nella seconda o terza decade di vita.(25) Rappresenta solo 1% di tutte le SMA e si caratterizza per un decorso più lieve delle altre, infatti viene mantenuta la capacità di camminare e non si hanno implicazioni respiratorie o nutrizionali. Vengono principalmente colpiti i muscoli deltoidei, tricipiti e quadricipiti. Per quanto concerne i riflessi osteotendinei, si ha la perdita, nella maggior parte dei casi, dei patellari, mentre gli achillei o quelli dell'arto superiore possono rimanere presenti.(26) L'aspettativa di vita in questi pazienti risulta essere normale.

Nella seguente tabella vengono riportate le caratteristiche delle principali categorie di SMA.

Classification and subtypes of spinal muscular atrophy.					
SMA type	Onset	Motor milestone achieved	subclassification	Estimated SMN2 copies	Estimated SMA proportion
SMA-I	<6mo	Never sit, some achieve head control	1A: Onset < 1 mo, 1B: Onset 1–3 mo; 1C: Onset 3–6 mo; head control achieved	1 or 2 SMN2 copies in ~80% of patients	60%
SMA-II	6–18 mo	Sits but never stands	2A: Sits independently, may lose the ability to sit in later life 2B: Sits independently, maintains the ability to sit	3 SMN2 copies in >70% patients	27%
SMA-III	18mo–18yrs	Stands and walks	3A: Onset between 18 and 36 mo 3B: Onset >3 yrs	3 or 4 SMN2 copies in ~95% of patients	12%
SMA-IV	>18 yrs	Stands and walks		4 or more SMN2 copies in >90%	1%

Figura 8: Classificazione dei sottotipi di SMA (Messina S, Sframeli M, Maggi L, et al.2022)

## 4.6 Non sitters, sitters e walkers

Un altro tipo di classificazione, che viene sempre più utilizzata soprattutto nel follow-up della terapia, è quella che si basa sulla tappa motoria raggiunta. Sicuramente il vantaggio di questa classificazione è che consente di valutare i cambiamenti clinici che si hanno dopo la terapia. Questo approccio infatti permette di considerare il fenotipo della patologia come un continuo e consente di concentrarsi sull'attuale stato funzionale e sulla risposta alla terapia. I pazienti vengono quindi divisi in:

- Non sitters, che corrispondono ai pazienti affetti da SMA-I; tuttavia anche ai pazienti con SMA di tipo II che perdono la capacità di sedersi autonomamente vengono inseriti in questa classe. Clinicamente i neonati presentano, in posizione supina, una postura detta “a rana” e un mancato controllo del capo durante la trazione. Questi soggetti infatti vengono definiti anche “floppy infants” o “floppy baby” proprio per questa loro caratteristica posizione e ipotonia muscolare.(27) Ad oggi, grazie alla terapia, la sopravvivenza è aumentata notevolmente, nonostante il possibile sviluppo di complicanze.(5)
- Sitters, categoria che include la SMA di tipo II e i soggetti del tipo III non deambulanti. Anche in questo caso troviamo una grave ipotonia ma più accentuata negli arti inferiori. (28)Le persone all'interno di questa classe sviluppano molto frequentemente scoliosi a causa della debolezza dei muscoli assiali deputati al mantenimento della postura. Questo succede soprattutto se non vengono adottate

delle misure di supporto per mantenere in posizione corretta la colonna vertebrale.  
(29)

- Walkers. All'interno di questa classe vengono inseriti i pazienti con SMA di tipo III o IV che raggiungono e mantengono la capacità di camminare autonomamente.(12)

## 5. Complicanze

Essendo una patologia neuromuscolare, essa coinvolge progressivamente tutti i muscoli dell'organismo portando una serie di conseguenze a livello di vari apparati, complicando il quadro clinico e rendendo necessaria una terapia di tipo multidisciplinare. Nei prossimi capitoli verranno trattate alcune delle principali complicanze degli apparati maggiormente colpiti dalla malattia.

### 5.1 Nutrizionali

Un comune problema della gestione dei pazienti affetti da SMA è quello dell'alimentazione, infatti spesso si ha una condizione di eccessivo apporto alimentare o di uno troppo ridotto. Il problema centrale in questi pazienti è però la malnutrizione. (30) Essa è causata in primo luogo dalla disfagia, che è dovuta alla debolezza dei muscoli deputati alla funzione della deglutizione.(15) Clinicamente si evidenziano atti deglutitori multipli e incompleti, dismobilità della lingua, debolezza dei muscoli labiali, ma anche dei muscoli masticatori, e contrazioni del muscolo massetere. Tutto questo si associa quindi ad una difficoltà alla nutrizione orale e ad altre complicazioni più gravi come un aumento nel rischio di polmonite ab-ingestis, che risulta ad oggi una delle principali cause di morte di questi pazienti (7). I pazienti che sono maggiormente predisposti a queste complicanze sono quelli con la forma più grave di malattia, ovvero i bambini con SMA di tipo 1. (31)

Per quanto riguarda la deglutizione esiste una scala, la Neuromuscular Disease Swallowing Status Scale (NdSSS), che viene utilizzata per valutare rapidamente lo stato delle abilità deglutitorie in pazienti affetti da SMA ed è utile anche per valutare lo stato di avanzamento della patologia.(32) I pazienti della categoria “non sitters” sono più

predisposti a questo tipo di problematiche e per questo motivo dovrebbero essere sottoposti regolarmente ad una valutazione della funzione deglutitoria attraverso lo studio videofluoroscopico della deglutizione a partire dal momento della diagnosi.

Altro disturbo che si interpone nella storia naturale della patologia è quello del riflesso della tosse, la quale diventa inefficace a causa della nota ipotonia dei muscoli deputati a questa funzione. La perdita di questo riflesso porta a due conseguenze: la prima è la presenza di crisi di soffocamento spontaneo e la seconda è l'aumentata possibilità di aspirazione del bolo alimentare. Per questo motivo, insieme alla progressiva difficoltà respiratoria che facilita anch'essa l'aspirazione del bolo alimentare, aumenta progressivamente il rischio di polmonite ab-ingestis rendendo presto la nutrizione artificiale un presidio fondamentale.(31)

L'obiettivo principale della gestione della disfagia è quello di evitare la complicanza più pericolosa di tutte: la polmonite chimica da aspirazione. Le metodiche disponibili per la nutrizione enterale sono varie: si parte dal sondino nasogastrico o nasodigiunale, fino ad arrivare a metodiche più invasive come la PEG (Gastrostomia Endoscopia Percutanea). Un'indicazione al posizionamento di uno di questi dispositivi è data dall'alterazione all'esame videofluoroscopico della deglutizione. Generalmente si inizia posizionando un sondino nasogastrico o nasodigiunale; la scelta fra uno o l'altro tipo di strumento è la presenza o meno di reflusso gastroesofageo (GERD). Infatti con la presenza di GERD il sondino nasogastrico potrebbe portare ad inalazione.(33) D'altro canto, il sondino nasodigiunale, che protegge meglio le vie aeree, pone importanti limiti sull'osmolarità del nutrimento e sulla velocità di infusione, le quali in questo caso devono essere ridotte a causa della mancanza del reservoir dello stomaco.

L'utilizzo di sondino dovrebbe essere una soluzione temporanea e dovrebbe essere sostituito il più precocemente possibile una stomia definitiva. La PEG, infatti, ha numerosi vantaggi rispetto alle altre tipologie di alimentazione enterale: migliora la qualità di vita del bambino grazie al fatto che elimina la presenza fissa di un corpo estraneo nella cavità orale e permette una maggiore qualità della nutrizione, come dimostra il fatto che il peso e il percentile migliorano dopo il posizionamento di una PEG.(34)

Oltre alla malnutrizione, causata dalla difficoltà generalizzata di ingestione degli alimenti, i pazienti affetti da SMA sono soggetti a deficit di vitamine. Di particolare importanza sono la mancanza delle vitamine B9 e B12 che sono essenziali per la metilazione di SMN. Infatti l'ipometilazione della proteina può alterare la sua attività e causare una diminuzione dei suoi livelli sierici con conseguenze simili a quelle che si hanno in seguito alla mutazione del gene di SMN. (38) L'inadeguatezza del livello di folati e vitamina B12 può dunque peggiorare il quadro clinico del paziente. Di conseguenza sembra essere buona pratica clinica la supplementazione di tali vitamine nella dieta di questi bambini. Le vitamine del gruppo B non sono le uniche ad essere deficitarie, ma si è vista spesso anche una riduzione della vitamina D oltre che del calcio. La diminuzione dei livelli di queste componenti è legata non solo alla loro introduzione non sufficiente, ma anche alla poca esposizione solare, al diminuito assorbimento intestinale causato da tutti i problemi gastroenterici che possono caratterizzare il quadro clinico della SMA, e a causa dell'interazione farmaco-nutriente(35). Naturalmente conseguenza diretta della mancanza di questi nutrienti sono l'osteopenia, che caratterizza tutti i fenotipi di SMA, fratture patologiche e scoliosi. Nei casi più gravi di SMA di tipo 1 si è osservato un maggior coinvolgimento degli arti inferiori e una maggiore gravità delle lesioni. Si sono infatti visti dei casi SMA di tipo 1 affetti da fratture congenite (36). Siccome le conseguenze di questo sono piuttosto invalidanti, è buona pratica clinica fare dei controlli periodici sui livelli ematici di vitamina D e di calcio, nonostante questi non rappresentino necessariamente lo stato minerale delle ossa. Infatti, l'indagine che indica in modo più preciso la densità ossea è la DEXA (densitometria assiale a raggi X) (37). Il monitoraggio dell'andamento della BMD (Bone Mass Density) viene iniziato nel momento della diagnosi misurando i livelli di 25-OH-vitamina D, calcio, fosforo, PTH e prosegue eseguendo una DEXA, in modo da avere i valori da confrontare una volta cominciata la terapia.

Per quanto riguarda la gestione terapeutica di queste deficienze, essa dipende dal tipo di paziente che si ha davanti: nei pazienti classificati come "non sitters" e "sitters" si deve avere un approccio un po' più aggressivo e serrato con l'assunzione di vitamina D e di calcio, oltre che controllare periodicamente, con gli esami appena citati, la situazione ossea del bambino; nei soggetti detti "walkers" si può invece essere un po' meno severi nel monitoraggio degli indicatori, poiché basta la giusta supplementazione di vitamina e

di calcio della dieta. Questo succede perché la capacità di camminare che tali pazienti hanno acquisito permette un miglioramento della densità ossea.(38)

Per affrontare e gestire al meglio l'alimentazione di questi soggetti è necessario considerare anche le problematiche gastrointestinali che caratterizzano la patologia. I pazienti infatti sono spesso affetti anche dalla malattia da reflusso, svuotamento gastrico ritardato, costipazione cronica e dismobilità intestinale. La malattia da reflusso (MRGE) ha un ruolo abbastanza importante all'interno di questo quadro clinico perché aumenta il rischio di aspirazione e quindi di morte. Sembra avere un'incidenza piuttosto importante, nonostante il valore preciso non sia noto. Per questo motivo non bisogna sottovalutare la sintomatologia, che è solitamente caratterizzata da rigurgito, rifiuto del cibo, vomito altrimenti inspiegabile e pianto persistente. Altro punto centrale riguardo alla MRGE è la difficoltà che si ha ad utilizzare le manovre invasive per valutare la presenza o il grado del reflusso. Questo porta quindi ad eseguire un follow-up piuttosto serrato e a tentare di ridurre il rischio di MRGE prima attraverso la dieta alimentare, in cui vengono evitati i cibi che aumentano l'acidità gastrica, e poi attraverso l'utilizzo di farmaci che neutralizzano l'acidità dello stomaco. (39)

L'alterata mobilità dell'apparato gastrointestinale causa nell'intestino malassorbimento e costipazione cronica, mentre a livello dello stomaco causa svuotamento gastrico ritardato che può contribuire a sua volta all'insorgenza del reflusso gastroesofageo e sazietà precoce, con conseguente vomito dopo i pasti. Questo discomfort può aumentare il rischio di malnutrizione. Il vomito però può anche essere causato dai cibi con alto contenuto di grassi, che vengono usati per aumentare l'apporto di calorie. (31)

## **5.2 Metaboliche**

I pazienti affetti da SMA hanno, oltre all'interessamento muscolare, vari disordini metabolici che complicano il loro quadro clinico. Uno dei principali problemi è la disregolazione del profilo lipidico. Alcuni studi hanno dimostrato che i soggetti affetti da SMA presentano un'alterazione del metabolismo degli acidi grassi e che questo sembra essere legato con la gravità con cui si presenta la patologia. Si è infatti osservato che disordini come aciduria dicarbossilica, aumentata escrezione di acilcarnitina, riduzione di carnitina sierica e muscolare e diminuzione di acil-CoA deidrogenasi sono presenti soprattutto in pazienti affetti da SMA di tipo 1 in modo simile ai soggetti che presentano

alterazione del trasporto degli acidi grassi o della  $\beta$ -ossidazione. (40) Nel caso della SMA, il fegato non è la causa dell'alterazione del metabolismo lipidico, ma piuttosto dello scorretto utilizzo degli acidi grassi da parte del muscolo, mentre nel caso dei difetti della  $\beta$ -ossidazione il problema è proprio a livello epatico. Questo sarebbe dimostrato dal fatto che sia i chetoni che l'acilcarnitina hanno un profilo normale nei pazienti con SMA, mentre in quelli che hanno un difetto dell'ossidazione mitocondriale degli acidi grassi questi valori sono tipicamente alterati.(41) Di conseguenza risulta essere importante il monitoraggio seriato del profilo lipidico nei soggetti con SMA per permettere una migliore personalizzazione della loro alimentazione.

Il fegato, per quanto non sembri essere il responsabile della dislipidemia, è invece soggetto a steatosi nei soggetti colpiti da SMA similmente alla steatosi epatica non alcolica (NAFLD). Tale condizione rappresenta uno spettro di patologie epatiche croniche caratterizzate da infiltrazione adiposa del fegato associata a vari gradi di infiammazione e fibrosi. Uno studio condotto nel 2015 ha osservato che la prevalenza di NAFLD aumenta dal 7,6% della popolazione pediatrica generale al 34,2% di quella malata.(42)

Per tentare di evitare o diagnosticare precocemente questa condizione, è indicato lo screening dei valori di ALT nel sangue.

La regolazione del metabolismo del glucosio risulta anch'essa alterata. Nei pazienti con SMA si possono trovare due tipi di condizioni: nei soggetti sottopeso, soprattutto se affetti da SMA di tipo 2 o 3, si osservano episodi di ipoglicemia da digiuno(43), mentre nei bambini sovrappeso od obesi, anch'essi con SMA di tipo 2 o 3, si riscontrano pre-diabete, diabete e resistenza all'insulina. La causa dell'ipoglicemia a digiuno, che non è molto prolungata (maggiore di 4 ore, ma minore di 6), è attribuita alla progressiva atrofia del muscolo. In condizioni normali il muscolo è infatti la principale risorsa di glucosio per la gluconeogenesi durante il digiuno. Nella SMA, invece, il muscolo degenera, il glucosio non è più disponibile e si verifica l'episodio di ipoglicemia. Questo fenomeno è chiaramente accentuato in tutte le condizioni di stress che comportano un'aumentata richiesta di glucosio come nei casi di febbre e interventi chirurgici. Nei pazienti in cui si verificano ricorrenti episodi di ipoglicemia è consigliato il regolare l'apporto di

carboidrati e proteine con pasti frequenti, anche notturni, per evitare periodi troppo prolungati di digiuno. (30)

Nei pazienti affetti da SMA, soprattutto in quelli obesi, si è riscontrata una resistenza all'insulina, un'intolleranza al glucosio fino ad un quadro di diabete. (47) Questo fatto dimostra che l'iperglicemia è correlata alla quantità di tessuto adiposo rispetto a quello muscolare. Il tessuto muscolare, infatti, è il principale target dell'insulina, quindi nelle situazioni di sarcopenia severa o sarcopenia con eccesso di adiposità questo bersaglio è deficitario, l'insulina non trova recettori che le permettono di espletare la sua funzione, il

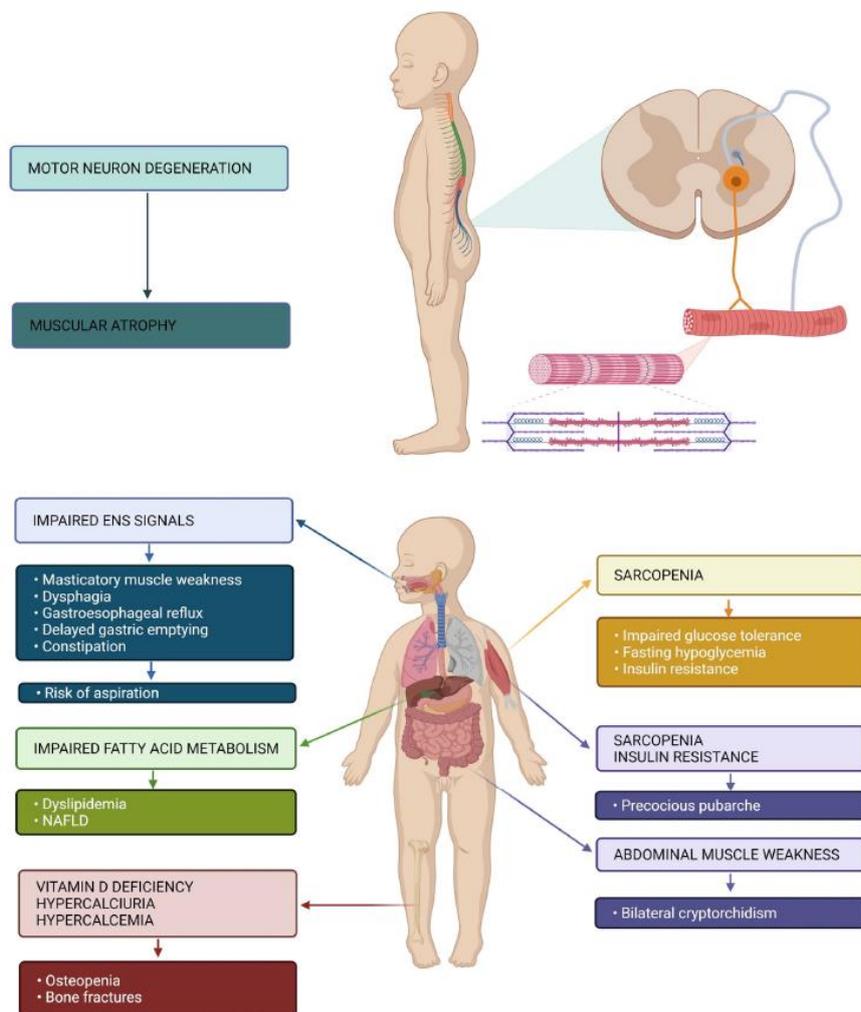


Figura 9: Complicanze della nutrizione e del metabolismo nella SMA

glucosio non entra nelle cellule e si determina un aumento dei valori di glicemia nel sangue fino ad arrivare ad una condizione di diabete. (44) Nella SMA i pazienti che, a causa della gravità della malattia, non possono fare nessun tipo di attività fisica, con

quindi un ulteriore sarcopenia, hanno un aumentato rischio di iperglicemia e diabete di tipo 2.(45)

Di conseguenza, considerando la maggiore sopravvivenza dei bambini affetti da SMA grazie alle nuove terapie sviluppate recentemente, è necessario considerare che questi aspetti nel tempo saranno sempre più presenti e andranno monitorati e gestiti in modo da assicurare una sempre migliore qualità di vita al paziente.

### **5.3 Respiratorie**

Nell'atrofia muscolare spinale vengono coinvolti, tra gli altri, anche i muscoli respiratori. Si tratta in particolare dei muscoli intercostali, mentre il diaframma sembra essere relativamente risparmiato. La contrazione sincrona di questi gruppi muscolari permette l'atto dell'inspirazione; infatti i primi provocano l'espansione della cassa toracica, mentre il diaframma trazione i polmoni verso il basso. Dato che la funzionalità dei muscoli intercostali è compromessa dalla malattia, l'inspirazione dipende quasi esclusivamente dall'attività del diaframma, che causa quindi una pressione negativa all'interno del torace e di conseguenza l'anomala rientranza della parte superiore della cassa toracica e l'aspetto a campana di quest'ultima. Inoltre il quadro può essere complicato dalla presenza di scoliosi, provocata dalla debolezza dei muscoli paravertebrali. Questa condizione infatti aumenta il carico sul sistema respiratorio, causando uno svantaggio meccanico in un sistema già di per sé deficitario. (46)

A causa della debolezza dei muscoli respiratori, clinicamente si potrà evidenziare una tosse inefficace, con conseguente inefficace clearance delle secrezioni respiratorie, che a sua volta porta polmoniti ricorrenti. Altre conseguenze di questo meccanismo sono l'aumentato rischio di atalettasia polmonare, patologia polmonare restrittiva, ipoventilazione notturna e infine insufficienza respiratoria.

L'ipotonia muscolare invece, dal punto di vista funzionale, si traduce in una riduzione del volume corrente, che cerca di essere compensato attraverso l'aumento della frequenza respiratoria. (23) Questa condizione, seguendo il corso naturale della patologia, peggiora progressivamente fino a che il volume corrente diventa insufficiente in relazione alla domanda metabolica, causando nel lungo tempo ipoventilazione, ipossiemia e ipercapnia.(47)

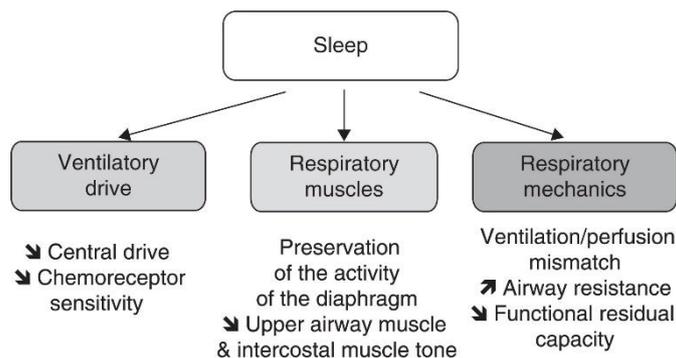


Figura 10: meccanismo dell'abbassamento della saturazione durante il sonno

Come sopraccitato, uno degli aspetti importanti delle implicazioni polmonari della SMA è l'ipoventilazione notturna. Durante il sonno, si ha sempre un alterato rapporto ventilazione-perfusione, una riduzione della capacità funzionale residua ed i chemocettori risultano meno sensibili. È a causa di questi fisiologici cambiamenti che durante il sonno, specialmente durante la fase REM, si verifica l'aumento della pressione parziale di anidride carbonica ( $\text{PaCO}_2$ ) e la diminuzione della saturazione di ossigeno nel sangue ( $\text{SpO}_2$ ).

Naturalmente questo effetto nei pazienti sani non causa nessun tipo di alterazione mentre i pazienti affetti da SMA, che sono più vulnerabili, possono subire delle problematiche. Da ciò si può dedurre che è necessario eseguire con regolarità studi del sonno per monitorare, ed eventualmente trattare, l'iperventilazione prima che peggiori e si arrivi all'insufficienza respiratoria acuta.

La valutazione della funzionalità respiratoria non è semplice perché questi muscoli non sono direttamente accessibili e inoltre molti test utilizzati necessitano di una minima collaborazione da parte del paziente, che non sempre è possibile. I test sulla valutazione della forza muscolare respiratoria sono divisi in invasivi, che richiedono la misurazione della pressione di esofago e stomaco, e non invasivi, chiaramente meglio tollerati dai pazienti. Gli esami non invasivi comprendono la valutazione della capacità vitale forzata (CVF) attraverso la spirometria, il test per la pressione inspiratoria nasale (SNIP), il picco di flusso espiratorio e il picco di flusso durante la tosse (PCEF). Purtroppo però, questi test hanno due limitazioni importanti: richiedono la cooperazione del paziente e presentano una tecnica non sempre standardizzata.

La spirometria è il test più semplice e universalmente più utilizzato sui bambini affetti da SMA. (48) Per questo esame sono state pubblicate le linee guida che standardizzano la tecnica, ma per i pazienti affetti da patologia neuromuscolare queste non sono sempre

attuabili. Per esempio questi soggetti non sempre riescono a sigillare le labbra intorno al boccaglio monouso a causa della debolezza dei muscoli facciali e quindi si sostituisce il boccaglio con una maschera apposita. Nonostante ciò, la principale limitazione della spirometria rimane che non sempre i pazienti, soprattutto quelli con un'età tra i 5 e gli 8 anni, sono in grado di effettuare il test in modo adeguato. Nel caso di sospetta debolezza del diaframma il test viene eseguito sia in posizione seduta che supina e se si ottiene una caduta del valore di CVF maggiore del 25% la debolezza del diaframma è confermata. (49) Solitamente i pazienti affetti da SMA di tipo II hanno CVF predetta ridotta già a 6-8 anni, mentre in quelli con il fenotipo III la CVF non è ridotta fino all'età adulta. (23) Nei pazienti non collaboranti la spirometria non può essere eseguita e si devono utilizzare degli esami più invasivi come l'analisi della pressione esofagogastrica durante la respirazione normale. Questo permette di verificare il contributo del diaframma rispetto agli altri muscoli inspiratori. (50)

Altro esame da eseguire con una certa regolarità è la polisonnografia, esame non invasivo e senza necessità di cooperazione da parte del paziente, che permette di valutare la ventilazione durante le fasi del sonno. Inoltre la polisonnografia permette di capire definitivamente se c'è l'indicazione ad usare la ventilazione non invasiva. (51)

Per quanto riguarda la gestione delle implicazioni respiratorie in questa patologia, ci si deve occupare di varie questioni: prima di tutto la clearance delle vie aeree e la preservazione della fisiologica crescita della cassa toracica, che risultano essere la prima causa di mortalità e morbilità nei pazienti con SMA. Per questo aspetto si possono usare due tipi di tecniche: una che consiste nell'aumento della tosse, che permette la clearance delle vie aeree centrali, e l'altra per la mobilitazione delle secrezioni, che permette la clearance delle vie aeree più periferiche. La ventilazione a pressione positiva intermittente (IPPB) permette un aumento del volume corrente durante un periodo di particolare debolezza muscolare. Se aumenta il volume corrente sembra che si riesca a migliorare il meccanismo della tosse e preservare la normale crescita polmonare e toracica, prevenendo le deformità della gabbia toracica stessa. E' indicato effettuare la IPPB una o due volte al giorno. Può essere usata anche con bambini piccoli, nonostante sia richiesta una minima compliance. (52)

La ventilazione polmonare percussiva (IPV) è usata invece per la mobilitazione delle secrezioni dalle vie aeree periferiche. Oltre a ciò, essa permette di aprire aree di atalettasia

e migliorare l'omogeneità ventilatoria. Il vantaggio di questa tecnica è che è una terapia passiva per cui può essere eseguita su bambini molto piccoli, compresi i neonati. (46)

L'aspetto centrale nella gestione delle complicanze respiratorie è sicuramente la ventilazione. Lo strumento più utilizzato è la ventilazione non invasiva (NIV) che, nel caso dei pazienti con SMA, aiuta fino a quasi sostituire i muscoli della respirazione in modo da ripristinare il respiro fisiologico e da correggere l'ipoventilazione alveolare. Non ci sono indicazioni precise che specificano quando utilizzare la NIV, ma generalmente si usa inizialmente durante il sonno notturno con l'obiettivo di prevenire l'insufficienza respiratoria acuta diurna. (53) Solo quando si verifica ipercapnia e ipoventilazione durante il giorno, allora è possibile usare la ventilazione non invasiva anche nelle ore diurne. Questa metodica ha effetti collaterali che riguardano soprattutto la pelle a contatto con la maschera, causando irritazione dermatologica, irritazione degli occhi dovuta a perdite d'aria dalla macchina e deformazioni temporanee del viso nei neonati, come un appiattimento generale del massiccio facciale associata a una retrusione mascellare. (54)

In ultima analisi si può usare la tracheostomia, che però è in genere poco tollerata dalla famiglia del paziente. La tracheostomia viene quindi utilizzata quando la qualità di vita del bambino e della famiglia si abbassa troppo nonostante l'utilizzo della NIV, che diventa soltanto un peso nella gestione del bambino.

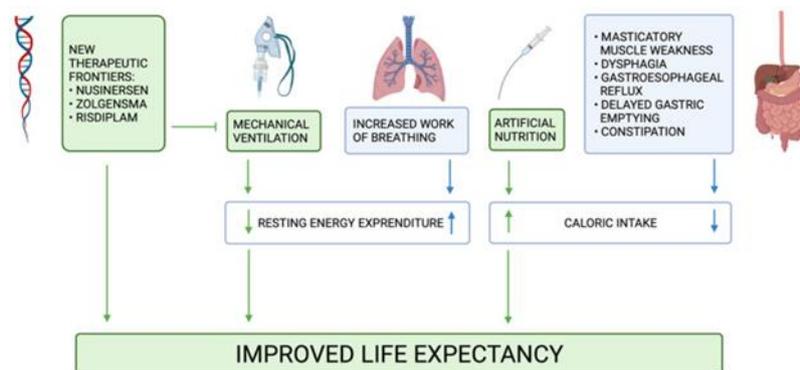


Figura 11: Gestione delle complicanze respiratorie

## 5.4 Ortopediche

Come spesso accade nelle malattie neuromuscolari, la scoliosi è una complicanza che colpisce quasi tutti i pazienti affetti da SMA. In questa patologia però si presenta

precocemente e con un quadro di progressivo peggioramento, rendendo quindi la chirurgia un'opzione praticamente inevitabile. La scoliosi è causata dalla progressiva degenerazione dei muscoli assiali che supportano la colonna vertebrale mantenendola in posizione. (55) Questi gruppi muscolari tra l'altro sono molto importanti nelle fasi della crescita, in quanto è questo il periodo dove si ha un maggior rischio di deviazione della colonna. La scoliosi è una complicanza molto importante da gestire perché, oltre a causare dolore al paziente e a ridurre la sua qualità di vita, ha severe implicazioni su varie funzioni del corpo come la respirazione e la capacità di sedersi o di mantenere l'equilibrio. Questa complicanza insorge principalmente e più precocemente nei soggetti con le forme più gravi come il tipo 1 e il tipo 2 coinvolgendo quasi il 100% dei pazienti. Nella SMA di tipo 3, invece, ha un esordio più tardivo.

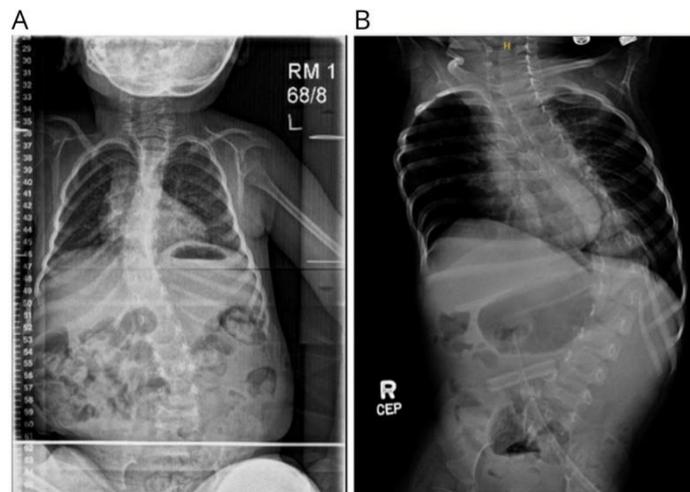


Figura 12: RX rappresentative delle tipiche curve a C e a S

La forma di deviazione della colonna più frequente è a forma di C a livello toracolombare, ma sono state anche descritte curve a S a livello lombare.

Data l'importanza e la diffusione così ampia di questa implicazione ortopedica, nell'ambito del monitoraggio multidisciplinare di questi bambini è indicato eseguire RX alla colonna e una valutazione clinica della stessa almeno una volta all'anno in modo da tenere monitorato il peggioramento della scoliosi e regolare la terapia.

La progressione dell'angolo di scoliosi che avviene in questi pazienti è correlata sicuramente all'età e allo stato funzionale. Riguardo all'età si è osservato in alcuni studi, infatti, che nei pazienti con meno di 5 anni raramente si evidenzia un angolo significativo, mentre dai 5 ai 12 anni si ha una varietà di gradi di deviazione della colonna più o meno

gravi; sopra i 13 anni infine, la maggior parte dei pazienti presenta una scoliosi piuttosto importante. (56)

Per quanto riguarda lo stato funzionale invece si è evidenziato che la capacità di deambulare ha una funzione protettiva. Infatti i pazienti che riescono a camminare autonomamente si sottopongono a interventi di artrodesi in maniera significativamente più tardiva rispetto ai soggetti che non hanno mai raggiunto questa tappa del neurosviluppo.

Come è noto, la scoliosi è una deformità complessa; si ha infatti un'alterazione tridimensionale delle vertebre a livello assiale, frontale e sagittale. A causa di questo fenomeno quindi si ha la flessione tipicamente a forma di C o di S, come sopracitato, e la formazione del gibbo costale a causa della rotazione delle vertebre. (57) Ciò rende quindi più difficile il trattamento di questa importante complicanza. Il trattamento definitivo è quello chirurgico con l'intervento di fusione delle vertebre, detto artrodesi, la cui esecuzione non può essere effettuata troppo precocemente in quanto blocca la crescita della cassa toracica. Di conseguenza si usa il busto che dovrebbe rallentare la progressione di questa condizione, se indossato per almeno 16 ore al giorno. L'artrodesi ha anche indicazione in base all'angolo di curvatura della colonna: si può infatti intervenire quando l'angolo di Cobb è superiore a 50°(58). Tuttavia, nel caso specifico della SMA, spesso la scoliosi è piuttosto precoce e talmente grave da rendere insufficiente l'uso di corsetti. Si poneva quindi in passato la questione di quando fosse più opportuno

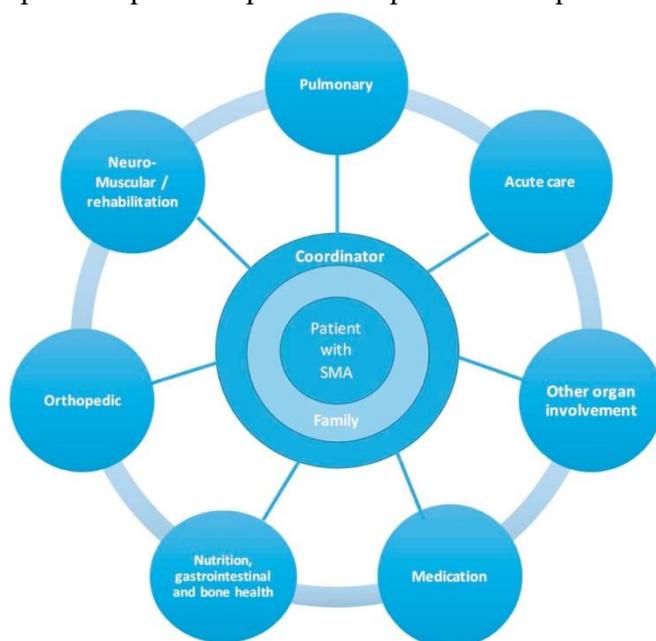


Figura 15: Gestione multidisciplinare della SMA

operare questi pazienti, ma oggi grazie all'introduzione di impianti allungabili che seguono la crescita del bambino, si può eseguire l'intervento in età più precoce. (13)

## 6. Diagnosi

Il processo diagnostico, sulla base del sospetto clinico, si basa sull'elevazione dei valori di creatinichinasi, l'utilizzo dell'elettromiografia e occasionalmente della biopsia muscolare. La diagnosi definitiva è però data dalla genetica che dimostra le alterazioni viste nei capitoli precedenti.

I valori di creatinichinasi non risultano essere estremamente elevati, come invece può succedere in altre patologie quali, per esempio, la distrofia di Duchenne. Saranno infatti meno di 10 volte superiori rispetto ai valori normali. È importante inoltre ricordare che l'elevazione di CK non correla con la gravità o l'andamento della patologia.(5)

Una volta ottenuti i risultati degli esami ematochimici, si procede con l'elettromiografia e gli studi della conduzione nervosa per escludere patologie di altro tipo dalla diagnosi differenziale. L'elettromiografia, a causa della perdita dei motoneuroni delle corna anteriori del midollo, mostra pattern di denervazione, fascicolazioni e alterazioni di potenziali d'azione che si vedono polifasici con ampiezze alterate.(59) Neanche l'elettromiografia si può quindi utilizzare per la diagnosi definitiva perché le alterazioni non sono specifiche di SMA ma posso caratterizzare qualsiasi patologia del motoneurone. E' importante ricordare che la velocità di conduzione sarà normale.

Nella biopsia muscolare, che ad oggi non è quasi più effettuata, si vede atrofia di gruppi di fibre e ipertrofia di quelle rimaste. (5)

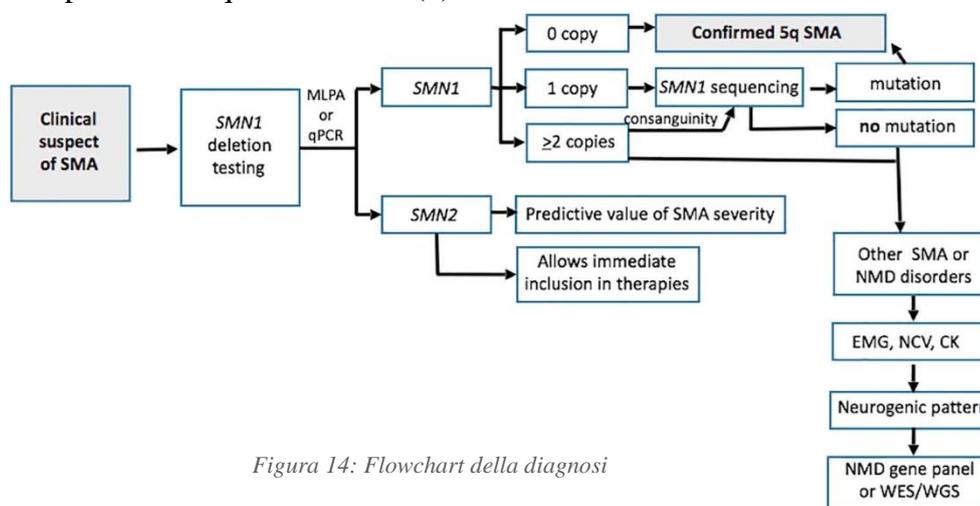


Figura 14: Flowchart della diagnosi

# 7. Le terapie disponibili

Come riportato in (66), gli approcci terapeutici vengono suddivisi in:

- Terapie SMN (Survival Motor Neuron) dipendenti, che agiscono ripristinando il gene SMN1 a livello del DNA, modificando lo splicing di SMN2 a livello di RNA.
- Terapie SMN indipendenti, che hanno come bersaglio terapeutico il motoneurone e il muscolo.

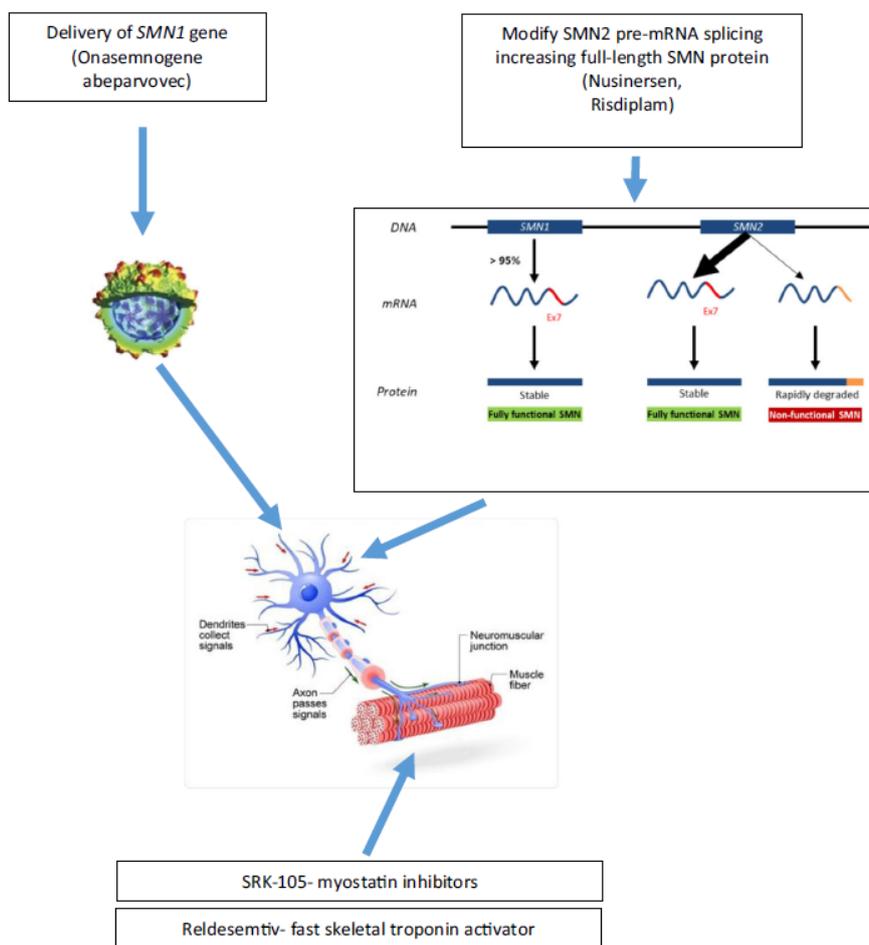


Figura 15: Target delle terapie disponibili

## **7.1 Le Terapie SMN correlate**

### **7.1.1 Modulatori SMN2**

Queste terapie utilizzano lo stesso meccanismo d'azione, che consiste nell'incorporazione dell'esone 7 a livello di trascrizione dell'mRNA del gene SMN2 con produzione di una proteina SMN funzionale.

#### **7.1.1.1 Nusinersen**

L'oligonucleotide-antisense (ASO) Nusinersen (SPINRAZA) è stato il primo trattamento approvato per la SMA.(67) Il suo meccanismo d'azione è l'incorporazione dell'esone 7 nella trascrizione dell'mRNA SMN2, che determina la traduzione di una proteina SMN funzionale.(66)

I profili di sicurezza ed efficacia di questo farmaco sono stati confermati da due studi clinici di fase III: ENDEAR, in cui ci si è maggiormente concentrati sui pazienti con la forma infantile di SMA-I, e CHERISH che ha analizzato prevalentemente i pazienti con SMA ad esordio tardivo, confermando l'efficacia clinica e la sicurezza di Nusinersen. Questi due studi hanno permesso l'approvazione del farmaco da parte degli enti regolatori. Nel 2015 è partito un terzo studio detto NURTURE (ancora in corso), in cui si analizza la sicurezza, l'efficacia, la tollerabilità e la farmacocinetica su neonati presintomatici affetti da SMA con età inferiore a 6 settimane. I risultati ad Interim sembrano confermare l'importanza della somministrazione precoce per massimizzare i benefici del farmaco. Infatti attualmente tutti i pazienti sono vivi senza necessitare di una ventilazione permanente, il 92% ha raggiunto la deambulazione assistita e l'88% in modo indipendente. (68)

In tutti gli studi sopracitati è stato dimostrato che Nusinersen è sicuro e ben tollerato. Non sono infatti stati registrati effetti avversi sistemici significativi, ma solo effetti collaterali secondari alla modalità di somministrazione, intratecale, che sono: cefalea, dolore lombare e infezione del sito di iniezione.

Attualmente Nusinersen è disponibile per tutti i pazienti affetti da SMA, viene somministrato per via intratecale tramite puntura lombare, alla dose di 12 mg (5ml), con 4 iniezioni di carico nei primi due mesi (nei giorni 0, 14, 28 e 63) e poi una dose di mantenimento ogni 4 mesi. (1)

A causa della presenza di grave scoliosi o altri problemi vertebrali, la puntura può risultare difficoltosa, per cui a volte può essere necessario il ricorso a procedure eco o TAC guidate.

### **7.1.1.2 Risdiplam**

Risdiplam è una piccola molecola che ha come meccanismo d'azione quello di modulare lo splicing del pre-mRNA del gene SMN2. Viene somministrata per via orale poiché è in grado di superare la barriera emato-encefalica e favorisce l'incremento dei livelli della proteina SMN a livello centrale e periferico. (66)

Questa molecola è stata studiata durante molte sperimentazioni cliniche, di cui alcune ancora in corso, che ne hanno valutato la sicurezza, l'efficacia e altri fattori. Un primo studio clinico è il FIREFISH, tutt'ora in corso, in cui si valutano pazienti affetti da SMA con un esordio tra 1 e 7 mesi di età con due copie di SMN2. L'obiettivo in questo studio è analizzare la sicurezza, la tollerabilità e l'efficacia del farmaco. Questo trial presenta quindi due parti per studiare tutti gli obiettivi sopracitati. Nella prima parte, si è ricercata la dose ottimale da utilizzare in fase 2. I risultati della parte due sono positivi: dopo 12 mesi di trattamento il 95% (38 su 41) dei pazienti erano vivi, l'85% (35/41) non aveva ventilazione permanente, il 78% (32/41) ha mostrato un significativo miglioramento sulla scala HINE-2 e il 29% (12/41) era in grado di mantenere la posizione seduta per almeno 5 secondi con un miglioramento medio nella scala CHOP-INTEND di 20 punti.(69)

Un altro studio, invece, (SUNFISH) si concentra su pazienti con SMA ad esordio tardivo di età compresa tra i 2 e i 25 anni. Anche in questo caso gli obiettivi primari sono efficacia, sicurezza e tollerabilità di Risdiplam. Lo studio è ancora in corso e i risultati dimostrano un miglioramento significativo della prestazione motoria dei pazienti che hanno assunto il farmaco rispetto al placebo, soprattutto quelli giovani. Si è evidenziata inoltre una maggiore stabilizzazione della malattia nei pazienti più grandi. (70)

L'efficacia e la sicurezza della molecola risdiplam è stata inoltre studiata in pazienti SMA presintomatici in uno studio clinico multicentrico in aperto, a braccio singolo (RAINBOWFISH).

E' infine in corso uno studio in pazienti che hanno ricevuto un precedente farmaco, sia terapia genica che altri modulatori di SMN2 (JEWELFISH).(66)

Grazie ai risultati positivi di questi studi, il farmaco è stato approvato dall'FDA nel 2020 per i pazienti affetti da SMA di età maggiore uguale a 2 mesi. Inoltre, nel 2022 anche AIFA ne ha approvato la vendita in Italia.

## **7.1.2 Ripristino gene SMN1**

### **7.1.2.1 Onasemnogene abeparvovec**

Onasemnogene abeparvovec è farmaco costituito da un virus adeno-associato di sierotipo 9 (AAV9) ricombinante non replicante contenente il gene SMN1 wild-type approvato come terapia genica in una singola dose per la SMA. La sua somministrazione prevede infatti un'unica infusione endovenosa con incremento dell'espressione della proteina SMN. Per valutare la sicurezza e l'efficacia di tale trattamento sono stati condotti vari studi tra cui uno in fase I (START) avviato nel 2014. L'obiettivo primario di questo studio è quello di valutare la sicurezza, e in secondo luogo l'efficacia, di questo trattamento su quindici pazienti affetti da SMA di tipo 1 con un'età compresa tra i 0 e i 6 mesi e due copie del gene SMN2. Durante lo studio sono valutati vari parametri e si è evidenziato che la sopravvivenza a 20 mesi era del 100% e nessuno di loro necessitava di ventilazione meccanica permanente, considerata tale quando utilizzata per più di 16 ore al giorno per almeno 14 giorni consecutivi. Inoltre tutti i pazienti sotto questo regime terapeutico hanno migliorato gli outcome motori e li hanno mantenuti nel tempo. L'efficacia, però, è risultata essere dose dipendente. Infatti tra i 12 pazienti che avevano la dose più alta si è osservato che 11 hanno acquisito la capacità di mantenere la posizione seduta senza supporto per almeno cinque secondi e 11 hanno raggiunto il controllo del capo.

Dieci pazienti tra i 12 che hanno assunto la dose più alta, sono poi stati arruolati in un follow up osservazionale a lungo termine evidenziando un profilo di sicurezza e di efficacia favorevole dopo 6 anni dalla infusione.(66)

Allo stesso tempo, sono stati condotti tre studi clinici di fase III, uno in Europa (STRIVE-EU), uno negli Stati Uniti (STRIVE) e uno in Asia. Anche in questo caso l'obiettivo primario era di valutare la sicurezza e efficacia di Onasemnogene abeparvovec, però in ampie coorti di pazienti affetti da SMA-I con età compresa tra gli 0 e i 6 mesi e con una o due copie del gene SMN2.

Gli effetti avversi più comuni riportati dai pazienti che sono stati trattati con Onasemnogene abeparvovec sono aumento dei livelli di transaminasi, piastrinopenia e vomito con un'incidenza maggiore del 5%. Anche per questo motivo, prima di somministrare Onasemnogene abeparvovec, è necessario prestare alcuni accorgimenti: la ricerca di anticorpi anti AAV9, perché l'eventuale presenza preclude la possibilità di sottoporsi al trattamento, la somministrazione di prednisolone orale dal giorno prima dell'iniezione a trenta giorni dopo e lo stretto monitoraggio della funzione epatica, della conta delle piastrine e della Troponina-I prima della somministrazione del farmaco fino almeno a tre mesi dopo. (1) Grazie agli studi condotti su questo farmaco la terapia genica è stata approvata nel 2019 dall'FDA per pazienti SMA con età inferiore ai 2 anni al momento del dosaggio e nel 2020 dall'EMA per il trattamento di pazienti affetti da SMA con mutazione biallelica nel gene SMN1 e con un massimo di tre copie del gene SMN2. In Italia il farmaco è stato approvato dall'AIFA a Luglio del 2021.

Il dosaggio raccomandato è disponibile solo per i pazienti fino a 21,0 kg.

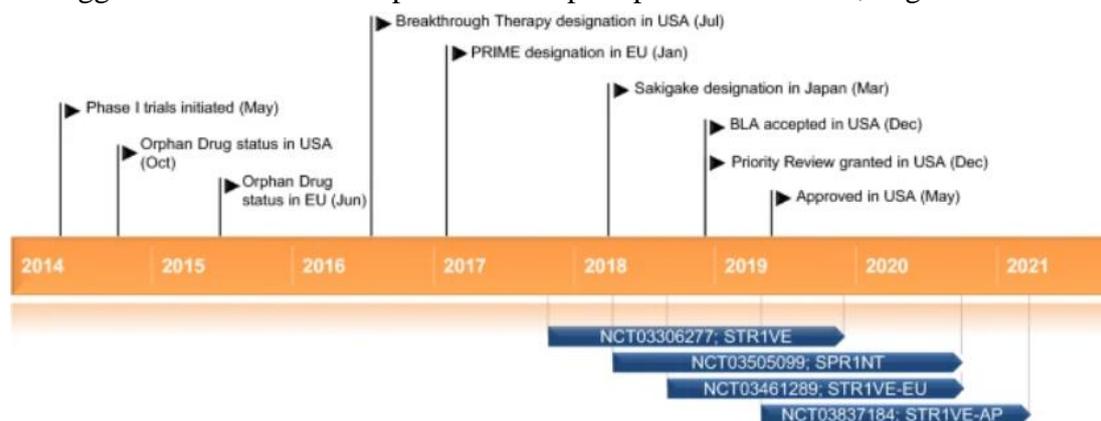


Figura 16: Studi che hanno permesso l'approvazione di onasemnogene aboparvovec

## 7.2 Terapie non SMN correlate

Fanno parte di questa categoria di farmaci tutte quelle molecole che non agiscono sul complesso SMN, ma agiscono attivando o inibendo specifici pathways che permettono neuroprotezione del motoneurone o potenziamento sulla fibra muscolare.

### 7.2.1 Neuroprotezione: Olesoxime

Per quanto riguarda i percorsi che determinano la neuroprotezione possiamo citare una piccola molecola, l'Olesoxime. Questo è una piccola molecola con una struttura simile al

colesterolo, con effetti neuroprotettivi e neuro rigenerativi. Nonostante i primi studi condotti su modelli murini sembrassero promettenti, analisi più recenti hanno evidenziato che esso non porta cambiamenti significativi sulla funzione motoria.

## **7.2.2 Potenzamento muscolare**

### **7.2.2.1 Apitegromab**

Apitegromab è un anticorpo monoclonale che agisce inibendo la miostatina, promuovendo la crescita e la differenziazione delle cellule muscolari. (71) Grazie ai risultati positivi degli studi condotti su modelli murini, sono stati avviati vari studi tra cui uno di fase 2 (TOPAZ). Questo trial, ormai concluso, ha dimostrato l'efficacia e la sicurezza dell'anticorpo su pazienti non deambulanti affetti da SMA-II e SMA-III di età compresa tra i 2 e i 21 anni con somministrazione endovenosa mensile. (72)

### **7.2.2.2 Reldesemtiv**

Reldesemtiv è invece un attivatore selettivo della troponina nei muscoli a fibre a contrazione veloce. In particolare questa molecola sensibilizza il sarcomero al calcio, aumenta l'affinità della troponina C al calcio e rende più vigorose le contrazioni, rallentando o riducendo la comparsa della fatica. (73) Su questo farmaco è stato condotto uno studio di fase II. In questa sperimentazione due coorti di pazienti con SMA di tipo II-IV vengono trattate con dosaggio giornaliero sempre maggiore per via orale. Il gruppo con un dosaggio più elevato ha dimostrato una tendenza generalizzata ad un aumento del test del cammino di 6 minuti (6MWT) e dei valori di massima pressione espiratoria. (74)

## **7.3 Terapie di editing genetico**

L'editing genetico è una nuova tecnologia che corregge gli errori genetici agendo direttamente sulla molecola di DNA, senza doverne fornire una copia sana dall'esterno, come nel caso della terapia genica. Il sistema attualmente più utilizzato è quello del Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats - associated (CRISPR/Cas), grazie al quale si può creare una rottura sulla doppia elica di DNA. Questo taglio viene fatto attraverso l'impiego sinergico di una singola guida di RNA (sgRNA) che si lega alla sequenza di DNA da correggere, e un endonucleasi (Cas) che si occupa dell'azione di

taglio. Le endonucleasi più comuni sono SpCas9 o SaCas9, che originano rispettivamente dai batteri *Streptococcus Pyogenes* e *Staphylococcus Aureus*. Il veicolo di somministrazione di CRISPR/Cas9 è rappresentato solitamente da virus adeno-associati (AAVs). Il principale svantaggio dei virus adeno-associati è la limitata capienza massima, che è di 4,7 kb, in cui solo la caspasi spCas9 misura 4 kb. Questo problema, però può essere risolto con l'impiego di un'altra caspasi di dimensioni ridotte, come saCas9.

Nel caso specifico della SMA, l'editing genetico è utilizzato per correggere lo splicing alterato del gene SMN1. Agisce quindi con lo stesso meccanismo dei modulatori dello splicing: Nusinersen e Risdiplam. Attualmente sono stati condotti studi su cellule staminali pluripotenti (iPSCs) e in un modello murino della patologia con fenotipo grave (Smn<sup>-/-</sup>; SMN2tg<sup>-/-</sup>), con risultati fin qui promettenti. Infatti lo studio sul modello murino CRISPR/Cas9 ha determinato un allungamento della sopravvivenza di circa 400 giorni nei topi trattati.

I vantaggi di questa terapia, come si può intuire, sono vari: essa può ad esempio permettere la modifica del DNA nel sito di origine o la somministrazione in singola dose. Nonostante ciò, esistono alcuni svantaggi: la possibilità che Cas9 riconosca sequenze diverse da quella bersaglio, e quindi introduca dei cambiamenti off-target con rischio cancerogeno, e il rischio di immunogenicità elicitata dalle endonucleasi spCas9 e saCas9.

(66)

## **7.4 Le misure di outcome motorio**

Per valutare la storia naturale della SMA nel corso degli ultimi anni sono state pubblicate e validate differenti scale motorie che si distinguono l'una dall'altra in base agli item analizzati e all'età dei pazienti.

Queste scale vengono attualmente utilizzate anche per testare l'efficacia di nuove terapie.

### **7.4.1 CHOP-INTEND: Children's Hospital Of Philadelphia**

La principale scala di valutazione motoria utilizzata nei pazienti SMA 1 è la CHOP-INTEND (Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders). Il suo utilizzo in ambito neuromuscolare e in particolare nel paziente affetto da SMA 1 è stato validato nel 2011. Essa consiste di 16 item motori (movimenti spontanei degli arti superiori e inferiori, rotolamento, controllo del capo, tono assiale), ciascuno dei quali

analizza una specifica funzione motoria e a cui viene assegnato un punteggio da 0 a 4, dove 0 corrisponde a non risposta, mentre 4 è uguale a risposta completa. Il punteggio totale avrà quindi un range che varia da 0 a 64: più è alto il punteggio migliori sono le capacità funzionali del paziente. (60)

Il test tiene conto anche dello stato emotivo-comportamentale e di coscienza in cui il bambino si trova al momento della valutazione:

- Stato 1: sonno profondo,
- Stato 2: sonno attivo,
- Stato 3: stato di dormiveglia o indeterminato (il livello di attività è variabile, movimenti di lieve sorpresa successivi alla stimolazione sensoriale);
- Stato 4: veglia tranquilla (attività motoria minima);
- Stato 5: veglia attenta;
- Stato 6: pianto.

#### **7.4.2 HINE: Hammersmith Infant Neurological Examination**

HINE-2, acronimo di Hammersmith Infant Neurological Examination; è stata introdotta per valutare i bambini tra i 2 e i 24 mesi di vita. Consiste di 37 items, suddivisi in tre sessioni. La prima sessione include 26 skills per la valutazione della funzione dei nervi cranici, della postura, dei movimenti, del tono e dei riflessi osteotendinei. La seconda parte ha l'obiettivo di valutare le tappe dello sviluppo motorio raggiunte (controllo di capo, tronco, deambulazione, rotolamento, prensione) e l'ultima sessione valuta la collaborazione al test e la sintonia con l'esaminatore. Ogni item è valutato con un punteggio che va da 0 a 3 punti. (62)

#### **7.4.3 HMFSE: Hammersmith Functional Motor Scale Expanded**

HFMSE, acronimo di Hammersmith Functional Motor Scale-Expanded, è uno strumento utilizzato soprattutto in pazienti che hanno un'età superiore ai 2 anni. Questa scala valuta 33 diverse funzioni motorie come la capacità di sedersi, rotolare, gattonare, raggiungere la posizione eretta, inginocchiarsi, saltare e altro. Ad ogni tappa motoria viene assegnato un punteggio di 0, che indica l'incapacità di svolgere il compito, 1 quando il movimento

è possibile ma con compenso, e 2, che rappresenta la capacità massima di eseguire l'azione motoria. Il punteggio totale si ottiene, anche in questo caso, sommando i risultati dei singoli elementi analizzati e varia da 0 a 66, con i punteggi più alti che indicano una scarsa funzione motoria. (63).

#### **7.4.4 RULM: Revised Upper Limb Module for SMA**

La RULM, acronimo per Revised Upper Limb Module, è una scala valutativa frutto della revisione della ULM, Upper Limb Module (64). Essa è stata concepita per valutare il movimento degli arti superiori in soggetti deambulanti e non deambulanti affetti da SMA 2 e 3, nell'infanzia e nella vita adulta. È in grado di cogliere il progressivo indebolimento muscolare nell'intero spettro della malattia. Si può usare sia sui pazienti definiti come non sitters che sitters, ma anche walkers. Questa scala include valutazioni atte a rilevare la forza muscolare, lo sviluppo psicomotorio, la presenza di retrazioni e di limitazioni posturali. Gli elementi che misurano le prestazioni motorie si riferiscono ad attività funzionali significative della vita quotidiana. Ad alcuni di essi vengono assegnati un massimo di 3 punti, mentre altri ne vengono assegnati 2 per un totale di 37 punti.(65) Ciascun Item viene testato sul lato destro e sul lato sinistro; nei pazienti deambulanti dovrebbe essere utilizzata una sedia con schienale ma senza braccioli

Nell'ambito di questa tesi la scala utilizzata per valutare i progressi dei pazienti è stata la CHOP INTEND, di seguito riportata per riferimento:

The Children's Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders						
CHOP INTEND						
Name: _____		Diagnosis: _____		Gestational age: _____ weeks		
Medical Record Number: _____		Date of Birth: _____		Age _____		
Date of Evaluation: ___/___/___		Time of evaluation: _____		Time since last feeding: _____		
Current health: Good health <input type="checkbox"/> URI <input type="checkbox"/> Other illness <input type="checkbox"/> : _____ Recent surgery <input type="checkbox"/> : _____						
Feeding support: None <input type="checkbox"/> Nasogastric Tube <input type="checkbox"/> Gastrostomy Tube <input type="checkbox"/>						
Respiratory support: None <input type="checkbox"/> BiPAP <input type="checkbox"/> for _____ hours/day _____ Time off BiPAP at testing _____						
	Position	Test Procedure	Graded Response		Score	
<b>1</b> Spontaneous movement (Upper extremity)	Supine	<u>Observe throughout testing</u>  May unweight limb or stimulate infant to facilitate response	Antigravity shoulder movement (achieves elbow off surface)	4	L     R	Best side:     Brazelton State:
			Antigravity elbow movement (achieves hand and forearm off surface)	3		
			Wrist movement	2		
			Finger movement	1		
			No movement of limbs	0		
<b>2</b> Spontaneous movement (Lower extremity)	Supine	<u>Observe throughout testing</u>  May unweight limb or stimulate infant to facilitate response	Antigravity hip movement (achieves feet and knees off surface)	4	L     R	Best side:     Brazelton State:
			Antigravity hip adduction/internal rotation (knees off surface)	3		
			Active gravity eliminated knee movement	2		
			Ankle movement	1		
			No movement of limbs	0		
<b>3</b> Hand grip	Supine	Grip strength: place finger in palm and lift until shoulder comes off surface observe when infant loses grasp  May use toy of similar diameter for older children	Maintains hand grip with shoulder off bed	4	L     R	Best side:     Brazelton State:
			Maintains grip with elbow off surface (shoulders on surface)	3		
			Maintains grip with forearm off surface (elbow supported on surface)	2		
			Maintains grip only with no traction	1		
			No attempt to maintain grasp	0		
<b>4</b> Head in midline with visual stimulation*	Supine head midline	Visual stimulation is given with toy.  <i>If head is maintained in midline for 5 seconds:</i> Place head in maximum available rotation and provide visual stimulation to encourage midline	Rotates from maximum rotation to midline	4	L>R     R>L	Best side:     Brazelton State:
			Turns head part way back to midline	3		
			Maintains midline for 5 or more seconds	2		
			Maintains midline, less than 5 seconds	1		
			Head falls to side, no attempts to regain midline	0		
<b>5</b> Hip adductors	Supine, no diaper	Hips flexed and adducted  Feet hip width apart and thighs parallel, knees slightly apart	Keeps knee off surface of bed > 5 sec or lifts foot off surface	4	L     R	Best side:     Brazelton State:
			Keeps knees off surface of bed 1-5 sec	2		
			No attempt to maintain knees off surface	0		

Figura 17: primi 5 punti della scala CHOP INTEND

<b>6</b>  Rolling: elicited from legs*	Supine (arms at side) Keep side tested up roll away from the  Side tested	1. Holding infant's lower thigh, flex hip and knee and adduct across midline bringing pelvis vertical  maintain traction and <b>pause in this position.</b> 2. If infant rolls to side apply traction at a 45° diagonal to body and pause to allow infant to attempt to derotate body	When traction is applied at the end of the maneuver, rolls to prone with lateral head righting	4	To R	Best side:  Brazelton State:
			Rolls through side lying into prone without lateral head righting, clears weight-bearing arm to complete roll	3		
			Pelvis, trunk and arm lift from support surface, head turns and rolls onto side, arm comes thru to front of body	2		
			Pelvis and trunk lift from support surface and head turns to side. Arm remains behind trunk	1		
			Pelvis lifted passively off support surface.	0		
<b>7</b>  Rolling: elicited from arms*	Supine (arms at side) Keep side tested up roll away from the  Side tested	1. Hold infant at the elbow move toward opposite shoulder maintain traction on limb and <b>pause with the shoulders vertical</b> allow infant to derotate 2. if the pelvis achieves vertical continue to provide traction	Rolls to prone with lateral head righting	4	To R	Best side:  Brazelton State:
			Rolls into prone without lateral head righting; must clear weight-bearing arm completely to finish roll	3		
			Rolls onto side, leg comes thru and adducts, bringing the pelvis vertical	2		
			Head turns to side and shoulder and trunk lift from surface	1		
			Head turns to side; body remains limp or shoulder lifts passively	0		
<b>8</b>  Shoulder and elbow flexion And horizontal abduction	Side-lying with upper arm at 30° of shoulder extension and elbow flexion and supported on body (restrain lower arm if needed)	Prompt reach for a toy presented at arms length at shoulder level (may provide stimulation and <b>observe spontaneous movement</b> )	Clears hand from surface with antigravity arm movement	4	L	Best side:  Brazelton State:
			Able to flex shoulder to 45 degrees, without antigravity arm movement	3		
			Flexes elbow after arm comes off body	2		
			Able to get arm off body	1		
			No attempt	0		
<b>9</b>  Shoulder flexion & Elbow flexion	Sitting in lap or on mat with head and trunk support (20° recline)	Present stimulus at midline and at shoulder level at arms length (may provide stimulation and <b>observe spontaneous movement</b> )	Abducts or flexes shoulder to 60 degrees	4	L	Best side:  Brazelton State:
			Abducts or flexes shoulder to 30 degrees	3		
			Any shoulder flexion or abduction	2		
			Flexes elbow only	1		
			No attempt to lift arm	0		
<b>10</b>	Sitting in lap or over edge of mat with head and trunk support (20° recline) thigh horizontal to ground	Tickle plantar surface of foot Or gently pinch toe	Extends knee to > 45 degrees	4	L	Best side:  Brazelton State:
			Extends knee 15 to 45 degrees	2		
			Any visible knee extension	1		
			No visible knee extension	0		

Figura 18: punti dal 6 al 10 della scala CHOP INTEND

<b>11</b> Hip flexion and foot dorsiflexion	Hold infant against your body with legs free, facing outward. Support at the abdomen with the child's head resting between your arm and thorax	Stroke the foot or pinch the toe	Hip flexion or knee flexion > 30°	4	L R	Best side:  Brazelton State:
			Any hip flexion or knee flexion	3		
			Ankle dorsiflexion only	2		
			No active hip, knee or ankle motion	0		
<b>12</b> Head control*	Sitting with support at the shoulders and trunk erect	Place the infant in ring sit with head erect and assistance given at the shoulders (front and back).  <i>(may delay scoring a grade of 1 and 4 until end of test)</i>	Attains head upright from flexion and turns head side to side	4		Score:  Brazelton State:
			Maintains head upright for >15 sec (for bobbing head control score a 2)	3		
			Maintains head in midline for >5 sec. with the head tipped in up to 30° of forward flexion or extension	2		
			Actively lifts or rotates head twice from flexion within 15 seconds (do not credit if movement is in time with breathing)	1		
			No response, head hangs	0		
<b>13</b> Elbow flexion Score with item 14	Supine	<b>Traction response:</b> pull to sit extend arms at 45 degree angle, to point of nearly lifting head off surface	Flexes elbow	4	L R	Best side:  Brazelton State:
			Visible biceps contraction without elbow flexion	2		
			No visible contraction	0		
<b>14</b> Neck Flexion Score with item 13	Supine	<b>Traction response:</b> hold in neutral proximal to wrist and shoulder at 45°, to point of nearly lifting head off surface	Lifts head off bed	4		Score: Brazelton State:
			Visible muscle contraction of SCM	2		
			No muscle contraction	0		
<b>15</b> Head/Neck Extension (Landau)	Ventral suspension: Prone, held in one hand upper abdomen	Stroke along the spine from neck to sacrum. The coronal axis of the head when parallel to the bed surface = 0 degrees (horizontal)	Extends head to horizontal plane or above	4		Score: Brazelton State:
			Extends head partially, but not to horizontal	2		
			No head extension	0		
<b>16</b> Spinal Incurvation (Galant)	Ventral suspension: Prone, held in one hand upper abdomen	Stroke Right then Left throacolumbar paraspinals or tickle abdomen or foot or tilt in infants with integrated Galant  For infant over 10 kg knees and head may touch	Twists pelvis towards stimulus off axis	4	L R	Best side:  Brazelton State:
			Visible paraspinal muscle contraction	2		
			No response	0		
<b>Total score, best score on each side for each item (maximum 64 points):</b>						

Figura 19: punti da 11 a 16 della scala CHOP INTEND

## 7.5 Screening neonatale

L'atrofia muscolare spinale è la seconda malattia genetica dopo la fibrosi cistica e prima che fossero introdotte le moderne terapie rappresentava la principale causa di morte per patologia genetica.

Grazie all'introduzione delle attuali terapie come l'editing genetico, Nusinersen e Risdiplam, la prognosi dei pazienti affetti da questa patologia è radicalmente cambiata.(31)

Un numero sempre maggiore di ricerche dimostra che le cure hanno un maggior effetto se somministrate prima della comparsa dei sintomi, prima della perdita irreversibile della funzionalità dei neuroni. È il caso dello studio di fase due NURTURE (68), che ha dimostrato che usando Nusinersen in epoca presintomatica nella maggior parte dei casi viene raggiunta la posizione seduta senza supporto e, con poche eccezioni, anche la capacità di camminare in modo indipendente. Altri recenti trials clinici (77) hanno dato risultati simili anche per Onasemnogene abeparvovec e Risdiplam. Inoltre è stato dimostrato in questi stessi, che i farmaci non solo migliorano la qualità di vita dei pazienti, ma hanno un effetto più prolungato quando la somministrazione inizia in epoca presintomatica.

Da questo si può dedurre il principale vantaggio che porta l'introduzione dello screening neonatale, che dovrebbe essere effettuato attraverso la ricerca della mutazione del DNA nel sangue che viene prelevato dal tallone del neonato nelle sue prime 48 ore di vita(78): individuare subito dopo la nascita i neonati affetti e cominciare il prima possibile la somministrazione della terapia.

Nonostante siano chiari i vantaggi delle terapie somministrate con un certo anticipo sulla presentazione dei sintomi, è in discussione quanto precocemente sia necessario intervenire. Nel caso dei pazienti affetti da SMA di tipo 1, in cui i sintomi compaiono alquanto rapidamente, nei primi 3 - 6 mesi di vita si perde la maggior parte delle funzioni motorie (79). Questo rende la finestra terapeutica piuttosto ristretta, tanto che in alcuni trials si raccomanda addirittura di cominciare durante il primo mese di vita del neonato e, quando possibile, anche dopo una settimana dopo il parto(80). Meno definita è la finestra terapeutica per le forme meno gravi di malattia, come nel caso di SMA-2 o SMA-3. Alcuni studi (80) pongono il limite di 12 anni per cominciare a trattare i pazienti in modo comunque precoce.

Il concetto che è stato evidenziato in varie ricerche (81) è che la terapia dovrebbe essere somministrata quando i motoneuroni sono ancora vitali o quantomeno dovrebbe avere l'obiettivo di preservare la funzionalità di SMN durante lo sviluppo cellulare e dei motoneuroni.

Per questo motivo risulta fondamentale l'introduzione dell'atrofia muscolare spinale all'interno delle malattie ricercate con lo screening neonatale, nonostante questo non sia in grado attualmente di identificare le mutazioni puntiformi che caratterizzano una quota minoritaria di questi pazienti.

## 8. Materiali e metodi

In questa Tesi sono stati descritti i Case Reports di 3 pazienti affetti da SMA di tipo 1 afferenti all'IRCCS Giannina Gaslini dal momento della diagnosi a 2 settimane/6 mesi di vita.

Per ognuno di essi sono stati raccolti i dati anamnestici:

- Data di nascita;
- Anamnesi patologica remota e fisiologica;
- Data della diagnosi;
- Data in cui è stata eseguita terapia genica;
- Età al momento della diagnosi e della somministrazione di terapia genica.

Sono stati poi descritti i progressi neuromotori, neurofisiologici e psicomotori al follow-up fino alla visita più recente a 18/24 mesi dalla terapia.

Per quanto riguarda l'andamento dell'aspetto neuromotorio sono state utilizzate le scale di valutazione CHOP INTEND e HINE-2 quando i pazienti avevano un'età minore di 24 mesi. Quando invece hanno superato i 2 anni, sono state somministrate le scale valutative HMFSE e RULM. Con queste scale di valutazione motoria è quindi stato possibile obiettivare l'acquisizione delle tappe motorie dopo la terapia.

Per quanto concerne l'aspetto neurofisiologico, sono state raccolte tutte le elettromiografie eseguite e si è valutato il progresso tramite l'ampiezza del Potenziale d'Azione Motorio composto (cMAP) del nervo ulnare destro e sinistro.

Dal punto di vista psicomotorio sono state prese in analisi lo sviluppo delle abilità del gioco, del linguaggio, della socialità e della capacità prensile delle mani.

## 9. Case report 1

Paziente di sesso maschile nato a termine da una gravidanza apparentemente normocondotta. Anche il periodo neonatale appare fisiologico.

All'età di 6 mesi il bambino si presenta all'attenzione dei medici per ipotonia inviato dal medico di medicina generale per una valutazione. Alla visita il paziente si caratterizza per una scarsa movimentazione volontaria, fascicolazioni linguali, riflessi osteotendinei non elicetabili né agli superiori né a quelli inferiori, mancato controllo del capo, incapacità di compiere movimenti antigravitari con gli arti inferiori e una conformazione a campana del torace.

Viene quindi posta diagnosi di SMA di tipo uno con 3 copie del gene SMN2 e a 7 mesi di vita si sottopone alla prima infusione di Nusinersen.

### 9.1 Outcome neuromotorio

Alla prima infusione intratecale di Nusinersen il paziente si presenta dal punto di vista neuromotorio con ipotonia diffusa, abilità di ruotare il capo sul piano di appoggio nonostante la tendenza a mantenerlo deviato verso sinistra. Oltre a ciò però il controllo del capo è scarso e non vi è la possibilità per il paziente di compiere movimenti volontari in particolare con gli arti inferiori. I riflessi osteotendinei non sono elicetabili. Il piccolo viene infine sottoposto alle scale di valutazione motoria CHOP INTEND, HINE e WHO in cui SM ottiene rispettivamente i punteggi di 25 su 64, 2 u 26 e 0 su 6.

Nei successivi due mesi il paziente si sottopone alle restanti 3 infusioni intratecali di Nusinersen e si valuta il progresso motorio somministrando la scala CHOP INTEND.

Dopo 2 mesi dall'ultima somministrazione di Nusinersen, quando il paziente ha 10 mesi di vita, gli viene somministrata finalmente la terapia genica. In questa sede, al tempo 0 dalla terapia SM si presenta in grado di compiere movimenti antigravitari con l'avambraccio ma non con il braccio ed è inoltre in grado di manipolare piccoli oggetti. Oltre a questi sviluppi il resto delle abilità è rimasto sostanzialmente invariato: non elicetabili i riflessi osteotendinei, scarso controllo del capo in posizione verticale, impossibili i movimenti antigravitari degli arti inferiori ma ne è migliorata la mobilità. Il punteggio finale ottenuto durante questa valutazione è di 43 su 64.

A un anno di vita il paziente torna al controllo per la valutazione a 2 mesi dalla terapia. In questa sede il bambino ha migliorato il controllo del capo in quanto lo anticipa durante la trazione e ne ha un buon controllo anche durante la posizione seduta. Dal punto di vista degli arti inferiori è in grado di compiere dei movimenti antigravitari sia con gli arti superiori che inferiori. Oltre a ciò il paziente è in grado di mantenere la posizione seduta imposta con un minimo appoggio. In questa sede il punteggio della scala di valutazione motoria CHOP INTEND è di 49 su 64.

Successivamente il paziente si presenta per un controllo dopo 7 mesi dalla terapia. Alla valutazione si riscontra un miglioramento del controllo del capo e del tronco in posizione

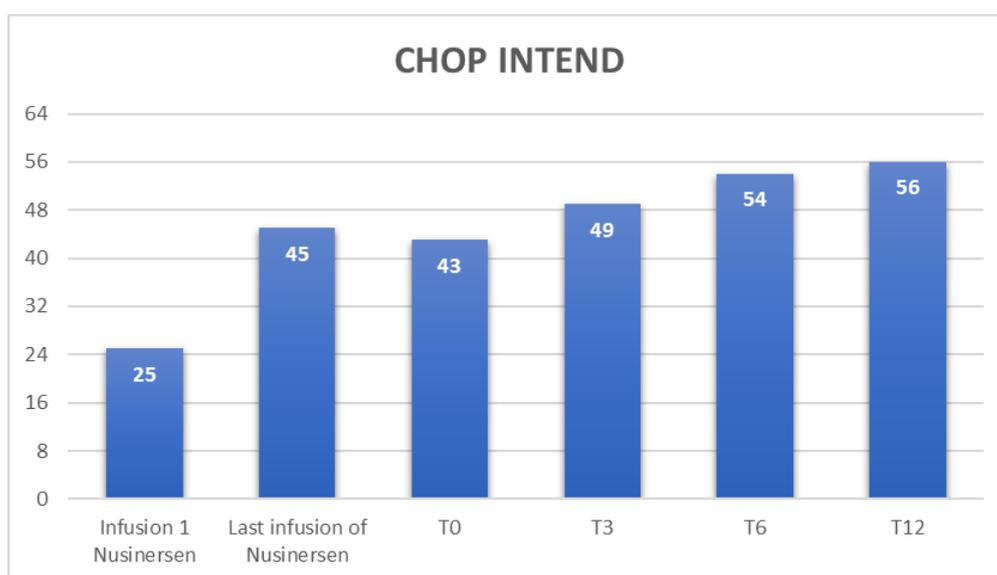


Figura 20: Andamento dei punteggi della scala CHOP INTEND prima e dopo la terapia genica

seduta. Il piccolo è in grado, infatti, di mantenere la posizione seduta imposta in autonomia, di compiere i rotoli, di compiere movimenti antigravitari sia con gli arti superiori che inferiori. Risulta anche migliorata la funzionalità degli arti superiori. Tutti questi miglioramenti permettono a SM di ricevere un punteggio di 54 su 64 alla CHOP INTEND.

Al controllo dopo 1 anno dalla terapia, il bambino si presenta non del tutto collaborante.

Dal punto di vista neuromotorio non si è in grado di completare la valutazione ma si evidenzia l'acquisizione dell'abilità di sollevare il capo dalla massima flessione in posizione seduta e il miglioramento dell'autonomia globale del bambino grazie anche alla carrozzina manuale che il piccolo usa in autonomia.

### CONTROLLO DEL CAPO



Figura 21: Andamento del controllo del capo dopo la terapia genica

Il punteggio della scala CHOP INTEND è di 56 su 64 sebbene questo dato non sia completo a causa della poca tolleranza da parte del paziente durante la valutazione.

A 18 mesi dalla terapia, il paziente torna all'attenzione dei medici e dal punto di vista neuromotorio si presenta sostanzialmente stabile, però in questa sede non viene più somministrata la scala di valutazione CHOP INTEND a causa dell'età del bambino che a questo punto ha 2 anni e 5 mesi.

### MOVIMENTI DEGLI ARTI



Figura 22: Andamento dei movimenti degli arti dopo la terapia genica

Viene quindi proposta la scala di valutazione motoria HFMSE in cui ottiene un punteggio di 16 su 66. Questo dato però va inserito nel contesto della poca collaborazione del paziente.

All'ultima visita a 23 mesi dalla terapia, il quadro neuromotorio si dimostra globalmente migliorato: SM riesce a sollevare gli arti inferiori dal piano di appoggio, mantiene la posizione seduta in cifosi, i rotoli sono ben eseguiti e si mostra più collaborativo alla visita. Nonostante ciò si riscontrano delle iniziali retrazioni a livello delle ginocchia e la perdita di equilibrio del bambino se questo in posizione seduta porta gli arti superiori alle spalle. In questa sede vengono somministrate le scale HFMSE e RULM in cui il paziente ottiene rispettivamente 13 su 66 e di 15 su 40. Anche in questo caso i punteggi vanno inseriti nel contesto della poca collaborazione del paziente a sottoporsi alle prove delle scale di valutazione.

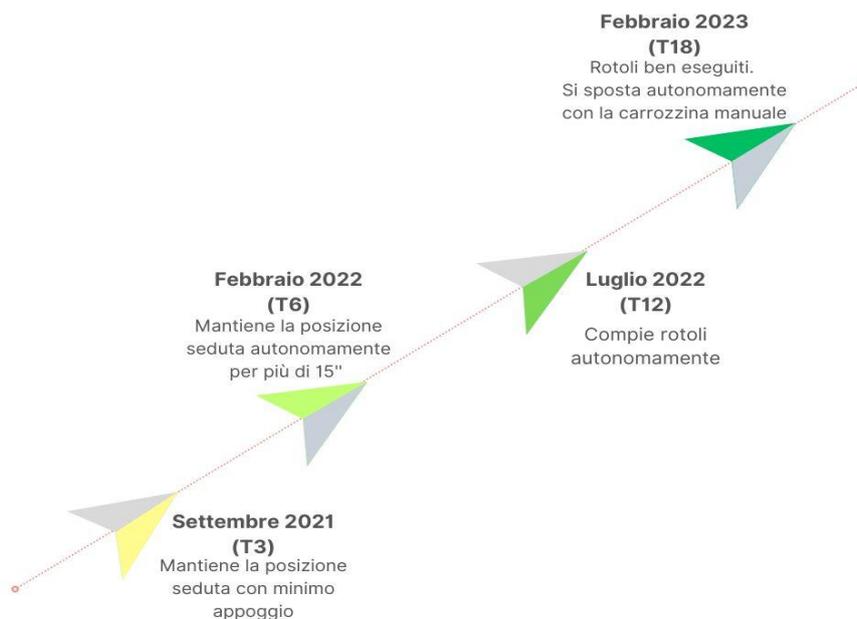


Figura 23: Acquisizione delle tappe motorie nel tempo

## 9.2 Outcome neurofisiologico

In corrispondenza della prima infusione di Nusinersen, viene eseguita una elettromiografia in cui si evidenzia che alla stimolazione del segmento motorio del nervo ulnare destro l'ampiezza di cMAP è di 0.2 mV, significativamente ridotto rispetto ai valori fisiologici di 1mV.

La stessa indagine viene riproposta in corrispondenza dell'inizio della terapia genica. In questo caso si riscontra una sostanziale stabilità della conduzione motoria del nervo ulnare destro. La stessa stabilità viene dimostrata a Settembre dello stesso anno quando viene ripetuto l'esame.

Dopo 6 mesi dalla terapia si nota invece un miglioramento, seppur lieve, nell'ampiezza di cMAP del nervo ulnare destro che risulta di 0.4 mV.

Infine anche a 1 anno dalla terapia si dimostra un lieve miglioramento dell'ampiezza di cMAP a livello del nervo ulnare destro, che in questo caso è di 0.7 mV. Permettendo anche in questo campo di obbiettivare i miglioramenti ottenuti grazie alla terapia.

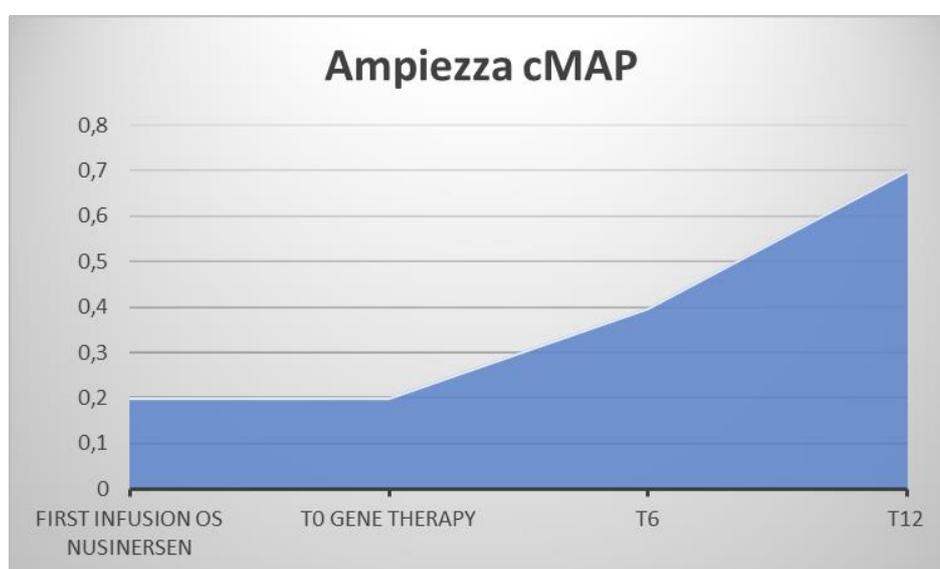


Figura 24: Andamento ampiezza cMAP nervo ulnare destro

### 9.3 Outcome psicomotorio

Il piccolo effettua solo una visita psicomotoria quando il paziente ha 18 mesi, in cui si riscontra un'intersoggettività rappresentata da uno sguardo discontinuo ma comunicativo nel momento in cui lo concede. Il bambino non privilegia il contatto visivo. Il linguaggio al momento della visita è caratterizzato principalmente dalla lallazione, mentre il gioco è funzionale con entrambe le mani nonostante le difficoltà causate dalla situazione clinica. Ad un anno dalla terapia, si evidenzia un miglioramento nella continuità dello sguardo del bambino e l'acquisizione dell'abilità di prensione a pinza superiore. Successivamente, all'età di 2 anni e un mese, il piccolo ha sviluppato anche la capacità di produrre alcune parole di significato semantico.

## 10. Case report 2

Paziente di sesso femminile nata a seguito di una gravidanza a termine. La madre della paziente riferisce di aver sempre percepito i movimenti fetali nel corso della gravidanza. Durante il periodo neonatale si segnala un buon accrescimento sia dal punto di vista staturale che ponderale e una alimentazione valida.

La bambina giunge all'attenzione dei medici in quanto presenta una scarsa mobilità agli arti inferiori e la suzione, nonostante sia valida, è caratterizzata da pause frequenti per il ristagno di del pasto lattaceo.

Per questo motivo MC giunge all'attenzione dei medici all'età di 3 mesi e alla valutazione dal punto di vista neuromotorio si presenta con fascicolazioni linguali, tono muscolare ridotto agli arti inferiori, che sono abdotti e flessi. Si sottolinea inoltre una lieve ipotrofia sia al cingolo scapolare che agli arti inferiori. Oltre a ciò, la bambina non è in grado di compiere movimenti antigravitari con gli arti inferiori, che MC non riesce a sollevare dal piano di appoggio. I riflessi osteotendinei non risultano evocabili.

In questa sede viene somministrata alla piccola la scala valutativa CHOP INTEND e le viene assegnato il punteggio di 29 su 64. In questa sede viene anche posta diagnosi di SMA di tipo1 con 2 copie del gene SMN2. A questo punto, dopo aver informato i genitori e dopo aver appurato l'assenza di anticorpi anti adenovirus, si decide di sottoporre alla paziente la terapia genica con onasemnogene abeparovec in data all'età di 4 mesi.

### 10.1 Outcome neuromotorio

L'incontro successivo ha luogo circa due mesi dopo la terapia, quando la paziente ha circa 5 mesi. Alla visita si osserva un miglioramento soprattutto nell'ambito del capo. La piccola infatti ne dimostra un miglior controllo durante l'esecuzione dei rotoli, solleva la testa durante la posizione prona e anche durante la posizione seduta riesce a controllare meglio il capo.

Per quanto concerne gli arti inferiori, viene osservato qualche movimento di flessione-estensione della caviglia e del ginocchio soprattutto a sinistra. Agli arti superiori invece si nota un miglioramento della mobilità spontanea nei movimenti.

Il punteggio della scala valutativa anche in questa sede è aumentato. La paziente ottiene, infatti, 47 su 64. Si somministra anche la scala HINE-2 in cui però MC ottiene un punteggio di 2 su 26.

A 3 mesi dalla terapia dal punto di vista neuromotorio si osserva che la paziente non riesce ad assumere la pozione seduta autonomamente ma, se imposta, la mantiene in cifosi per circa 15 secondi. Inoltre effettua passaggi sul fianco in autonomia. Per quanto riguarda gli arti inferiori si riscontra che sono possibili, anche se limitati, i movimenti sul piano di appoggio. In questa sede il punteggio che la piccola ottiene in questa visita è di 54 su 64. A 6 mesi dalla somministrazione della terapia, la piccola giunge in visita. All'osservazione del torace si evidenzia un accenno di torace a campana e un'iniziale curvatura scoliotica destro-convessa. Nonostante ciò viene obiettivo un miglioramento del controllo di capo e tronco durante la posizione seduta, che ancora non viene raggiunta in autonomia ma che viene mantenuta per tempi più lunghi e senza il sostegno degli arti superiori. Si osserva inoltre che la paziente è in grado di compiere dei rotoli autonomamente e si dimostra in grado di sollevare il capo durante il passaggio dalla posizione supina a prona, però alla trazione anteriore quest'ultimo rimane retroposto. A

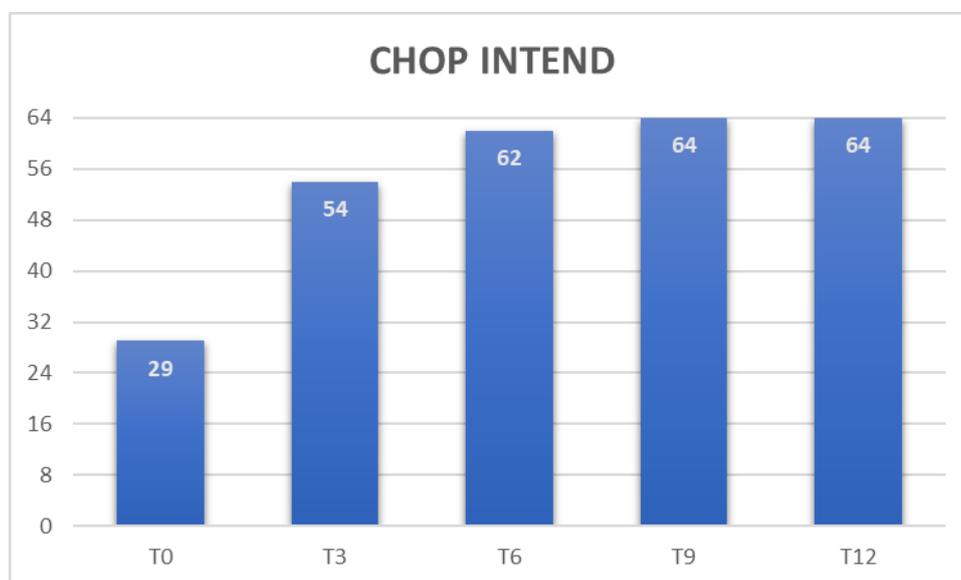


Figura 25: Andamento punteggi scala di valutazione CHOP INTEND

questo punto la piccola si sottopone alle prove per la scala CHOP INTEND e ottiene un punteggio di 62 su 64.

A circa nove mesi dalla terapia, si effettua un altro controllo sulla bambina. Dal punto di vista neuromotorio la paziente si presenta sostanzialmente stabile. I miglioramenti in questo caso sono: il trofismo muscolare, che viene valutato conservato, e il controllo degli arti inferiori in quanto la paziente è in grado sollevare questi ultimi aiutandosi con le mani mentre si trova in posizione prona. In questa valutazione la bambina raggiunge finalmente il massimo della scala CHOP INTEND (64 su 64).

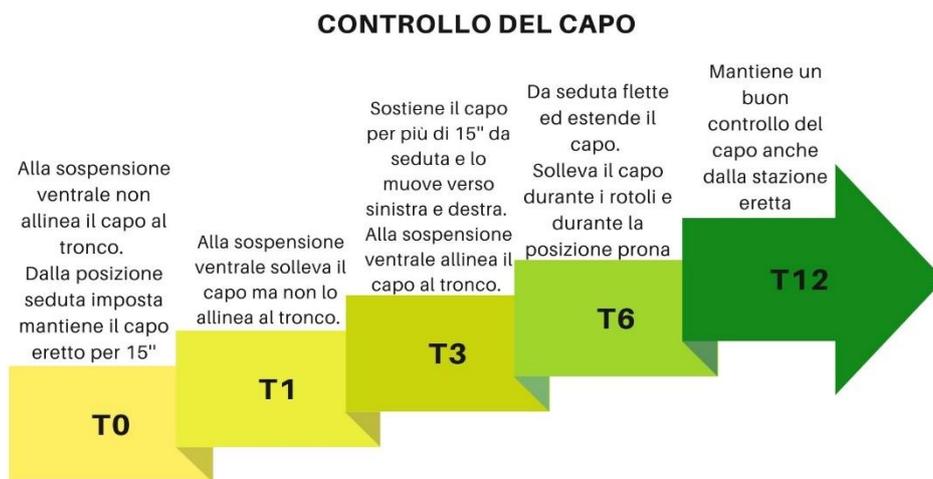


Figura 26: Andamento del controllo del capo dopo la terapia genica

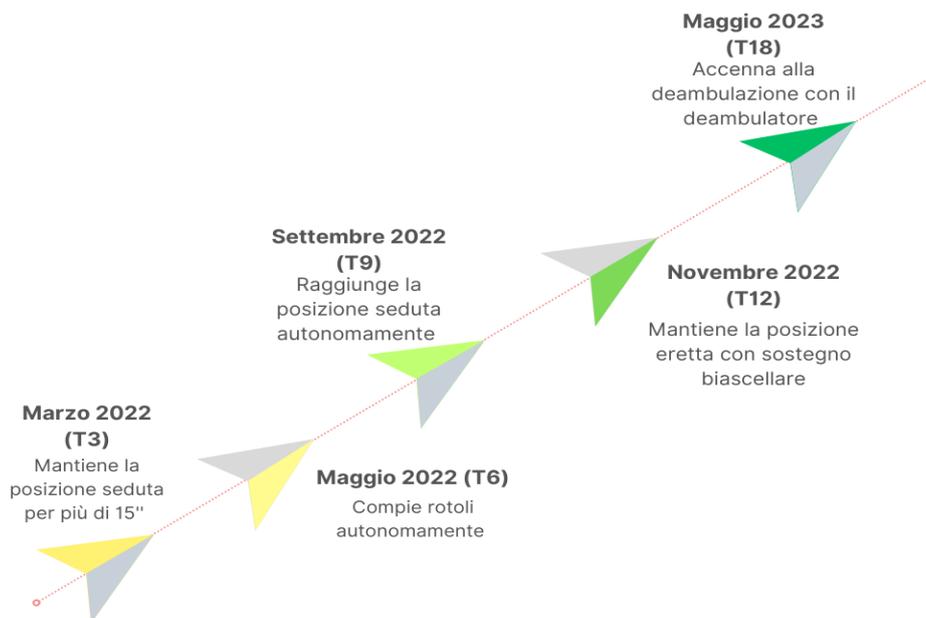


Figura 27: Acquisizione delle principali tappe motorie nel tempo

A un anno dalla terapia, a Novembre 2022, la paziente presenta un quadro di miglioramento del trofismo muscolare. Inoltre si riscontra la capacità da parte di MC di mantenere la posizione eretta se è presente sostegno biascellare. Non presenta però ancora lo schema del passo.

All'ultima visita effettuata, la piccola si dimostra in grado di raggiungere la posizione seduta oltre che di raggiungere la posizione eretta con l'aiuto dei tutori. Dimostrando un importante miglioramento rispetto al quadro che si presentava al momento della diagnosi.

## MOVIMENTI DEGLI ARTI



Figura 28: Andamento dei movimenti degli arti inferiori e superiori dopo la terapia genica

## 10.2 Outcome neurofisiologico

Prima di sottoporre la bambina alla terapia genica, viene eseguita un'elettromiografia e si evidenzia che alla stimolazione del segmento motorio del nervo ulnare sinistro l'ampiezza di cMAP è ridotta rispetto ai valori fisiologici. In particolare l'ampiezza del segmento motorio del nervo ulnare sinistro è di 1.3 mV, mentre a destra è di 0.7 mV.

Dopo un mese l'indagine viene ripetuta e si riscontra stabilità nell'ampiezza di cMAP. Nei successivi controlli che si svolgono a 1 e 6 mesi dalla terapia viene ripetuta quest'indagine e si riscontra stabilità nell'ampiezza di cMAP alla stimolazione del segmento motorio del nervo ulnare sinistro.

A 1 anno dalla terapia l'elettromiografia viene eseguita nuovamente analizzando l'ampiezza di cMAP del nervo ulnare bilateralmente, che risulta ancora ridotta con valori di 1.1 mV a sinistra e di 0.9 a destra. Viene anche valutata la parte sensitiva nel nervo ulnare attraverso lo studio dell'ampiezza di SAP (potenziale d'azione sensitivo), che risulta nel range di normalità. Sono state studiate anche le velocità di conduzione sia motoria che sensitiva che risultano rispettivamente regolare e ai limiti inferiori della norma.

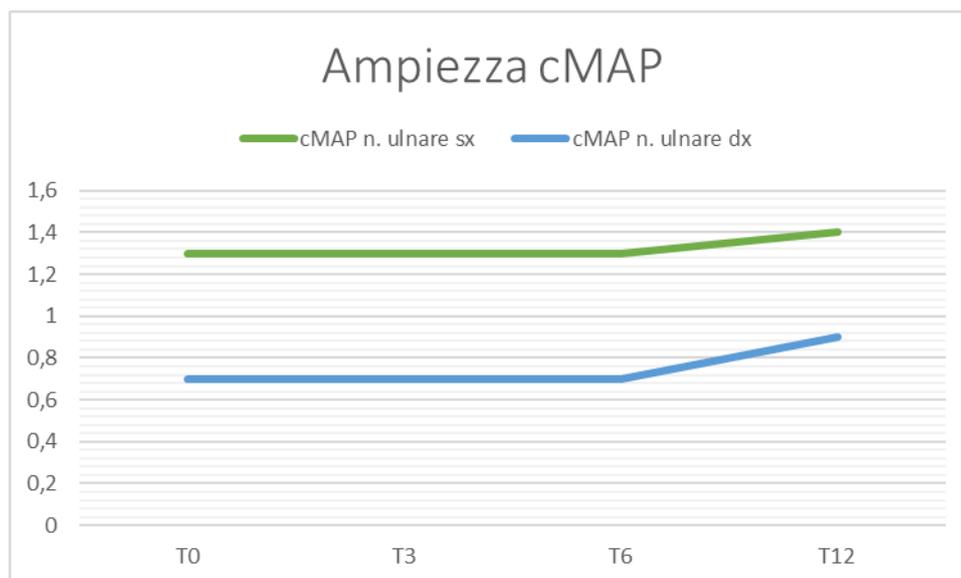


Figura 29: Andamento ampiezza cMAP del nervo ulnare sinistro e destro

### 10.3 Outcome psicomotorio

La prima valutazione psicometrica si svolge quando la paziente ha 10 mesi di vita. In questa sede si osserva che dal punto di vista del linguaggio la bambina si esprime con vocalizzi. L'intersocialità è buona a distanza ma se si tenta il contatto diretto con la piccola si scatena un pianto consolabile solo dalla figura materna.

Per quanto riguarda il gioco, la piccola presenta un buon interesse per il materiale ludico, che afferra, lascia cadere a terra e si porta alla bocca. La prensione è palmare, non ha ancora sviluppato la prensione a pinza superiore.

Al controllo successivo la bambina ha 1 anno e 4 mesi. Dal punto di vista del linguaggio vengono studiate sia la comprensione che la produzione verbale. Quest'ultima è rappresentata dalla gergofasia e da 4 o 5 fonemi con significato semantico e contestuale. Per quanto concerne la comprensione MC è in grado di intendere ordini molto semplici e

di indicare correttamente alcune parti del corpo su icona. Le capacità relazionali sono adeguate, la bambina coinvolge e si fa coinvolgere dall'operatore ed è attenta alle proposte.

Dal punto di vista del gioco la madre riferisce l'acquisizione del gioco simbolico. Dal punto di vista della manualità la bambina durante la visita esegue degli scarabocchi spontaneamente, dando prova di aver sviluppato un senso grafico.

# 11. Case report 3

Il terzo caso riguarda una paziente di sesso femminile nata a termine da una gravidanza noromocondotta. Giunge all'attenzione dei medici per riscontro di positività allo screening per atrofia muscolare spinale nell'ambito di un progetto pilota della Regione Liguria di screening esteso.

Alla visita, che è effettuata a 15 giorni di vita viene eseguita una valutazione neuromotoria in cui il controllo del capo alla trazione bimanuale è in linea con l'età. Alla sospensione ventrale non si ha un allineamento della testa rispetto al tronco. Vengono anche valutati i movimenti antigravitari ai 4 arti, che risultano presenti e simmetrici. Non vengono obiettivate fascicolazioni alla lingua, mentre si trovano lievi tremori distali agli arti superiori che vengono risolti con il contenimento.

In questa sede viene anche posta diagnosi definitiva di SMA di tipo 1 con 2 copie del gene SMN2 e a 26 giorni di vita si somministra la terapia genica.

## 11.1 Outcome neuromotorio

Il miglioramento neuromotorio della paziente è stato oggettivato inizialmente attraverso l'uso della scala di valutazione motoria CHOP INTEND ottenendo un punteggio al tempo zero della malattia di 40 su 64.

A 1 mese dalla terapia, dal punto di vista neuromotorio si evidenziano miglioramenti nei movimenti antigravitari, che la bambina riesce ad eseguire sia con arti superiori che inferiori, ed è inoltre in grado di sollevare il bacino dal piano di appoggio. Oltre a ciò si evidenzia anche un miglioramento del rotolamento sia a destra che a sinistra e della forza degli arti superiori e inferiori.

Il riflesso di Moro è presente durante la visita, al contrario di quelle passate.

I ROT, però, sono non elicetabili.

In questa sede il punteggio ottenuto dallo score CHOP INTEND è di 54 su 64 confermando i progressi evidenziati clinicamente.

Quando la bambina ha 3 mesi e 25 giorni, viene effettuato un ulteriore controllo. In questa sede la valutazione neuromotoria evidenzia un miglior controllo di tronco e capo in posizione seduta, una quasi totale liberazione degli arti superiori da sotto il corpo quando

posta in posizione prona, e un'iniziale reazione di equilibrio in posizione seduta. Oltre a ciò, durante la visita si evidenzia l'acquisizione della capacità di flettere gli arti superiori e di distaccare il capo dal piano di appoggio durante la trazione delle mani. Anche in questa sede il punteggio ottenuto dalla scala CHOP INTEND è in aumento con un totale di 59 su 64.

Al controllo dopo 6 mesi dalla somministrazione della terapia con onasemnogene abeparvovec, la paziente alla sospensione ventrale la piccola ha un buon allineamento del capo al tronco. La bambina si dimostra in grado di liberare gli arti e le vie aeree quando posta prona, si afferra i piedi con le mani. In questa sede raggiunge la capacità assumere la posizione a 4 zampe e quella di mantenere la posizione seduta imposta per qualche secondo con appoggio delle mani anteriormente.



Figura 30: Andamento dei punteggi di GP nella scala CHOP INTEND

La piccola riesce ad ottenere in questa sede il punteggio massimo dello score CHOP INTEND.

Il mese successivo la paziente, all'età di 7 mesi, torna all'osservazione dei medici e viene eseguita la valutazione neuromotoria che evidenzia un generale sviluppo delle abilità acquisite in precedenza. Si riscontra anche un miglioramento dello stato dei muscoli. Infatti si descrivono un tono e un trofismo muscolare conservati, ROT ancora non elicetabili ma non si sono aggiunte sedi di retrazione oltre a quelle osservate precedentemente. La bambina in questa sede dimostra di aver raggiunto la capacità di assumere e mantenere la posizione seduta autonomamente ed è in grado di ruotare il

tronco dalla posizione seduta. Durante questa valutazione viene somministrata alla bambina la scala valutativa HINE-2 e ottiene il punteggio di 12 su 26.

A un anno dalla somministrazione della terapia, la paziente, mostra di aver raggiunto due importanti tappe motorie: assume autonomamente la posizione seduta a partire da quella supina, raggiunge la posizione eretta con appoggio esterno e accenna allo schema del

### CONTROLLO DEL CAPO

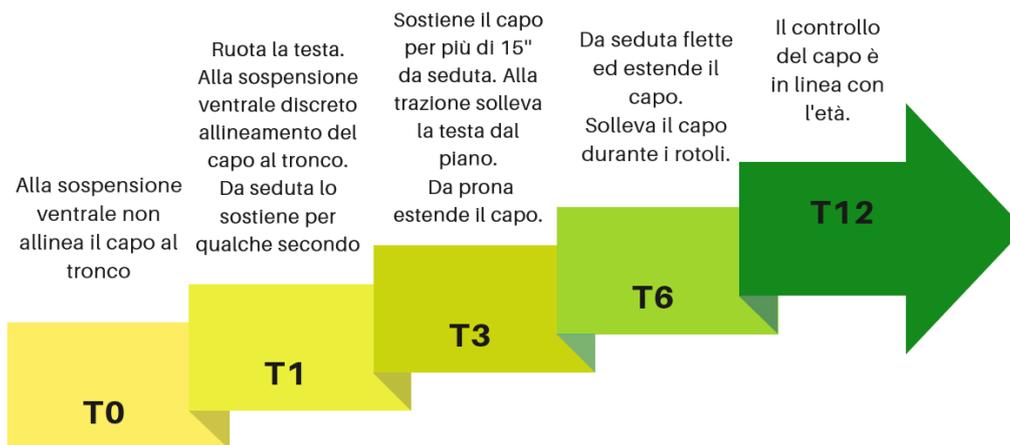


Figura 31: Andamento del controllo del capo dopo la terapia genica

passo con sostegno biascellare.

A 15 mesi dalla terapia la paziente viene nuovamente visitata e dal punto di vista neuromotorio si evidenzia un ulteriore miglioramento delle funzionalità in quanto la bambina si dimostra in grado di accennare allo schema del passo con sostegno

### MOVIMENTI DEGLI ARTI



Figura 32: Andamento dei movimenti degli arti inferiori e superiori

monomanuale. Oltre a ciò si ha anche un avanzamento nel controllo della posizione seduta che la paziente riesce a raggiungere anche partendo dalla posizione prona. In questa sede si sottolinea però, che il tono degli arti inferiori risulta ridotto rispetto allo standard fisiologico.

Infine all'ultima visita effettuata a 18 mesi dalla terapia la paziente riesce a raggiungere la stazione eretta anche senza sostegno e dimostra una deambulazione autonoma mantenuta per almeno 10 passi senza appoggio. Si riscontrano anche passaggi posturali autonomi con compenso e un rialzamento da terra con



Figura 33: Andamento punteggi scala HINE-2

appoggio ad un sostegno. Questi ulteriori miglioramenti le permettono di raggiungere così, il massimo punteggio anche nella scala HINE-2 e WHO. La paziente in questa sede si allinea quindi ai suoi coetanei dal punto di vista neuromotorio.



Figura 34: Acquisizione delle principali tappe motorie nel tempo

## 11.2 Outcome neurofisiologico

Al momento della diagnosi, viene effettuata una indagine elettrofisiologica che evidenzia che alla stimolazione del segmento motorio del nervo ulnare destro l'ampiezza di cMAP è lievemente ridotto.

La stessa indagine viene ripetuta circa due mesi e mezzo dopo la prima valutazione, e risulta stabile rispetto alla precedente.

L'elettromiografia viene rieseguita a Marzo e risulta sostanzialmente stabile dal punto di vista motorio e viene inoltre analizzato lo stato sensitivo dei nervi, con particolare attenzione al nervo ulnare destro, che risulta fisiologico.

A 6 mesi dalla terapia, viene eseguita un'ulteriore indagine elettromiografica e si riscontra un lieve aumento dell'ampiezza del cMAP distale del nervo ulnare destro.

Infine a un anno dalla terapia viene effettuata un'ultima elettromiografia che dimostra un quadro di stabilità.

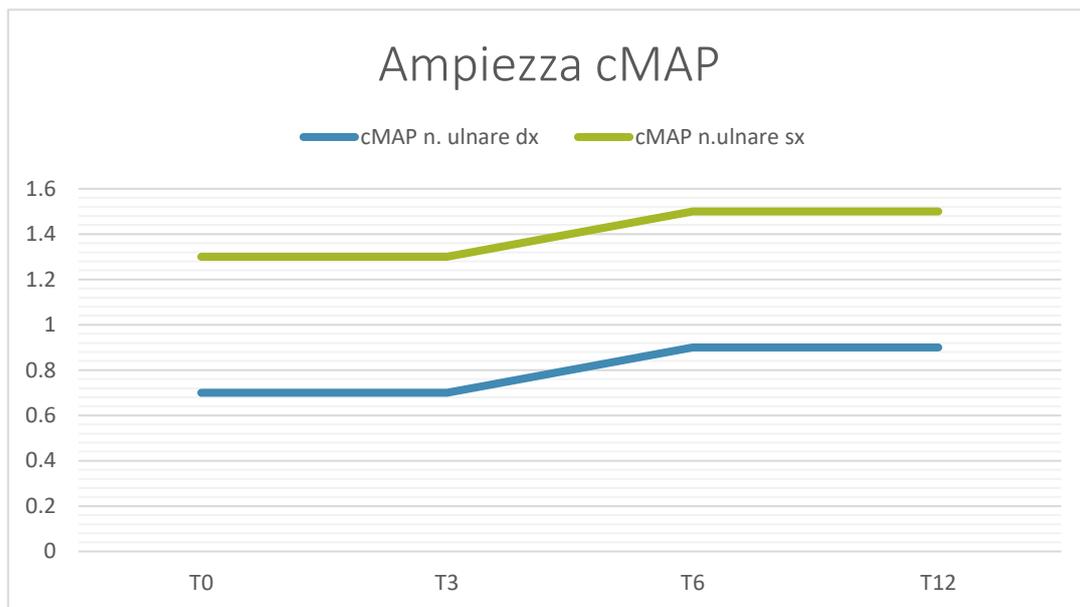


Figura 35: Andamento ampiezza cMAP del nervo ulnare sinistro e destro

## 11.3 Outcome psicomotorio

Quando la paziente raggiunge l'età di 6 mesi, viene valutata dal punto di vista psicomotorio e si osserva che GP è in grado di coordinare mano-mano, man-bocca e occhio-mano-piede bilateralmente.

Dal punto di vista dell'intersocialità la piccola mostra un buon aggancio visivo, sguardo comunicativo, sorriso sociale e espressione di suoni bivocali, ma presenta facile distraibilità. Durante il gioco la bambina sembra vivace, curiosa e accenna soltanto all'inizio della visita alla percussione sul piano.

Alla visita successiva, quando la paziente ha 8 mesi e 9 giorni, viene rivalutata nell'ambito dello sviluppo psicomotorio. Si nota il miglioramento in tutti gli ambiti dello sviluppo neuromotorio nonostante una lieve flessione nel linguaggio con un ritardo nell'acquisizione della lallazione, la quale viene però compensata da una mimica comunicativa e vivace. Durante il gioco la paziente ha acquisito la capacità di percussione sul piano e di imitazione dei suoni. Per quanto riguarda l'intersoggettività, anch'essa si dimostra adeguata ma è necessario stimolare la triangolazione dello sguardo.

Alla visita a 12 mesi dalla terapia la bambina presenta uno sviluppo psicomotorio allineato all'età cronologica in tutti i settori di competenza oltre che un'ottima capacità di relazione.

## 12. Discussione

In questo studio sono stati descritti i casi di 3 pazienti affetti da Atrofia Muscolare Spinale di tipo 1 che si sono sottoposti alla terapia genica al fine di portare l'esperienza dell'Istituto Giannina Gaslini nella terapia genica con onasemnogene abeparvovec e sottolineare i maggiori vantaggi che si ottengono quando questa terapia viene somministrata nel periodo neonatale rispetto a un trattamento più tardivo.

Al momento dell'ultima visita a Maggio 2023, GP ha 1 anno e 6 mesi, MC ha 1 anno e 10 mesi e SM ha 2 anni e 8 mesi. I soggetti si sono sottoposti a terapia genica con onasemnogene abeparvovec rispettivamente a 26 giorni di vita, 4 mesi di età e a 10 mesi. Da sottolineare è anche che sono state infuse a SM 4 dosi di Nusinersen prima di ricevere la terapia genica.

Le tappe motorie acquisite nel tempo dai soggetti sono state obiettivate con la scala di valutazione motoria CHOP INTEND dal tempo 0 fino ai 12 mesi dopo il trattamento.

Confrontando i punteggi ottenuti dai 3 pazienti, si può notare come GP, che ha ricevuto la terapia in età più precoce, è quella che ha raggiunto per prima il punteggio massimo della scala di valutazione; MC ha raggiunto il punteggio massimo della scala impiegando però, più tempo e questo perché ha iniziato la terapia più tardivamente. Infine si può osservare come SM, essendo il paziente che ha iniziato il trattamento con più ritardo, a 1 anno dalla terapia non abbia ancora raggiunto il valore massimo della scala.

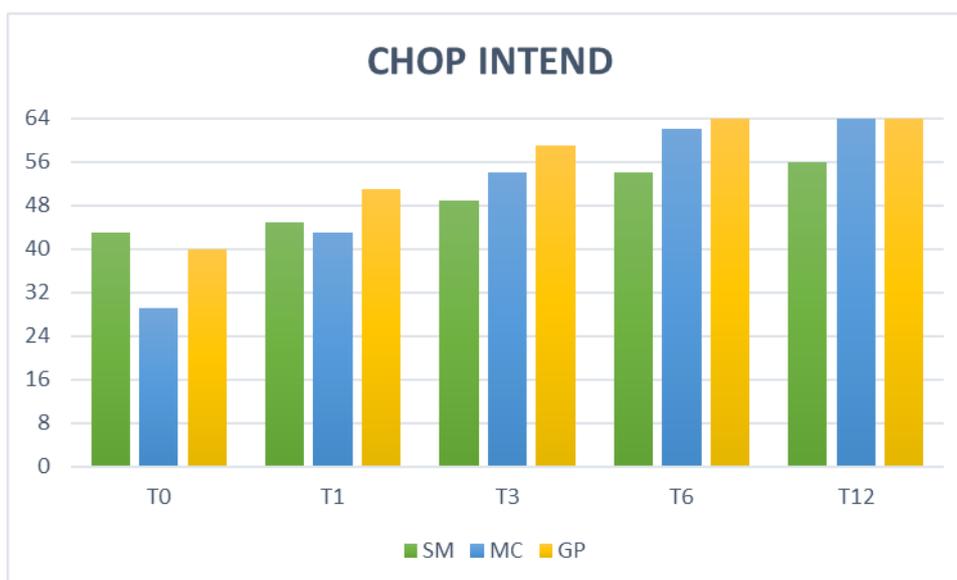


Figura 36: Paragone dell'andamento dei punteggi della scala CHOP INTEND da T0 a T12

GP non ha dimostrato solo un netto miglioramento nella scala CHOP INTEND, ma anche nella HINE-2 che le è stata somministrata a 7 mesi dalla terapia e a 18 mesi dalla terapia, in sede dell'ultima visita quando ha raggiunto il punteggio massimo, raddoppiandolo dalla precedente valutazione.

Un altro dato da evidenziare, oltre al progressivo miglioramento dei pazienti nel tempo, è anche il punteggio al tempo 0: GP, infatti, è quella che partiva dal valore maggiore in quanto a soli 26 giorni di vita la malattia non è ancora così clinicamente sviluppata; MC, invece, al momento del trattamento aveva perso più funzionalità motorie. Da questo possiamo dedurre che somministrando la terapia in età più precoce, e quindi ad uno stadio meno avanzato di malattia, sia necessario un minor recupero.

Il tra le varie abilità motorie che sono state valutate nel corso del follow-up si può sottolineare come i pazienti abbiano raggiunto risultati diversi nel controllo del capo e nel movimento degli arti. Infatti GP, a 1 anno dalla terapia riesce ad eseguire e mantenere i movimenti del capo in linea con la sua età. MC, invece, per quanto abbia comunque, un buon controllo del capo anche in posizione eretta, non risulta in linea con l'età dimostrando ancora una leggera ipotonia. SM, invece, in questo caso non si discosta molto dai risultati ottenuti da MC. Infatti, nonostante il bambino non sia in grado di mantenere la posizione eretta come MC mostra un discreto controllo del capo. Questo può essere associato al fatto che SM prima di sottoporsi alla terapia genica, abbia ricevuto 4 infusioni di Nusinersen che hanno permesso un miglioramento, sebbene di minore entità, nell'acquisizione di alcune abilità motorie.

Anche per quanto riguarda i movimenti, il trofismo e il tono degli arti, si può osservare un discreto distacco nelle capacità di GP alle ultime visite rispetto agli altri due pazienti: GP infatti a Maggio ha dimostrato di avere un trofismo e un tono conservato agli arti sia superiori che inferiori dimostrando anche di aver acquisito abbastanza forza da poter mantenere la posizione eretta e di deambulare senza sostegni. MC in questo frangente all'ultimo controllo non era molto lontana dai risultati ottenuti da GP. MC infatti ha attualmente un trofismo conservato sia agli arti inferiori che superiori ed è in grado di compiere qualche passo in autonomia, mentre il tono rimane ridotto. SM invece è nettamente indietro rispetto alle altre due pazienti in quanto sia il tono che il trofismo degli arti risultano ridotti e inoltre non è in grado né di mantenere la posizione eretta senza

tutori, né di accennare allo schema del passo. Oltre a ciò SM è l'unico che presenza delle retrazioni.

Il risultato raggiunto da GP, e in parte MC, nell'acquisizione della capacità di deambulare autonomamente è eccezionale, infatti senza terapia genica i pazienti affetti da SMA di tipo 1 normalmente non arrivano nemmeno ad assumere la posizione seduta.

I progressi raggiunti da punto di vista motorio sono osservabili anche nell'ambito neurofisiologico. Infatti tutti e 3 i pazienti, che si sono sottoposti a elettromiografie seriate a partire dalla somministrazione della terapia, hanno dimostrato un lieve miglioramento nell'ampiezza del Potenziale d'Azione Motorio composto (cMAP) del nervo ulnare destro e sinistro. La differenza tra i tre in questo caso non sta tanto nel miglioramento che questi hanno avuto in seguito alla terapia ma ai valori ottenuti dalle elettromiografie. SM, infatti, per quanto abbia un progresso positivo dell'ampiezza dei potenziali d'azione, continua ad avere dei valori molto inferiori alla norma. Questo invece non succede per le altre due pazienti, i cui valori sono simili e più vicini al range di normalità.

In ultimo si è considerato l'aspetto psicomotorio per tutti e tre i pazienti e anche in questo ambito si possono sottolineare alcune differenze soprattutto a livello di socialità. Infatti GP, che a 6 mesi di vita si presentava comunicativa ma facilmente distraibile e con un aggancio visivo discontinuo, dopo soli 3 mesi si presenta socievole, con un buon aggancio visivo e con buone interazioni esterne. Addirittura a 18 mesi dalla terapia, la paziente si allinea all'età cronologica anche dal punto di vista della socialità. MC, similmente alla paziente appena descritta, inizialmente è molto concentrata sulla figura materna, non manipola gli oggetti e quando si tenta di interagire con la piccola si ottiene un pianto inconsolabile. A 18 mesi dalla terapia e anche lei si mostra nettamente migliorata nell'ambito della socialità. Infatti in questa sede MC si dimostra interessata a ciò che la circonda e è propensa ad interagire anche con altre figure oltre che a quella materna. SM, invece, si discosta molto dalle due pazienti sopracitate in quanto non ha un buon aggancio visivo o una buona interazione sociale, né alla visita iniziale né a quella più recente.

Da questo quindi si può dedurre come il maggior avanzamento neuromotorio che hanno le due pazienti trattate più precocemente con la terapia genica possa avere un certo impatto anche sulle capacità relazionali nel tempo.

## 13. Conclusioni

In linea con i risultati degli studi clinici, in un setting di real-world la terapia genica si è dimostrata sicura ed efficace in termini di raggiungimento delle tappe dello sviluppo motorio. A distanza di 18-24 mesi dall'inizio della terapia, tutti i pz. sono viventi, non hanno presentato particolari reazioni avverse e hanno raggiunto importanti traguardi motori nel periodo di follow-up.

Due pz. hanno raggiunto il traguardo di stare seduti senza supporto e il pz. trattato nel primo mese di vita ha raggiunto le tappe dello sviluppo psicomotorio nei tempi fisiologici. Da quanto esposto emerge inoltre l'importanza di una diagnosi sempre più precoce per permettere un'immediata presa in carico e un trattamento tempestivo.

Inoltre l'aumento della sopravvivenza e l'acquisizione di nuove pietre miliari stanno facendo emergere nuovi fenotipi. Ad esempio, i pazienti SMA di tipo I trattati raggiungono la capacità di stare seduti anche senza supporto e, con l'effetto della gravità, presentano un tasso più elevato di scoliosi con cifoscoliosi spesso grave nei primi anni di vita.

Rimangono quindi aperti alcuni problemi concernenti la terapia genica, su tutti la sua relativa efficacia e sicurezza a lungo termine e l'accessibilità.

Infine, per il futuro, si auspica l'inclusione dell'atrofia muscolare spinale tra le patologie analizzate nello screening neonatale. Ciò consentirebbe di identificare tempestivamente i neonati affetti da SMA e di avviare la terapia il prima possibile.

## 14. Bibliografia

1. Messina S, Sframeli M, Maggi L, D'Amico A, Bruno C, Comi G, et al. Spinal muscular atrophy: state of the art and new therapeutic strategies. *Neurol Sci.* dicembre 2022;43(S2):615–24.
2. Burr P, Reddivari AKR. Spinal Muscle Atrophy. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [citato 5 giugno 2023]. Disponibile su: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560687/>
3. Lefebvre S, Sarret C. Pathogenesis and therapeutic targets in spinal muscular atrophy (SMA). *Arch Pédiatrie.* dicembre 2020;27(7):7S3–8.
4. D'Amico A, Mercuri E, Tiziano FD, Bertini E. Spinal muscular atrophy. *Orphanet J Rare Dis.* 2 novembre 2011;6:71.
5. Wirth B, Karakaya M, Kye MJ, Mendoza-Ferreira N. Twenty-Five Years of Spinal Muscular Atrophy Research: From Phenotype to Genotype to Therapy, and What Comes Next. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 31 agosto 2020;21(1):231–61.
6. Lorson CL, Hahnen E, Androphy EJ, Wirth B. A single nucleotide in the *SMN* gene regulates splicing and is responsible for spinal muscular atrophy. *Proc Natl Acad Sci.* 25 maggio 1999;96(11):6307–11.
7. Arnold WD, Kassar D, Kissel JT. Spinal muscular atrophy: Diagnosis and management in a new therapeutic era: Spinal Muscular Atrophy. *Muscle Nerve.* febbraio 2015;51(2):157–67.
8. Bernal S, Alias L, Barcelo MJ, Also-Rallo E, Martinez-Hernandez R, Gamez J, et al. The c.859G>C variant in the *SMN2* gene is associated with types II and III SMA and originates from a common ancestor. *J Med Genet.* 1 settembre 2010;47(9):640–2.
9. Jędrzejowska M, Kostera-Pruszczyk A. Spinal muscular atrophy — new therapies, new challenges. *Neurol Neurochir Pol.* 29 febbraio 2020;54(1):8–13.

10. Cances C, Vlodavets D, Comi GP, Masson R, Mazurkiewicz-Beldzińska M, Saito K, et al. Natural history of Type 1 spinal muscular atrophy: a retrospective, global, multicenter study. *Orphanet J Rare Dis.* dicembre 2022;17(1):300.
11. Finkel RS, McDermott MP, Kaufmann P, Darras BT, Chung WK, Sproule DM, et al. Observational study of spinal muscular atrophy type I and implications for clinical trials. *Neurology.* 26 agosto 2014;83(9):810–7.
12. Wang CH, Finkel RS, Bertini ES, Schroth M, Simonds A, Wong B, et al. Consensus statement for standard of care in spinal muscular atrophy. *J Child Neurol.* agosto 2007;22(8):1027–49.
13. Mercuri E, Finkel RS, Muntoni F, Wirth B, Montes J, Main M, et al. Diagnosis and management of spinal muscular atrophy: Part 1: Recommendations for diagnosis, rehabilitation, orthopedic and nutritional care. *Neuromuscul Disord.* febbraio 2018;28(2):103–15.
14. Giannopoulou EZ, Martin T, Wirth B, Yilmaz U, Gortner L, Meyer S. Tongue fasciculations in an infant with spinal muscular atrophy type 1. *Clin Case Rep.* ottobre 2015;3(10):832–4.
15. Mercuri E, Sumner CJ, Muntoni F, Darras BT, Finkel RS. Spinal muscular atrophy. *Nat Rev Dis Primer.* 4 agosto 2022;8(1):52.
16. Cancès C, Richelme C, Barnerias C, Espil C. Clinical features of spinal muscular atrophy (SMA) type 2. *Arch Pédiatrie.* dicembre 2020;27(7):7S18–22.
17. Chabanon A, Seferian AM, Daron A, Péréon Y, Cances C, Vuillerot C, et al. Prospective and longitudinal natural history study of patients with Type 2 and 3 spinal muscular atrophy: Baseline data NatHis-SMA study. Mingozi F, curatore. *PLOS ONE.* 26 luglio 2018;13(7):e0201004.
18. Mercuri E, Bertini E, Iannaccone ST. Childhood spinal muscular atrophy: controversies and challenges. *Lancet Neurol.* 2012;11(5):443–52.

19. Lin CW, Kalb SJ, Yeh WS. Delay in Diagnosis of Spinal Muscular Atrophy: A Systematic Literature Review. *Pediatr Neurol.* 2015;53(4):293–300.
20. Salort-Campana E, Quijano-Roy S. Clinical features of spinal muscular atrophy (SMA) type 3 (Kugelberg-Welander disease). *Arch Pédiatrie.* 2020;27(7, Supplement):7S23–8.
21. Montes J, McDermott MP, Mirek E, Mazzone ES, Main M, Glanzman AM, et al. Ambulatory function in spinal muscular atrophy: Age-related patterns of progression. Singh RN, curatore. *PLOS ONE.* 26 giugno 2018;13(6):e0199657.
22. Zerres K, Rudnik-Schöneborn S, Forrest E, Lusakowska A, Borkowska J, Hausmanowa-Petrusewicz I. A collaborative study on the natural history of childhood and juvenile onset proximal spinal muscular atrophy (type II and III SMA): 569 patients. *J Neurol Sci.* febbraio 1997;146(1):67–72.
23. Khirani S, Colella M, Caldarelli V, Aubertin G, Boulé M, Forin V, et al. Longitudinal course of lung function and respiratory muscle strength in spinal muscular atrophy type 2 and 3. *Eur J Paediatr Neurol.* 2013;17(6):552–60.
24. Sokolska JM, Weber L, Niederseer D, Manka R. Myocardial involvement in Kugelberg–Welander disease. *Eur Heart J.* 21 luglio 2020;41(28):2716–2716.
25. Kolb SJ, Kissel JT. Spinal Muscular Atrophy. *Neurol Clin.* novembre 2015;33(4):831–46.
26. Piepers S, Berg LH, Brugman F, Scheffer H, Ruitkamp-Versteeg M, Engelen BG, et al. A natural history study of late onset spinal muscular atrophy types 3b and 4. *J Neurol.* settembre 2008;255(9):1400–4.
27. De Sanctis R, Coratti G, Pasternak A, Montes J, Pane M, Mazzone ES, et al. Developmental milestones in type I spinal muscular atrophy. *Neuromuscul Disord.* novembre 2016;26(11):754–9.

28. Mercuri E, Finkel R, Montes J, Mazzone ES, Sormani MP, Main M, et al. Patterns of disease progression in type 2 and 3 SMA: Implications for clinical trials. *Neuromuscul Disord.* febbraio 2016;26(2):126–31.
29. Oskoui M, Darras BT, Vivo DCD. Chapter 1 - Spinal Muscular Atrophy: 125 Years Later and on the Verge of a Cure. In: Sumner CJ, Paushkin S, Ko CP, curatori. *Spinal Muscular Atrophy* [Internet]. Academic Press; 2017. p. 3–19. Disponibile su: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B978012803685300001X>
30. Li YJ, Chen TH, Wu YZ, Tseng YH. Metabolic and Nutritional Issues Associated with Spinal Muscular Atrophy. *Nutrients.* 16 dicembre 2020;12(12):3842.
31. Corsello A, Scatigno L, Pascuzzi MC, Calcaterra V, Dilillo D, Vizzuso S, et al. Nutritional, Gastrointestinal and Endo-Metabolic Challenges in the Management of Children with Spinal Muscular Atrophy Type 1. *Nutrients.* 13 luglio 2021;13(7):2400.
32. Audag N, Goubau C, Toussaint M, Reychler G. Screening and evaluation tools of dysphagia in adults with neuromuscular diseases: a systematic review. *Ther Adv Chronic Dis.* gennaio 2019;10:204062231882162.
33. Wales PW, Diamond IR, Dutta S, Muraca S, Chait P, Connolly B, et al. Fundoplication and gastrostomy versus image-guided gastrojejunal tube for enteral feeding in neurologically impaired children with gastroesophageal reflux. *J Pediatr Surg.* marzo 2002;37(3):407–12.
34. Durkin ET, Schroth MK, Helin M, Shaaban AF. Early laparoscopic fundoplication and gastrostomy in infants with spinal muscular atrophy type I. *J Pediatr Surg.* novembre 2008;43(11):2031–7.
35. Nair R, Maseeh A. Vitamin D: The «sunshine» vitamin. *J Pharmacol Pharmacother.* aprile 2012;3(2):118–26.
36. Felderhoff-Mueser U, Grohmann K, Harder A, Stadelmann C, Zerres K, Bühner C, et al. Severe Spinal Muscular Atrophy Variant Associated With Congenital Bone Fractures. *J Child Neurol.* settembre 2002;17(9):718–21.

37. Vai S, Bianchi ML, Moroni I, Mastella C, Broggi F, Morandi L, et al. Bone and Spinal Muscular Atrophy. *Bone*. ottobre 2015;79:116–20.
38. Moore GE, Lindenmayer AW, McConchie GA, Ryan MM, Davidson ZE. Describing nutrition in spinal muscular atrophy: A systematic review. *Neuromuscul Disord*. luglio 2016;26(7):395–404.
39. Romano C, Van Wynckel M, Hulst J, Broekaert I, Bronsky J, Dall'Oglio L, et al. European Society for Paediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition Guidelines for the Evaluation and Treatment of Gastrointestinal and Nutritional Complications in Children With Neurological Impairment. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. agosto 2017;65(2):242–64.
40. Watson KS, Boukhloufi I, Bowerman M, Parson SH. The Relationship between Body Composition, Fatty Acid Metabolism and Diet in Spinal Muscular Atrophy. *Brain Sci*. 20 gennaio 2021;11(2):131.
41. Deguise M, Baranello G, Mastella C, Beauvais A, Michaud J, Leone A, et al. Abnormal fatty acid metabolism is a core component of spinal muscular atrophy. *Ann Clin Transl Neurol*. agosto 2019;6(8):1519–32.
42. Anderson EL, Howe LD, Jones HE, Higgins JPT, Lawlor DA, Fraser A. The Prevalence of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Children and Adolescents: A Systematic Review and Meta-Analysis. Wong V, curatore. *PLOS ONE*. 29 ottobre 2015;10(10):e0140908.
43. Berti B, Onesimo R, Leone D, Palermo C, Giorgio V, Buonsenso D, et al. Hypoglycaemia in patients with type 1 SMA: an underdiagnosed problem? *Arch Dis Child*. luglio 2020;105(7):707–707.
44. Bowerman M, Swoboda KJ, Michalski JP, Wang GS, Reeks C, Beauvais A, et al. Glucose metabolism and pancreatic defects in spinal muscular atrophy. *Ann Neurol*. agosto 2012;72(2):256–68.

45. Hong S hyeon, Choi KM. Sarcopenic Obesity, Insulin Resistance, and Their Implications in Cardiovascular and Metabolic Consequences. *Int J Mol Sci*. 13 gennaio 2020;21(2):494.
46. Fauroux B, Griffon L, Amaddeo A, Stremmer N, Mazonq J, Khirani S, et al. Respiratory management of children with spinal muscular atrophy (SMA). *Arch Pédiatrie*. dicembre 2020;27(7):7S29–34.
47. Schroth MK. Special considerations in the respiratory management of spinal muscular atrophy. *Pediatrics*. 2009;123(Supplement\_4):S245–9.
48. Mellies U, Ragette R, Schwake C, Boehm H, Voit T, Teschler H. Daytime predictors of sleep disordered breathing in children and adolescents with neuromuscular disorders. *Neuromuscul Disord*. febbraio 2003;13(2):123–8.
49. Fromageot C, Lofaso F, Annane D, Falaize L, Lejaille M, Clair B, et al. Supine fall in lung volumes in the assessment of diaphragmatic weakness in neuromuscular disorders. *Arch Phys Med Rehabil*. gennaio 2001;82(1):123–8.
50. Fauroux B, Amaddeo A, Quijano-Roy S, Barnerias C, Desguerre I, Khirani S. Respiratory insight to congenital muscular dystrophies and congenital myopathies and its relation to clinical trial. *Neuromuscul Disord*. settembre 2018;28(9):731–40.
51. Griffon L, Amaddeo A, Mortamet G, Barnerias C, Abadie V, Olmo Arroyo J, et al. Sleep study as a diagnostic tool for unexplained respiratory failure in infants hospitalized in the PICU. *J Crit Care*. dicembre 2017;42:317–23.
52. Bach JR, Wang TG. Noninvasive long-term ventilatory support for individuals with spinal muscular atrophy and functional bulbar musculature. *Arch Phys Med Rehabil*. marzo 1995;76(3):213–7.
53. Ward S. Randomised controlled trial of non-invasive ventilation (NIV) for nocturnal hypoventilation in neuromuscular and chest wall disease patients with daytime normocapnia. *Thorax*. 1 dicembre 2005;60(12):1019–24.

54. Fauroux B, Lavis JF, Nicot F, Picard A, Boelle PY, Clément A, et al. Facial side effects during noninvasive positive pressure ventilation in children. *Intensive Care Med.* luglio 2005;31(7):965–9.
55. Fujak A, Haaker G. Proximal spinal muscular atrophy: current orthopedic perspective. *Appl Clin Genet.* novembre 2013;113.
56. Wijngaarde CA, Brink RC, De Kort FAS, Stam M, Otto LAM, Asselman FL, et al. Natural course of scoliosis and lifetime risk of scoliosis surgery in spinal muscular atrophy. *Neurology.* 9 luglio 2019;93(2):e149–58.
57. Mesfin A, Sponseller PD, Leet AI. Spinal Muscular Atrophy: Manifestations and Management: *J Am Acad Orthop Surg.* giugno 2012;20(6):393–401.
58. Boulay C, Peltier E, Jouve JL, Pesenti S. Functional and surgical treatments in patients with spinal muscular atrophy (SMA). *Arch Pédiatrie.* dicembre 2020;27(7):7S35–9.
59. Mills KR. The basics of electromyography. *J Neurol Neurosurg Psychiatry.* 1 giugno 2005;76(suppl\_2):ii32–5.
60. Glanzman AM, Mazzone E, Main M, Pelliccioni M, Wood J, Swoboda KJ, et al. The Children’s Hospital of Philadelphia Infant Test of Neuromuscular Disorders (CHOP INTEND): Test development and reliability. *Neuromuscul Disord.* 2010;20(3):155–61.
61. Bishop KM, Montes J, Finkel RS. Motor milestone assessment of infants with spinal muscular atrophy using the hammersmith infant neurological Exam—Part 2: Experience from a nusinersen clinical study. *Muscle Nerve.* gennaio 2018;57(1):142–6.
62. Haataja L, Mercuri E, Regev R, Cowan F, Rutherford M, Dubowitz V, et al. Optimality score for the neurologic examination of the infant at 12 and 18 months of age. *J Pediatr.* agosto 1999;135(2):153–61.

63. O'Hagen JM, Glanzman AM, McDermott MP, Ryan PA, Flickinger J, Quigley J, et al. An expanded version of the Hammersmith Functional Motor Scale for SMA II and III patients. *Neuromuscul Disord.* 2007;17(9):693–7.
64. Mazzone E, Bianco F, Martinelli D, Glanzman AM, Messina S, Sanctis RD, et al. Assessing upper limb function in nonambulant SMA patients: Development of a new module. *Neuromuscul Disord.* giugno 2011;21(6):406–12.
65. Mazzone ES, Mayhew A, Montes J, Ramsey D, Fanelli L, Young SD, et al. Revised upper limb module for spinal muscular atrophy: Development of a new module. *Muscle Nerve.* giugno 2017;55(6):869–74.
66. Bruno C, Panicucci Chiara. Le nuove terapie per la SMA e l'Atrofia Muscolare di Duchenne. *Il Pediatra.*
67. Hua Y, Sahashi K, Hung G, Rigo F, Passini MA, Bennett CF, et al. Antisense correction of SMN2 splicing in the CNS rescues necrosis in a type III SMA mouse model. *Genes Dev.* 2010;24(15):1634–44.
68. De Vivo DC, Bertini E, Swoboda KJ, Hwu WL, Crawford TO, Finkel RS, et al. Nusinersen initiated in infants during the presymptomatic stage of spinal muscular atrophy: Interim efficacy and safety results from the Phase 2 NURTURE study. *Neuromuscul Disord.* novembre 2019;29(11):842–56.
69. Servais L, Baranello G, Masson R, Mazurkiewicz-Bełdzińska M, Rose K, Vlodayets D, et al. FIREFISH Part 2: Efficacy and Safety of Risdiplam (RG7916) in Infants with Type 1 Spinal Muscular Atrophy (SMA) (1302). *Neurology [Internet].* 2020;94(15 Supplement). Disponibile su: [https://n.neurology.org/content/94/15\\_Supplement/1302](https://n.neurology.org/content/94/15_Supplement/1302)
70. Mercuri E, Barisic N, Boespflug-Tanguy O, Deconinck N, Kostera-Pruszczyk A, Masson R, et al. SUNFISH Part 2: efficacy and safety of risdiplam (RG7916) in patients with type 2 or non-ambulant type 3 spinal muscular atrophy (SMA)(1260). 2020;

71. Long KK, O'Shea KM, Khairallah RJ, Howell K, Paushkin S, Chen KS, et al. Specific inhibition of myostatin activation is beneficial in mouse models of SMA therapy. *Hum Mol Genet.* 2019;28(7):1076–89.
72. Day JW, Howell K, Place A, Long K, Rossello J, Kertesz N, et al. Advances and limitations for the treatment of spinal muscular atrophy. *BMC Pediatr.* 3 novembre 2022;22(1):632.
73. Cheng AJ, Hwee DT, Kim LH, Durham N, Yang HT, Hinken AC, et al. Fast skeletal muscle troponin activator CK-2066260 increases fatigue resistance by reducing the energetic cost of muscle contraction. *J Physiol.* settembre 2019;597(17):4615–25.
74. Rudnicki SA, Andrews JA, Duong T, Cockroft BM, Malik FI, Meng L, et al. Reldesemtiv in Patients with Spinal Muscular Atrophy: a Phase 2 Hypothesis-Generating Study. *Neurotherapeutics.* aprile 2021;18(2):1127–36.
75. Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, Arnold WD, Rodino-Klapac LR, Prior TW, et al. Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy. *N Engl J Med.* 2017;377(18):1713–22.
76. Day JW, Chiriboga CA, Crawford TO, Darras BT, Finkel RS, Connolly AM, et al. Onasemnogene abeparvovec-xioi gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy type 1 (SMA1): phase 3 US study (STRIVE) update (1828). 2020;
77. Mercuri E. Spinal muscular atrophy: from rags to riches. *Neuromuscul Disord.* ottobre 2021;31(10):998–1003.
78. Prior TW, Snyder PJ, Rink BD, Pearl DK, Pyatt RE, Mihal DC, et al. Newborn and carrier screening for spinal muscular atrophy. *Am J Med Genet A.* 7 maggio 2010;152A(7):1608–16.
79. Kolb SJ, Coffey CS, Yankey JW, Krosschell K, Arnold WD, Rutkove SB, et al. Natural history of infantile-onset spinal muscular atrophy. *Ann Neurol.* dicembre 2017;82(6):883–91.

80. Govoni A, Gagliardi D, Comi GP, Corti S. Time Is Motor Neuron: Therapeutic Window and Its Correlation with Pathogenetic Mechanisms in Spinal Muscular Atrophy. *Mol Neurobiol*. 1 agosto 2018;55(8):6307–18.
81. Lutz CM, Kariya S, Patruni S, Osborne MA, Liu D, Henderson CE, et al. Postsymptomatic restoration of SMN rescues the disease phenotype in a mouse model of severe spinal muscular atrophy. *J Clin Invest*. 1 agosto 2011;121(8):3029–41.

## 15. Ringraziamenti

Innanzitutto ringrazio il mio Relatore Claudio Bruno per avermi coinvolta in questo progetto e per avermi permesso di partecipare attivamente alla vita del Day Hospital delle Malattie Muscolari.

Ringrazio inoltre la Dottoressa Marina Pedemonte, la mia correlatrice.

Vorrei ringraziare i miei genitori per avermi sostenuta dal primo giorno e per aver creduto in me quando io non l'ho fatto. Grazie per avermi insegnato la gentilezza, la determinazione e la forza di affrontare le difficoltà a testa alta. Grazie per essere sempre il mio porto sicuro.

Grazie anche a mia sorella Alessia che con uno sguardo mi capisce al volo. Grazie per tutte le volte che mi sei rimasta accanto, per tutte le parole di conforto, per tutte le chiacchierate al buio in camera e per tutte le litigate. Grazie avere così tanta fiducia in me da essere la prima che chiami quando cadi con la moto. Ti voglio bene bertuelina.

Ringrazio anche i miei nonni Vittorio e Nerina che sono sempre stati dalla mia parte, che aspettavano sempre una mia chiamata dopo gli esami e che erano sempre pronti a festeggiare i miei successi o a consolarmi nei fallimenti. In particolare vorrei dire grazie a nonna Nerina, che se oggi fosse qui sarebbe in prima fila a fare il tifo per me, per avermi mostrato il suo spirito combattivo. Sei stata un esempio per me.

Grazie anche ai miei nonni Marisa e Edo che avrei tanto voluto conoscere.

Grazie a Martina, Francesca, Chiara, Lucia, Anna e Alessandro per tutte le risate isteriche in biblioteca mentre le persone ci guardavano male, per tutti i piantini pre esame, per tutti i consigli, per tutte le chiacchierate dalle moto e per tutte le mappe che ci siamo passate nella disperazione. Avete reso questi sei anni indimenticabili, vi voglio bene.

Grazie a Serena, la mia amica umanamente scorretta, che mi consiglia e mi sostiene da più di dieci anni.

Ringrazio Sara e Beatrice per sopportarmi letteralmente da tutta la vita, servirebbe un libro per ringraziarvi come si deve. Siete la mia famiglia.

Grazie anche a Federica, Jacopo, Valentina, Davide, Edoardo e Diana per tutte le cene in capanna, le focacce al formaggio, le camminate e le carbonare con la panna.

Grazie a Paolo per i suoi consigli preziosi durante questi anni.

Infine ringrazio Marco che mi sta accanto da prima che iniziassi questo percorso. Grazie per sopportare le mie lamentele, per essere la spalla su cui piangere quando va tutto male, per farmi ridere, per ascoltarmi anche quando ti ripeto le stesse cose mille volte e grazie per essere la persona migliore con cui potessi condividere quel cuscino. Grazie per essere il mio punto fermo in questo mondo di incertezze. Se sono qui oggi è anche merito tuo.