

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI**

**“PARTHENOPE”**



**DIPARTIMENTO DI SCIENZE E TECNOLOGIE**

**CORSO DI LAUREA DI I LIVELLO IN  
SCIENZE BIOLOGICHE**

**TESI DI LAUREA IN  
GENETICA**

**IL RUOLO DELLE CONNESSINE NELLA PATOGENESI DELLA  
MALATTIA DI CHARCOT-MARIE-TOOTH**

**THE ROLE OF CONNEXINS IN THE PATHOGENESIS OF  
CHARCOT-MARIE-TOOTH DISEASE**

Relatore  
Ch.mo Prof.  
Alfredo Ciccodicola

Candidato  
Luigia Canonico  
Matr. 0123/001608

Anno Accademico 2020/2021

# SOMMARIO

<b>ABSTRACT</b> .....	2
<b>INTRODUZIONE</b> .....	3
<b>CAPITOLO 1: IL SISTEMA NERVOSO</b> .....	4
1.1 <i>Che cos'è il sistema nervoso?</i> .....	4
1.2 <i>Cellule del sistema nervoso</i> .....	6
1.2.1 <i>Neuroni</i> .....	6
1.2.2 <i>Cellule gliali</i> .....	7
1.3 <i>Mielina</i> .....	8
1.4 <i>Sinapsi e conduzione dell'impulso nervoso</i> .....	9
<b>CAPITOLO 2: LE CONNESSINE</b> .....	12
2.1 <i>Gap Junction-Proteina Beta 1</i> .....	12
2.1.1 <i>Genetica molecolare</i> .....	13
2.2 <i>Gap Junction-Proteina Beta 2</i> .....	15
2.2.1 <i>Genetica molecolare</i> .....	16
2.3 <i>Gap Junction-Proteina Beta 3</i> .....	17
2.3.1 <i>Genetica molecolare</i> .....	17
2.4 <i>Gap Junction-Proteina Gamma 2</i> .....	20
2.4.1 <i>Genetica molecolare</i> .....	20
2.5 <i>Gap Junction-Proteina Alfa 1</i> .....	24
2.5.1 <i>Genetica molecolare</i> .....	24
<b>CAPITOLO 3: LA MALATTIA DI CHARCOT-MARIE-TOOTH</b> .....	31
3.1 <i>Introduzione</i> .....	31
3.2 <i>Trasmissione e forme</i> .....	32
3.3 <i>Gli esordi</i> .....	34
3.4 <i>Esami e diagnosi</i> .....	36
3.5 <i>Caso Studio</i> .....	37
<b>CAPITOLO 4: TERAPIE E TRATTAMENTI</b> .....	39
4.1 <i>Terapie disponibili per la malattia di Charcot-Marie-Tooth</i> .....	39
4.2 <i>Il punto di vista degli esperti</i> .....	42
<b>CONCLUSIONI</b> .....	49
<b>Bibliografia</b> .....	51

## **ABSTRACT**

Connexins are a family of diffuse membrane proteins, which assemble into hexameric hemichannels, also known as connexons. Connections regulate membrane permeability in single cells or pairs of adjacent cells, which form gap junctions creating a pathway for intercellular communication. In this thesis work, we talk about the role of connexins on the pathogenesis of neuropathies, in particular connexin 26 (Cx26) and mutations in the GJB1 gene, which cause Charcot-Marie-Tooth disease. This neuropathy is characterized by progressive muscular atrophy and weakness with a degenerative course. The aim of the thesis is to characterize mutant genes and treat therapies for Charcot-Marie-Tooth disease.

## **INTRODUZIONE**

Le connessine sono una famiglia di proteine di membrana diffuse, che si assemblano in emicanali esamerici, noti anche come connessioni. I connessioni regolano la permeabilità della membrana in singole cellule o coppie di cellule adiacenti, che formano gap junction creando un percorso per la comunicazione intercellulare. In questo lavoro di tesi, si parla del ruolo delle connessine sulla patogenesi delle neuropatie, in particolare della connessina 26 (Cx26) e le mutazioni a carico del gene GJB1, che provocano la malattia di Charcot-Marie-Tooth. Tale neuropatia è caratterizzata da atrofia e debolezza muscolare progressiva con andamento degenerativo. Lo scopo della tesi è quello di caratterizzare i geni mutanti e trattare terapie per la malattia di Charcot-Marie-Tooth.

# CAPITOLO 1: IL SISTEMA NERVOSO

## 1.1 Che cos'è il sistema nervoso?

Il sistema nervoso è l'insieme degli organi e delle strutture che permettono di trasmettere segnali tra le diverse parti del corpo e di coordinare le sue azioni e le sue funzioni volontarie e involontarie, sia fisiche che psicologiche.

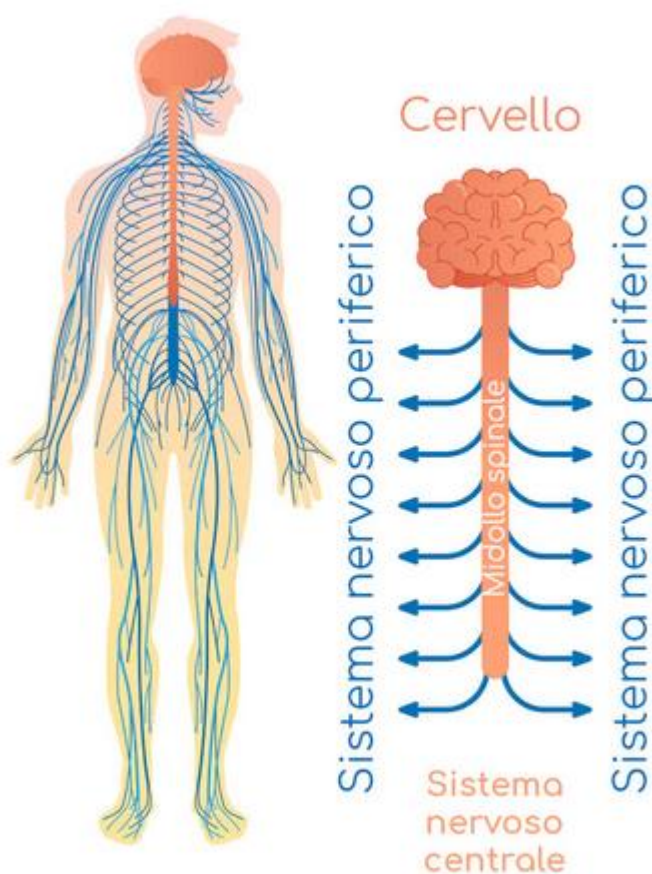


Figura 1: Sistema nervoso centrale e periferico

Il sistema nervoso è formato dal cervello, dal midollo spinale, dagli organi di senso e da tutti i nervi che mettono in comunicazione questi organi con il resto del corpo (Figura 1). In particolare, il cervello e il midollo spinale integrano le informazioni provenienti dagli altri organi e dall'ambiente esterno e pianificano opportune reazioni.

Le diverse strutture presenti nel cervello si occupano di funzioni specifiche e nel loro insieme sono responsabili del pensiero, della memoria, del ragionamento, della capacità di comprensione, del linguaggio, dei movimenti volontari e di quelli involontari, dell'equilibrio e della postura, ma anche del respiro, del battito del cuore e della pressione sanguigna, del controllo della temperatura, delle emozioni, della fame e della sete, dell'orologio biologico interno all'organismo e della rielaborazione delle informazioni percepite attraverso i cinque sensi.

Il midollo spinale si occupa invece di raccogliere le informazioni dirette al cervello e di smistare quelle che quest'ultimo invia al resto del corpo. È inoltre deputato al controllo dei riflessi muscoloscheletrici semplici.

Il sistema nervoso è organizzato in sistema nervoso centrale e periferico, a loro volta suddivisibili in più componenti:

1. il sistema nervoso centrale è formato dal cervello e dal midollo spinale. In un adulto il primo contiene circa 100 miliardi di cellule nervose, i neuroni, e un numero ancora più elevato che svolgono funzioni di supporto, note con il nome di glia. Localizzato all'interno della scatola cranica, è formato da due emisferi uniti tra loro ed è in continuità diretta con il midollo spinale, che invece è una struttura cilindrica che scorre all'interno della colonna vertebrale. Entrambi sono circondati da una serie di membrane protettive ovvero le meningi. A proteggerli è anche il liquido cerebrospinale prodotto dal cervello, che scorre all'interno dello spazio delimitato da due delle meningi (la pia madre e l'aracnoide). Da entrambi si dipartono nervi diretti verso altre parti del corpo;
2. il sistema nervoso periferico può essere diviso in due grandi parti: il sistema nervoso autonomo e somatico. Il sistema nervoso autonomo si suddivide a sua volta in tre parti: simpatico, parasimpatico ed enterico. A formarli sono i neuroni il cui corpo è localizzato nel cervello o nel midollo spinale i cui prolungamenti sono diretti verso strutture, detti gangli, a livello dei quali entrano in contatto con il corpo di altri neuroni. I prolungamenti di questi ultimi si dirigono verso l'organo con cui deve essere connesso il sistema nervoso centrale. Questa particolare organizzazione permette di distinguere fibre nervose pregangliari, formate dai prolungamenti dei neuroni il cui corpo è localizzato nel sistema nervoso centrale, e fibre nervose postgangliari, i cui corpi cellulari sono localizzati nei gangli. Nel caso del sistema nervoso somatico, invece, sono singoli neuroni a fraporsi tra il sistema nervoso centrale e l'organo cui deve essere connesso. Il corpo cellulare di questi neuroni può trovarsi nel cervello o nel midollo spinale; è possibile distinguerne di due tipi: i

neuroni sensitivi, i cui prolungamenti formano le fibre nervose che inviano le informazioni provenienti dalla pelle e dagli organi di senso verso il sistema nervoso centrale, e i motoneuroni da cui partono le fibre nervose dirette verso i muscoli scheletrici, quelli che vengono mossi volontariamente.

## *1.2 Cellule del sistema nervoso*

Il sistema nervoso è composto essenzialmente dai neuroni, veri responsabili della ricezione e della trasmissione degli impulsi nervosi, e dalle cellule della glia, o nevroglia, che hanno funzioni di supporto strutturale e funzionale rispetto ai neuroni. Vengono poi talvolta impropriamente considerate come parte del tessuto nervoso alcune cellule connettivali di natura fibrosa, che offrono un sostegno strutturale al tessuto nervoso.

### *1.2.1 Neuroni*

I neuroni sono cellule solitamente dotate di lunghi filamenti (Figura 2), caratterizzate dalla capacità di eccitarsi se stimolate da un impulso elettrico. Sono composti da un corpo cellulare, detto soma o, talvolta, pirenoforo, dal quale si diramano due tipi di prolungamenti, i dendriti e gli assoni:

1. i dendriti sono prolungamenti relativamente corti, estremamente ramificati, presenti in gran numero sul corpo cellulare. La loro funzione è di ricevere gli stimoli provenienti dall'esterno, o da altri neuroni, e di trasmetterli verso il corpo cellulare; in altre parole, nei dendriti l'impulso nervoso viaggia in direzione del pirenoforo;
2. l'assone invece è un filamento di notevoli dimensioni, normalmente molto più lungo dei dendriti, e ne è presente solo uno per ogni neurone. L'assone ritrasmette l'informazione nervosa giunta al corpo cellulare verso l'esterno: può essere connesso ai dendriti di altri neuroni, o alle giunzioni neuromuscolari dei muscoli. Nell'assone, l'impulso nervoso viaggia in direzione distale rispetto al pirenoforo.

I neuroni che trasmettono gli impulsi non entrano mai veramente in contatto con quelli che ricevono tali impulsi; nonostante siano molto vicini non entrano mai in contatto, questa separazione è detta fessura sinaptica o semplicemente sinapsi. All'interno del terminale assonico, in minuscole vescicole, è immagazzinato un neurotrasmettitore di origine chimica che lasciato nella sinapsi nel momento in cui giunge un impulso nervoso elettrico; questo neurotrasmettitore passa l'impulso al neurone immediatamente successivo legandosi ai recettori presenti sulla sua membrana.

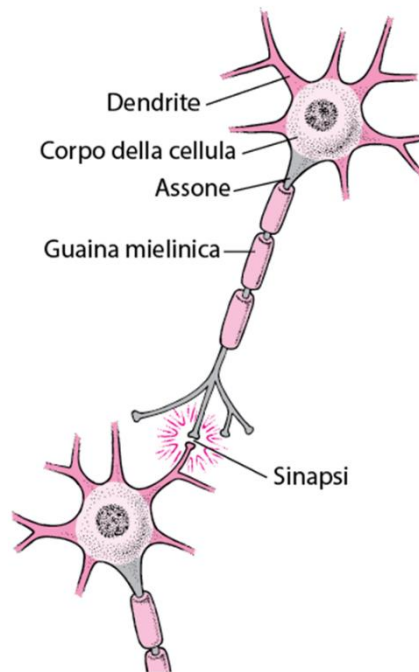


Figura 2: Cellule nervose

### 1.2.2 Cellule gliali

Le cellule della glia, o nevroglia, sono cellule di varia forma e funzione, non direttamente coinvolte nei processi di trasmissione degli impulsi nervosi, ma che costituiscono un sostegno strutturale ai neuroni, assicurando loro nutrimento, protezione dalle lesioni, e svolgendo altri compiti fisiologici quali l'isolamento elettrico degli assoni. Esempi di cellule della glia sono:

1. gli astrociti, cellule dotate di numerosi prolungamenti che ancorano fisicamente i neuroni assicurando loro il rifornimento di sangue. Regolano inoltre l'ambiente chimico esterno dei neuroni rimuovendo gli ioni, e catturano e riciclano i neurotrasmettitori rilasciati durante la trasmissione nervosa. Intervengono nella formazione della barriera ematoencefalica durante lo sviluppo del sistema nervoso centrale e nel mantenimento e nella regolazione delle attività di barriera degli endoteli cerebrali nell'adulto;
2. gli ependimociti, che delimitano le cavità del sistema nervoso centrale e, con il battito delle ciglia, favoriscono la circolazione del liquido cerebrospinale;
3. gli oligodendrociti e le cellule di Schwann che isolano elettricamente gli assoni rivestendoli di una sostanza grassa chiamata mielina, producendo la cosiddetta guaina mielinica. La guaina, avvolto più volte intorno all'assone, lo isola permettendo quindi una migliore propagazione dei segnali elettrici. Al contrario delle



cellule di Schwann, che rivestono tipicamente un unico assone alla volta, gli oligodendrociti possono rivestire più di un assone;

4. i microciti o cellule della microglia sono invece poco numerosi e risultano localizzati in vicinanza dei pirenofori o dei vasi. La loro funzione predominante è quella fagocitaria per la distruzione o la rimozione di frammenti di neuroni in degenerazione.

### *1.3 Mielina*

La mielina è una sostanza isolante a struttura lamellare, costituita prevalentemente da lipidi e proteine. La mielina riveste esternamente gli assoni dei neuroni e a seconda degli strati di mielina che avvolgono l'assone come mostrato in Figura 3, si parla di fibre nervose amieliniche (un solo strato con mancanza di una vera e propria guaina) e di fibre nervose mieliniche (manicotto multistrato). Dove c'è mielina, il tessuto nervoso appare biancastro; si parla quindi di sostanza bianca. Dove non c'è mielina, il tessuto nervoso appare grigiastro; si parla quindi di sostanza grigia.

La funzione principale della mielina è quella di consentire la corretta conduzione degli impulsi nervosi, amplificandone la velocità di trasmissione attraverso la cosiddetta "conduzione saltatoria". Nelle fibre mieliniche, infatti, la mielina non riveste gli assoni in modo uniforme, ma li ricopre a tratti, formando dei caratteristici strozzamenti; in questo modo l'impulso nervoso, anziché percorrere la fibra per l'intera lunghezza, può procedere lungo l'assone saltando da un nodo all'altro (in realtà non si propaga di nodo in nodo, ma ne salta qualcuno). Le interruzioni della guaina mielinica, tra un segmento e l'altro, sono definite nodi di Ranvier. Grazie alla conduzione saltatoria la velocità di trasmissione lungo l'assone passa da 0.5-2 m/s a circa 20-100 m/s.

Una funzione secondaria ma altrettanto importante della mielina è quella di protezione meccanica e sostentamento nutritivo nei confronti dell'assone che riveste. La funzione isolante è invece importante perché in assenza di mielina i neuroni, specie a livello SNC dove le reti neuronali sono particolarmente fitte, essendo eccitabili, risponderebbero ai moltissimi segnali circostanti, così come un filo elettrico privo di copertura isolante disperderebbe la corrente senza portarla a destinazione. La mielina è costituita dalla membrana plasmatica (plasmalemma) di cellule particolari, che si avvolge più volte attorno all'assone. A livello del sistema nervoso centrale, la mielina viene prodotta da cellule chiamate oligodendrociti, mentre a livello periferico la medesima funzione è svolta dalle cellule di Schwann. Entrambi i tipi cellulari appartengono alle cosiddette cellule gliali; la

mielina si forma quando queste cellule gliali avvolgono un assone con le loro membrane plasmatiche, portando il citoplasma all'esterno in modo che ogni avvolgimento corrisponda all'aggiunta di due strati di membrana.

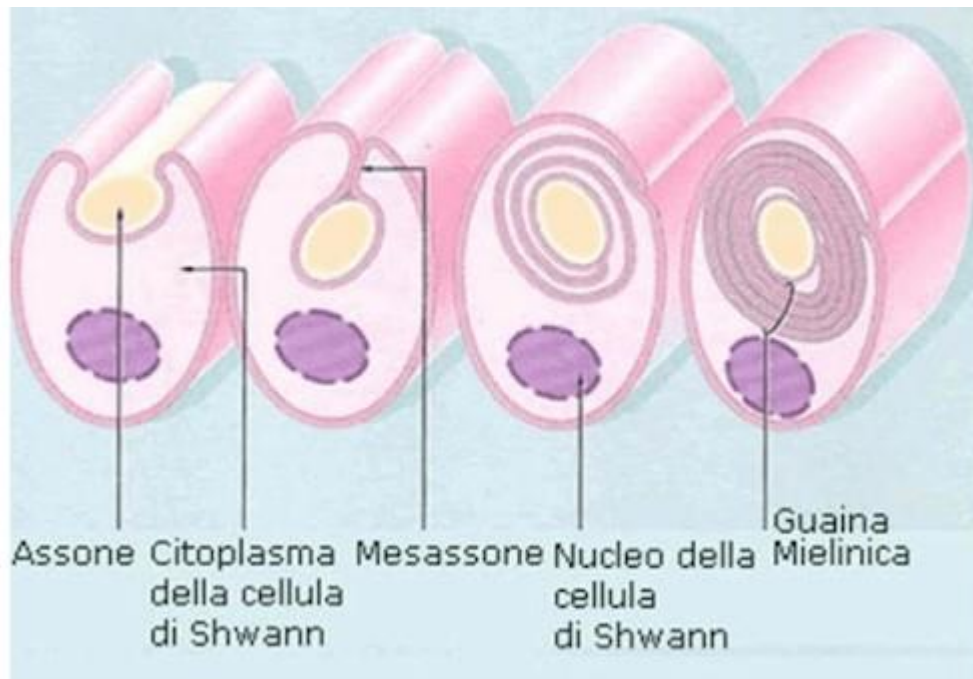


Figura 3: Strato di mielina che riveste l'assone

#### 1.4 Sinapsi e conduzione dell'impulso nervoso

Le sinapsi sono siti di contatto funzionale tra due neuroni. Detti anche giunzioni sinaptiche, questi punti di raccordo permettono la trasmissione di informazioni sottoforma di segnali elettrici (Figura 4). A seconda delle strutture coinvolte, tali impulsi possono essere trasmessi da un neurone all'altro, da un recettore sensoriale ad una terminazione nervosa o da un neurone ad una cellula effettrice periferica. Indipendentemente dagli elementi cellulari che vengono in contatto, la cellula che trasmette l'informazione è chiamata presinaptica, mentre quella che lo riceve è detta postsinaptica.

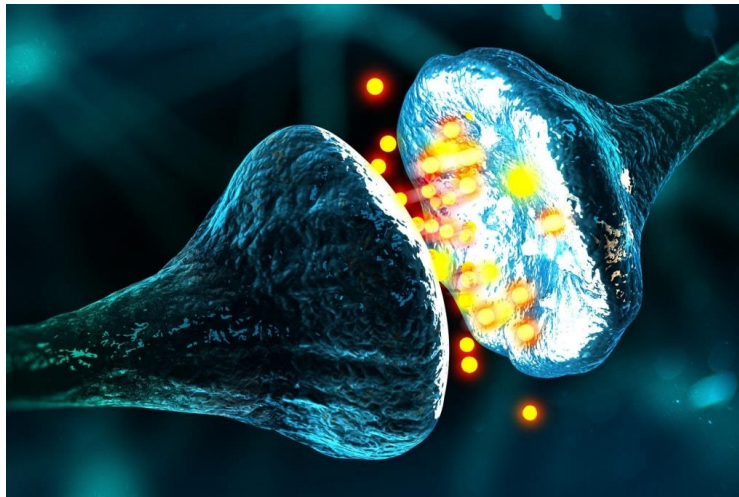


Figura 4: Sinapsi

Dal punto di vista funzionale, in relazione al tipo di segnale che viene trasmesso dalla cellula presinaptica a quella postsinaptica, si distinguono due diversi tipi di sinapsi: le sinapsi elettriche e chimiche (Figura 5).

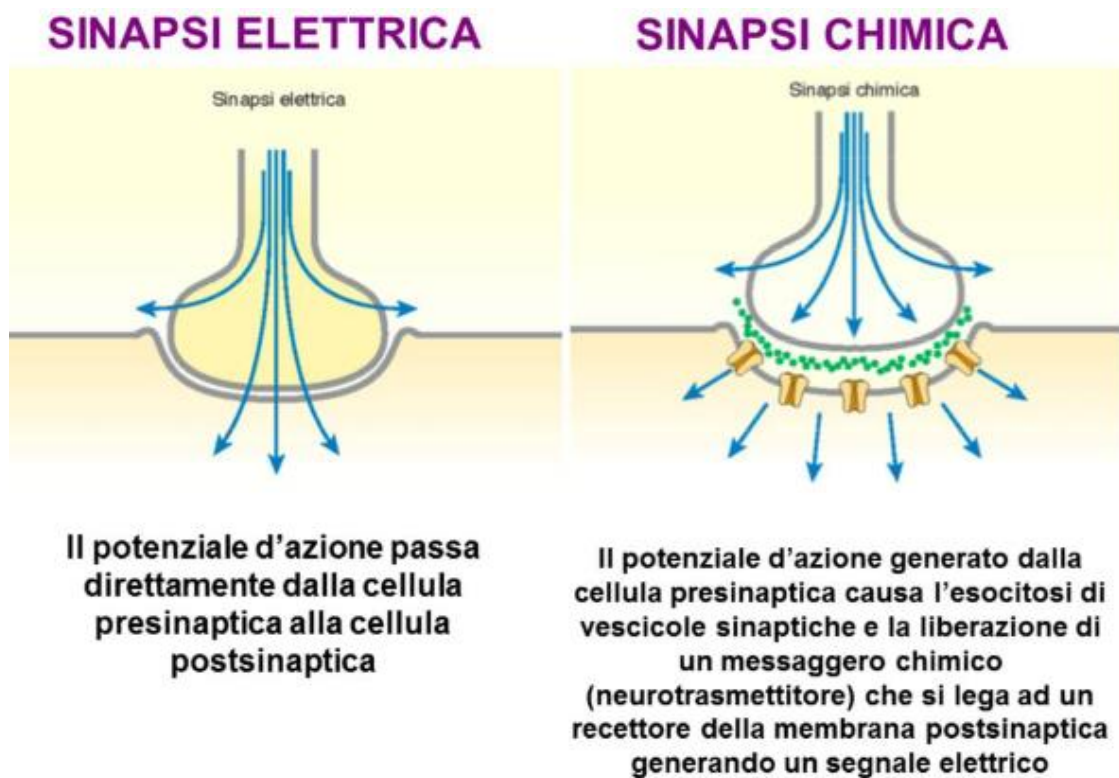


Figura 5: Sinapsi elettrica e chimica

Nelle sinapsi elettriche la conduzione dell'impulso nervoso è particolarmente veloce e istantanea, grazie al passaggio diretto di corrente da una cellula all'altra. Questo grazie all'estrema vicinanza o addirittura alla continuità citoplasmatica tra la cellula presinaptica e postsinaptica, e a strutture specializzate quali le gap junction o giunzioni comunicanti, che

si lasciano attraversare dall'onda di depolarizzazione del potenziale d'azione opponendo una bassissima resistenza. La comunicazione è affidata a correnti ioniche ed è generalmente bidirezionale, il che permette di sincronizzare le risposte neuroniche ed ottenere un'attivazione massiva e molto rapida.

Nelle sinapsi chimiche, di gran lunga più frequenti nel nostro organismo, la trasmissione dei segnali viene affidata ad un mediatore chimico, detto neurotrasmettitore. Rispetto alle precedenti, tra cellula presinaptica e cellula postsinaptica esiste un punto di discontinuità strutturale; in questo modo le membrane delle due cellule restano sempre distinte e separate da uno spazio detto fessura sinaptica. Le sinapsi chimiche inoltre sono unidirezionali e presentano un certo ritardo nella trasmissione del segnale elettrico (da 0,3 ms a qualche ms). Al sopraggiungere dell'impulso nervoso al bottone sinaptico, le vescicole che esso contiene, ricche di messaggeri chimici (neurotrasmettitori), si fondono con la membrana cellulare liberando il proprio contenuto nella fessura sinaptica. I neurotrasmettitori quindi vengono captati da specifici recettori posti sulla membrana postsinaptica, modificandone la permeabilità al passaggio di ioni. Si viene così a creare un potenziale post-sinaptico depolarizzante (apertura dei canali ionici, con risultante eccitazione) oppure iperpolarizzazione (chiusura dei canali ionici, con risultante inibizione). Una volta trasmesso il segnale, il neurotrasmettitore viene poi riassorbito dalla terminazione presinaptica o degradato da enzimi specifici presenti nella fessura della sinapsi.

## CAPITOLO 2: LE CONNESSINE

### 2.1 Gap Junction-Proteina Beta 1

Le connessine sono una famiglia di proteine di membrana largamente espresse nell'organismo umano; ogni connessina è costituita da quattro domini transmembrana con due loops extracellulari e uno citoplasmatico e si combinano in esameri a formare un connessone; ogni connessone, a sua volta, interagisce con un altro connessone di una cellula adiacente per formare canali intercellulari o gap junction (Figura 6): tali strutture sono molto importanti per gli scambi di elettroliti, secondi messaggeri e metaboliti. I connessioni sono presenti in molti tipi cellulari, in particolare, a livello delle sinapsi nervose e della giunzione neuromuscolare, permettendo il passaggio del potenziale d'azione.

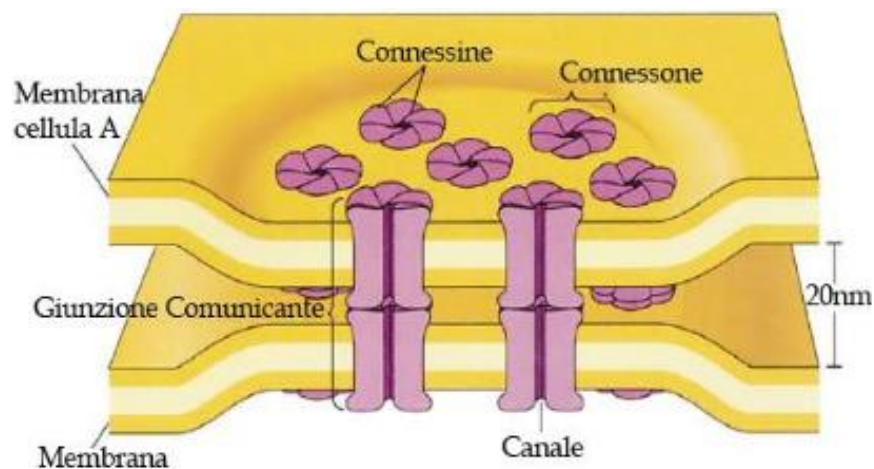


Figura 6: Canali intercellulari (Gap junction)

Gap junction proteina Beta 1, nota anche come connessina 32, è una proteina transmembrana che nell'uomo è codificata dal gene GJB1. La proteina Beta 1 fa parte della famiglia delle proteine gap junction che regola e controlla il trasferimento dei segnali di comunicazione attraverso le membrane cellulari e si trova principalmente nel fegato e nel sistema nervoso periferico. Mutazioni del gene GJB1 influenzano la segnalazione e il traffico molecolare attraverso le giunzioni gap, causando la neuropatia periferica ereditaria chiamata malattia di Charcot-Marie-Tooth legata all'X. Le complicazioni includono la demielinizzazione degli

oligodendrociti e delle cellule di Schwann, che causano ritardi nella trasmissione della comunicazione nervosa del sistema nervoso periferico, provocato dall'irregolarità della normale funzione delle cellule.

Kumar e Gilula hanno isolato il gene CX32 da una libreria di cDNA di fegato umano. Dall'analisi Northern blot, in un secondo momento, Bergoffen e i collaboratori hanno mostrato l'espressione del gene di CX32 nel fegato e nei nervi periferici. In particolare, la connessina 32 agisce a livello dei nodi di Ranvier e nelle incisure di Schmidt-Lanterman, dove forma giunzioni gap intercellulari che connettono le regioni citoplasmatiche delle cellule di Schwann, consentendo il trasferimento di nutrienti, ioni e molecole agli strati più interni della mielina. Willecke e collaboratori hanno utilizzato una sonda di cDNA di ratto nell'analisi Southern di un gruppo di ibridi di cellule somatiche umano-topo per mappare CX32 a Xp11-q13. Attraverso l'analisi di ibridi di cellule somatiche mediante PCR e ibridazione, Fishman e i collaboratori assegnarono il gene GJA1 al cromosoma 6 e il gene GJB1 a Xp11-q22. La somiglianza strutturale di questi geni ha indicato che probabilmente derivano da un gene progenitore comune. Utilizzando una serie di pannelli di mappatura ibrida di cellule somatiche e una sonda GJB1 di ratto, Corcos e i collaboratori hanno mappato il gene CX32 su Xq13.1 prossimale nell'intervallo 8, così descritto anche da Lafreniere e collaboratori. Dagli ibridi di cellule somatiche, Hsieh e i collaboratori hanno mappato GJB1 su Xcen-q22 ed il gene corrispondente sul cromosoma X del ratto. Raimondi e i collaboratori hanno poi perfezionato l'assegnazione a Xq13 mediante ibridazione in situ.

### *2.1.1 Genetica molecolare*

1. Mediante il sequenziamento diretto, Bergoffen e i collaboratori hanno identificato sette diverse mutazioni del gene CX32 in persone affette dalla malattia di Charcot-Marie-Tooth in otto famiglie con x dominante.
2. Bone e collaboratori hanno descritto l'analisi di sequenza attraverso 19 pazienti non imparentati con malattia di Charcot-Marie-Tooth legata all'x, rilevando sei nuove mutazioni e tre mutazioni precedentemente riportate. L'analisi della distribuzione di tali mutazioni e di quelle precedentemente riportate ha suggerito agli autori che tutte le regioni della connessina 32 sono importanti nella sua funzione.
3. Ionasescu e i collaboratori hanno studiato 27 famiglie con neuropatia di Charcot-Marie-Tooth legata all'x. In 22 famiglie sono state trovate mutazioni nella regione codificante del gene CX32. Queste mutazioni includevano quattro mutazioni nonsense, otto mutazioni missenso, due delezioni di medie dimensioni e una inserzione. La maggior parte delle mutazioni missenso hanno mostrato un fenotipo clinico lieve, mentre tutte le mutazioni nonsense, la più grande delle due delezioni e

l'inserimento che ha prodotto frameshifts hanno mostrato fenotipi gravi. Non sono state trovate mutazioni puntiformi nella regione codificante del gene CX32 in 5 famiglie CMTX1 con fenotipo clinico lieve. In 3 di queste famiglie è stato trovato un legame genetico positivo con i marcatori della regione Xq13.1; non è stato possibile valutare il legame genetico delle restanti due famiglie a causa delle loro piccole dimensioni.

4. Omori e i collaboratori hanno studiato quattro mutazioni note nel gene della connessina 32: da lisina60 a fenilalanina, situato nella regione transmembrana e infine da arginina215 a triptofano, situati nella coda citoplasmatica. Dato che le cellule HeLa (cellule tumorali immortalizzate altamente stabilizzate e molto usate nella ricerca scientifica) non mostravano livelli rilevabili di comunicazione intercellulare o espressione di alcuna connessione, hanno testato gli effetti funzionali della trasfezione di geni mutanti in colture HeLa. Le prime tre mutazioni non sono state in grado di ripristinare il GJIC nelle cellule HeLa trasfettate, a differenza del GJIC normale rilevato con l'ultima mutazione. Inoltre, l'effetto dominante negativo è stato testato su cellule HeLa doppiamente trasfettate e i ricercatori hanno scoperto che la bassa espressione del gene mutante CX32 aveva un effetto relativamente significativo sulla diminuzione del GJIC. Omori e i collaboratori hanno quindi concluso che alcuni mutanti formano connessioni chimeriche non funzionali ovvero connessioni wildtype.
5. Nelis e i collaboratori hanno descritto cinque nuove mutazioni nel gene CX32. Jansen e i collaboratori hanno eseguito l'analisi SSCP del gene CX32 in 121 pazienti selezionati da un gruppo più ampio di 443 pazienti sulla base del collegamento a Xq13.1, dell'assenza di duplicazione o delezione 17p12 e assenza di mutazioni puntiformi in PMP22 e PO. In 35 pazienti non imparentati affetti da CMTX senza duplicazione di 17p11.2, ma con conduzione nervosa mediana tra 30 e 40 m/s, Roger e i collaboratori hanno esaminato una mutazione CX32. Sono state trovate in totale 14 mutazioni, 5 delle quali non erano state precedentemente segnalate. Tutte le mutazioni tranne una sono state rilevate da SSCP. Le mutazioni che causano CMTX sono state trovate principalmente nell'esone 2 del gene. Latour e i collaboratori hanno identificato un totale di 19 mutazioni nel gene CX32, come causa di CMTX in 21 famiglie francesi.
6. Ikegami e i collaboratori hanno affermato che più di 130 diverse mutazioni del gene GJB1, comprese le regioni codificanti e non codificanti, erano state ritrovate in pazienti affetti da CMT legata all'X. Negli studi su 45 famiglie giapponesi con

CMT1, sono state trovate cinque mutazioni del gene GJB1, quattro delle quali non precedentemente segnalate. Dunque GJB1 è espresso sia nel sistema nervoso periferico che in quello centrale. Di conseguenza, non sorprende che i pazienti con CMTX1 e mutazioni specifiche di GJB1 abbiano sia una neuropatia periferica che un disturbo cerebrale lieve o transitorio.

## 2.2 *Gap Junction-Proteina Beta 2*

Il gene GJB2 produce la proteina gap junction beta 2, più comunemente nota come connessina 26. Tale connessina si trova nelle cellule di tutto il corpo, compreso l'orecchio interno e la pelle. A causa della sua presenza nell'orecchio interno, in particolare la struttura a forma di chiocciola chiamata coclea, i ricercatori sono interessati al ruolo di questa proteina in tale regione. Hearing spiega la conversione delle onde sonore ad impulsi nervosi elettrici. Questa conversione coinvolge molti processi, tra cui il mantenimento del corretto livello di ioni potassio nell'orecchio interno. Alcuni studi indicano che i canali formati dalla connessina 26 sono implicati nel mantenere il corretto livello di ioni di potassio. Altre ricerche indicano che la connessina 26 è necessaria per la maturazione di alcune cellule della coclea. Essa inoltre, gioca anche un ruolo nella crescita, maturazione e la stabilità dello strato più esterno della pelle (epidermide). Il gene GJB2 è situato lungo il braccio del cromosoma 13 tra le posizioni 11 e 12.

È stato osservato che mutazioni del gene GJB2 può provocare diverse patologie:

1. la sindrome di Bart-Pumphrey, ovvero sordità sindromica genetica rara, caratterizzata da nocche imbottite simmetriche o asimmetriche (di solito localizzate sulle articolazioni distali e interfalangee), leuconichia, cheratoderma palmoplantare diffuso e sordità neurosensoriale congenita da lieve a moderata;
2. la sindrome cheratite-ittiosi simil-istrice-sordità (KID/HID: Keratitis-ichthyosis-deafness syndrome/Hystrix-like ichthyosis with deafness) è una malattia rara ectodermica congenita. Le ittiosi sono un gruppo di disordini genetici con effetti sulla pelle, il cui comune aspetto è di far apparire la pelle come coperta di squame, secca, screpolata, arrossata o anormalmente ispessita. Le squame possono essere quasi invisibili o talmente evidenti da essere notate alla prima occhiata e gli altri sintomi possono essere da praticamente inesistenti a talmente gravi da non risultare compatibili con la vita. In particolare, la sindrome KID/HID è caratterizzata da cheratite vascolarizzante, lesioni cutanee ipercheratosiche e sordità. Ne sono stati descritti meno di 100 casi a livello globale. I pazienti di solito presentano alla nascita



eritema generalizzato e desquamazione ittiosiforme. I segni cutanei sono progressivi, con placche cheratosiche ed eritematose ben demarcate che interessano prevalentemente il volto, il cuoio capelluto, le orecchie, i gomiti e le ginocchia. Sono comuni la distrofia ungueale, l'alopecia, l'assenza o la rarefazione delle sopracciglia e delle ciglia. Le lesioni cutanee tendono a infettarsi e sono stati segnalati rari casi a esito letale a seguito di infezioni ricorrenti con setticemia. Sebbene i casi con esito letale siano rari, le manifestazioni cutanee persistono per tutta la vita. Inoltre, circa il 12% dei pazienti sviluppa carcinoma a cellule squamose. La sordità è congenita, di solito neurosensoriale, spesso profonda. In alcuni pazienti i segni oculari non sono presenti alla nascita, ma possono presentarsi durante l'infanzia e l'adolescenza con fotofobia, cheratite punteggiata e vascolarizzazione corneale progressiva. I difetti della cornea e la progressiva vascolarizzazione e cicatrizzazione causano difetti della vista che possono peggiorare fino alla cecità. L'associazione tra la perdita della vista e dell'udito può causare un grave ritardo dello sviluppo. In alcuni casi sono stati osservati disturbi neuromuscolari e cerebellari;

3. il cheratoderma palmoplantare con sordità: almeno nove mutazioni del gene GJB2 sono state identificate nelle persone con cheratoderma palmoplantare con sordità, una condizione caratterizzata da pelle insolitamente spessa, in particolare sui palmi delle mani e piante dei piedi. Le mutazioni genetiche che causano cheratoderma palmo-plantare con sordità cambiano i singoli aminoacidi nella connessina 26. La proteina alterata interrompe la funzione della normale connessina 26 nelle cellule, interferendo con la funzione di altre connesine. Questa perturbazione potrebbe influenzare la crescita della pelle e anche mettere in pericolo l'udito disturbando la conversione delle onde sonore degli impulsi nervosi;
4. la sindrome Vohwinkel: almeno tre mutazioni del gene GJB2 sono state identificate in persone affette dalla sindrome di Vohwinkel. Questa condizione è caratterizzata da perdita dell'udito e anomalie della pelle. Inoltre gli individui affetti sviluppano bande strette di tessuto fibroso intorno alle dita e ai piedi che può influenzare la circolazione e provocare l'amputazione spontanea. Questa sindrome può influenzare la crescita della pelle e mettere in pericolo l'udito disturbando la conversione delle onde sonore degli impulsi nervosi.

### *2.2.1 Genetica molecolare*

Kelsell e i collaboratori (1997) identificarono una mutazione omozigote nel gene GJB2 in membri affetti di 3 famiglie con sordità autosomica recessiva neurosensoriale non sindromica legata alla regione 13q11-q12. Con immunoistochimica, Kelsell e i collaboratori

(1997) dimostrarono che CX26 ha un alto livello di espressione nelle cellule umane cocleari. Denoyelle e i collaboratori (1999) notarono che 140 bambini di 104 famiglie presentavano vari gradi di perdita dell'udito neurosensoriale. Mutazioni di CX26 erano presenti in 43 (49%) di 88 famiglie con sordità prelinguale rispetto a nessuno delle 16 famiglie con forme postlinguale di sordità. La sordità variava da lieve a profonda associata a CX26, ed è stato associato con pendenza o curve audiometriche piatte e un normale orecchio interno. La perdita dell'udito non era progressiva in 11 su 16 casi esaminati, e le variazioni della gravità della sordità tra fratelli e sorelle erano comuni. Dahl e i collaboratori (2006) identificarono una mutazione omozigote nel gene GJB2 in 4 dei 48 bambini australiani con lieve perdita dell'udito neurosensoriale; tutti i 4 bambini hanno mostrato sordità neurosensoriale bilaterale ad alta frequenza, e 3 avevano anche perdita di udito a bassa frequenza.

### *2.3 Gap Junction-Proteina Beta 3*

Il gene GJB3 è stato trovato sul cromosoma 1p36-p34. Xia e i collaboratori successivamente hanno mappato il gene GJB3 su 1p35-p33 mediante ibridazione in situ a fluorescenza e attraverso vari studi è stato visto che il gene GJB3 codifica per la connessina 31. Liu e i suoi collaboratori hanno scoperto che CX31 e CX26 erano coespresse nella coclea (parte dell'orecchio) del topo e coassemblate in giunzioni gap.

#### *2.3.1 Genetica molecolare*

Mutazioni del gene GJB3 provocano Erythrokeratoderma variabilis et progressiva, un disturbo della cheratinizzazione, caratterizzato da placche eritrocheratosiche fisse, associate a lesioni eritemarose migratorie in alcuni pazienti (Figura 7). In 4 su 12 famiglie con EKV, Richard e i suoi collaboratori, hanno rilevato mutazioni missenso eterozigoti nel gene GJB3 che portano alla sostituzione di una glicina conservata con residui carichi o al cambiamento di una cisteina. Si prevedeva che queste mutazioni interferissero con la normale struttura e funzione di CX31, probabilmente a causa di un effetto dominante negativo. Pertanto, i risultati hanno fornito la prova che la comunicazione intercellulare mediata da CX31 è cruciale per la differenziazione epidermica e la risposta a fattori esterni. Richard e i suoi collaboratori hanno affermato che questo rapporto è stato il primo a collegare le mutazioni in un gene che codifica per una connessina ad una malattia della pelle nell'uomo; inoltre lo stesso Richard ha osservato che erano necessari ulteriori studi funzionali in vitro e in vivo per capire come il gene mutante CX31 altera la differenziazione dell'epidermide e colpisce il sistema microcapillare cutaneo (eritema transitorio).

Wilgos e i collaboratori hanno identificato l'eterozigosi per una mutazione missenso nel gene GJB3 nei membri affetti di una famiglia con EKV.

Richard e i collaboratori (2000) hanno analizzato il gene GJB3 in 2 famiglie in cui vi erano 3 pazienti sporadici con EKV e in 2 famiglie con 4 pazienti sporadici con la forma simmetrica progressiva (PSEK) dell'eritrocheratodermia, inclusa una famiglia precedentemente descritta da Macfarlane e i collaboratori in cui 1 sorella aveva caratteristiche di EKV e l'altra di PSEK. Richard e i collaboratori hanno identificato 3 mutazioni eterozigoti in GJB3 in pazienti con EKV: in un caso sporadico, hanno rilevato una mutazione che porta alla sostituzione di una fenilalanina conservata (F137L) nel terzo dominio transmembrana, che probabilmente interferisce con il corretto assemblaggio o proprietà di gating delle connessine. In un'altra famiglia EKV, tutti e 3 gli individui affetti presentavano 2 mutazioni distinte sullo stesso allele GJB3; tuttavia, solo la mutazione R42P si è cosegregata con la malattia, mentre una delezione di 12 bp prevista per l'eliminazione di 4 residui di amminoacidi nel dominio carbossi-terminale variabile di Cx31 è stata trovata anche in parenti clinicamente non affetti ma non in 90 controlli non affetti. Richard e i collaboratori hanno affermato che nel complesso avevano identificato mutazioni GJB3 in 6 su 17 famiglie con EKV; tutte le mutazioni probabilmente interessano i domini citoplasmatici ammino-terminali e transmembrana di Cx31. Al contrario, 2 mutazioni legate alla progressiva compromissione dell'udito, erano localizzate nel secondo dominio extracellulare, suggerendo che il carattere e la posizione delle mutazioni Cx determinano la loro espressione fenotipica in diversi tessuti.



*Figura 7: Placche eritrocheratosiche provocate da Erythrokeratodermia variabilis et progressiva*

In un fratello e una sorella di una famiglia israeliana che segregavano EKV autosomica recessiva, Gottfried e i collaboratori (2002) hanno identificato l'omozigosi per una mutazione missenso nel gene GJB3. I genitori non affetti, erano eterozigoti per la mutazione non rinvenuta nei 208 cromosomi di controllo. Gottfried et al. (2002) hanno suggerito che la mutazione missenso potrebbe non essere in grado di esercitare un effetto dominante-negativo in forma eterozigote, manifestandosi clinicamente solo nell'omozigote.

In un bambino olandese di 4 anni con la forma migratoria di EKVP, van Geel e i collaboratori hanno identificato una mutazione eterozigote nel gene GJB3 e una delezione omozigote di 4 bp nel gene GJB4. L'analisi dei membri della famiglia non affetti ha rivelato che entrambi i genitori e il nonno materno erano eterozigoti per la delezione GJB4, mentre la madre e il nonno materno erano eterozigoti per la variante GJB3; inoltre, la sorella sana della paziente

aveva l'identico genotipo GJB3/GJB4 della paziente, escludendo così la variazione del DNA come causa della malattia. Van Geel e i collaboratori hanno successivamente esaminato 84 controlli non correlati e hanno trovato 5 eterozigoti per la delezione GJB4 (frequenza allelica, 0,03) e 3 per la variante GJB3 (0,02), suggerendo che entrambe le variazioni rappresentano polimorfismi normali nella popolazione olandese. Van Geel et al. (2002) hanno notato che la variante GJB3 era stata precedentemente rilevata in una famiglia con cheratoderma palmoplantare, con l'aggiunta di difetti dell'udito rinvenuti da Kelsell e i collaboratori, il quale ha suggerito che potrebbe essere un polimorfismo.

## *2.4 Gap Junction-Proteina Gamma 2*

Il gene che codifica per la proteina gamma 2 è GJA12 ed è localizzato sul cromosoma 1q41-42. Menichella e i suoi collaboratori hanno scoperto che CX47 (del gene Gja12) è espresso specificamente negli oligodendrociti e la sua espressione è regolata insieme ad altri geni che agiscono nella mielina. Si è visto che CX47 e CX32 (gene GJB1) parzialmente localizzati negli oligodendrociti, assieme alle cellule di Schwann sintetizzano le membrane mieliniche multilamellari che circondano gli assoni.

Mediante analisi RT-PCR, Uhlenberg e i collaboratori hanno esaminato l'espressione di GJA12 rispetto a quella di GJB1. Entrambi erano più espressi nel cervello e nel midollo spinale rispetto al tessuto nervoso periferico.

### *2.4.1 Genetica molecolare*

In base a vari studi effettuati, mutazioni del gene provocano una lieve neuropatia motoria demielinizzante periferica, prevalentemente degli arti inferiori e dunque coerente con l'espressione di GJA12 nel tessuto del nervo sciatico e surale. Poiché Gjb1 e Gja12 sono funzionalmente ridondanti nel topo, Uhlenberg e i suoi collaboratori hanno fornito l'ipotesi che i mutanti missenso di GJA12 trovati nei loro pazienti, avevano una malattia simile a Pelizaeus-Merzbacher (PMLD) con funzione anomala degli oligodendrociti. Tale sindrome è una leucodistrofia legata all'X con ritardo dello sviluppo, nistagmo, ipotonia, spasticità e deficit cognitivo di gravità variabile. Successivamente Dickmann e i collaboratori hanno studiato gli effetti funzionali di 4 diverse mutazioni GJC2 simili a PMDL nelle cellule HeLa e nei precursori degli oligodendrociti. Gli studi effettuati sui canali di conduzione hanno mostrato correnti disfunzionali paragonabili al tipo selvatico. I risultati hanno indicato che la PMLD è più spesso causata da una perdita di funzione dell'attivazione dei canali, o da una disfunzione della polarizzazione dei canali stessi. Mutazioni del gene GJA12 possono causare:

1. la paraplegia spastica familiare, ovvero una malattia neurodegenerativa che interessa in particolare il midollo spinale e il cervelletto (Figura 8). Può manifestarsi durante l'infanzia oppure durante l'età adulta in due forme differenti. La forma pura è caratterizzata da spasticità (aumento del tono muscolare a riposo, con rigidità o spasmi) e da debolezza muscolare degli arti inferiori, che provocano una più o meno marcata difficoltà a camminare; la forma complicata presenta anche altre manifestazioni, come anomalie della vista, sordità, ritardo mentale. In tre membri affetti di una famiglia italiana con paraplegia spastica ereditaria-44, Orthmann-Murphy e i collaboratori hanno identificato una mutazione omozigote nel gene GJC2. Entrambe le mutazioni hanno interessato il dominio extracellulare. Gli autori hanno notato che il fenotipo era meno grave della leucoencefalopatia ipomielinizzante-2, causato da un disordine degli alleli;

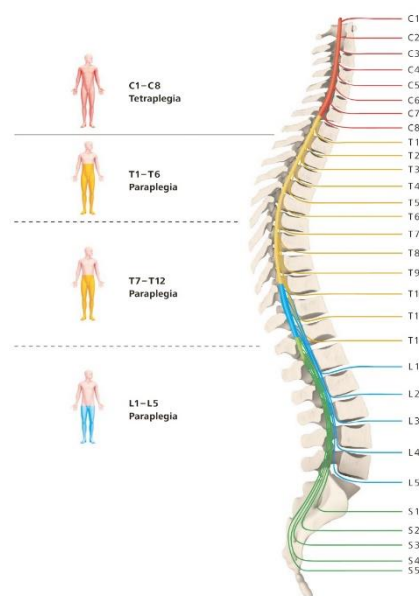
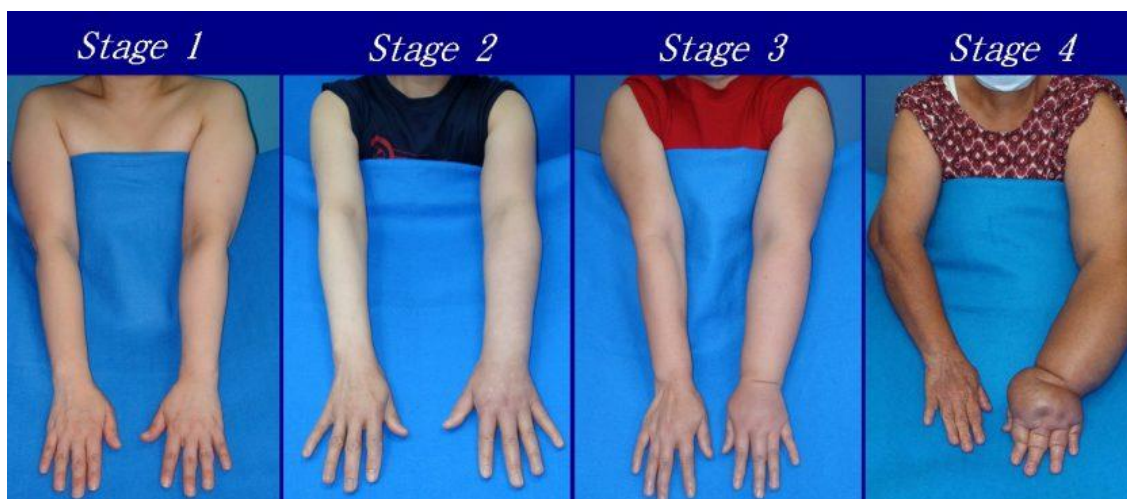


Figura 8: Paraplegia spastica familiare

2. il linfedema, ovvero un ristagno di linfa nei vari distretti dell'organismo, espressione di una compromissione del sistema linfatico. Il linfedema secondario può conseguire a patologie (adenopatie, diabete, linfoangite, cellulite batterica, erisipela, filariosi linfatica) o derivare dalla rimozione chirurgica dei linfonodi (eseguita, per esempio, per asportare masse tumorali). Il sintomo più ricorrente del linfedema è il gonfiore ad un braccio (Figura 9) o ad una gamba. Tra gli altri sintomi ricordiamo: alterazione della cromia della pelle, difficoltà a muovere l'arto colpito, pelle suscettibile alle infezioni, prurito e tensione della pelle. Nei membri affetti di due grandi famiglie con

malformazione linfatica 3 autosomica dominante, Ferrell e i collaboratori hanno identificato 2 diverse mutazioni eterozigoti nel gene GJC2. Entrambe le mutazioni hanno interessato il dominio extracellulare. Gli individui affetti hanno manifestato un linfedema non complicato degli arti inferiori e alcuni hanno successivamente sviluppato un coinvolgimento degli arti superiori. Ferrell e i collaboratori hanno ipotizzato che le mutazioni possano comportare una ridotta attività del canale, che può causare una compromissione della coordinazione del flusso linfatico pulsatile. Quattro ulteriori mutazioni putative nel gene GJC2 sono state identificate in 4 famiglie più piccole con linfedema; non sono stati effettuati studi funzionali. Mediante analisi di linkage seguita da sequenziamento dell'intero esoma, Ostergard e i collaboratori hanno identificato una mutazione eterozigote nel gene GJC2 in otto membri affetti di una famiglia con linfedema primario autosomico dominante. L'analisi genetica di una famiglia affetta non imparentata, ha identificato la stessa mutazione patogena. Un ulteriore sequenziamento di questo gene in 19 individui non imparentati con linfedema, Ostergard e i collaboratori hanno concluso che le mutazioni in GJC2, sono una causa significativa di linfedema primario autosomico dominante;

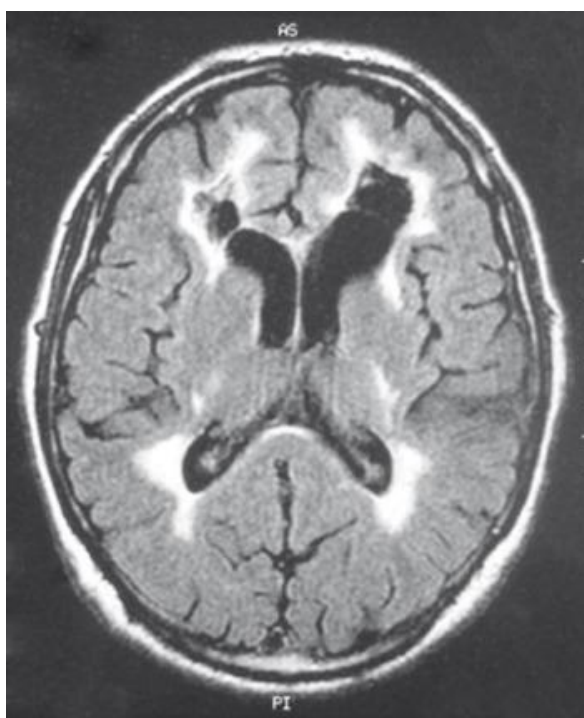


*Figura 9: Gonfiore al braccio provocato da linfedema*

3. le leucodistrofie ipomielinizzanti costituiscono un gruppo di diverse malattie genetiche, caratterizzate dal progressivo danneggiamento del sistema nervoso centrale (cervello e midollo spinale) e raramente dei nervi periferici causato da alterazioni della struttura e del funzionamento della sua componente principale, la mielina (Figura 10). Nelle leucodistrofie, mutazioni ereditarie nei geni che



producono le proteine della mielina, o sono essenziali per il funzionamento degli oligodendrociti, provocano la degenerazione primaria della sostanza bianca (leucodistrofie demielinizzanti) o la ridotta produzione di mielina (leucodistrofie ipomielinizzanti), con conseguenti alterazioni della funzione dei neuroni. In alcune leucodistrofie, la mielina è danneggiata da mutazioni che causano il malfunzionamento di cellule, denominate astrociti, che partecipano allo sviluppo e al mantenimento della funzionalità degli oligodendrociti. Il disturbo più comune delle leucodistrofie è costituito da una graduale diminuzione delle capacità di movimento (o un ritardo dello sviluppo motorio) a partire dalle prime fasi dell'infanzia. Con il passare del tempo possono essere compromesse alcune funzioni vitali quali la deglutizione, la masticazione e, nei casi più gravi, la respirazione. Al danneggiamento del sistema motorio possono associarsi anche diminuzione delle capacità mentali e alterazioni del linguaggio, della visione, dell'udito e del comportamento. Tra i disturbi tipici di alcune leucodistrofie sono presenti episodi di epilessia e improvvisi aggravamenti delle condizioni cliniche dopo traumi cranici, anche lievi, o febbri.



*Figura 10: Danneggiamento della mielina provocato dal disturbo della leucodistrofia*

In una famiglia turca consanguinea, Uhlenberg e i collaboratori hanno scoperto che i membri con leucodistrofia ipomielinizzante autosomica recessiva erano omozigoti



per una transizione da timina a citosina in posizione 857 del gene GJA12 che si prevedeva avrebbe provocato una sostituzione di amminoacidi da metionina 286 a treonina. Tre membri colpiti hanno contratto anche le convulsioni. Orthmann-Murphy e i collaboratori hanno affermato che questa mutazione è MET283THR e l'espressione della proteina M283T mutante nelle cellule HeLa ha mostrato che la proteina mutante si era parzialmente accumulata nel reticolo endoplasmatico, provocando una perdita di funzione delle giunzioni gap.

## *2.5 Gap Junction-Proteina Alfa 1*

Il gene GJA1 codifica per la connessina-43 (Cx43), una delle proteine connessine più abbondanti. Due membri della famiglia delle connessine, le connessine 43 e 32 (GJB1), sono abbondantemente espresse rispettivamente nel cuore e nel fegato. Kaba e i collaboratori hanno notato che i miociti cardiaci sono accoppiati elettricamente tramite giunzioni gap. La colorazione immunoistochimica del topo embrionale e del cuore fetale umano ha localizzato CX43 nello strato trabecolato dei ventricoli in via di sviluppo, con colorazione più forte sul lato destro. Successivamente, Sohl e i suoi collaboratori hanno affermato che topo e uomo, condividono il 97% di identità di amminoacidi della connessina 43. Inoltre l'analisi Northern blot ha rilevato l'espressione variabile di un trascritto CX43 di 3.0 kb sia nel topo che nell'uomo, con la massima espressione nel cuore.

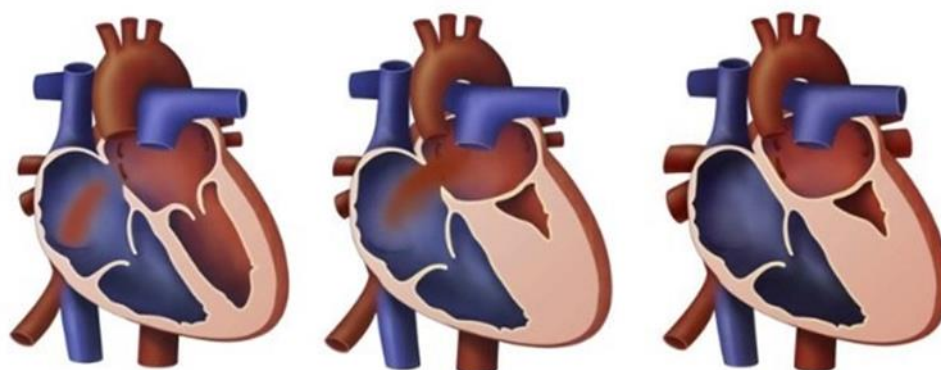
### *2.5.1 Genetica molecolare*

Per identificare le basi molecolari della connessina-43, Fishman e i collaboratori (1991) hanno utilizzato la mutagenesi sito-diretta per generare cDNA mutanti della connessina-43 umana con domini di coda citoplasmatici accorciati. I risultati hanno suggerito che il dominio della coda citoplasmatica è un determinante importante dell'evento di conduttanza unitaria dei canali di giunzione gap ma non la loro dipendenza dal voltaggio. Utilizzando il trasferimento del colorante per rilevare la presenza di giunzioni gap funzionali, Lee e i collaboratori (1992) hanno determinato che le cellule epiteliali mammarie normali che esprimevano CX26 e CX43, ma non le cellule tumorali, contenevano giunzioni gap funzionali. Nelle cellule sincronizzate, l'espressione di CX26 è stata regolata dal ciclo cellulare, mostrando un'espressione moderata durante G1 e S e una forte sovraregolazione alla fine di S e G2. CX43 è stato espresso costitutivamente a un livello basso durante tutto il ciclo cellulare. L'estere del forbole ha indotto la riespressione dei 2 trascritti CX26 nelle cellule epiteliali del tumore mammario, ma non la riespressione di CX43. Oviedo-Orta e i collaboratori (2000) hanno notato che GJA1 è espresso in un certo numero di organi linfoidi.

Mediante analisi RT-PCR, Western blot e citometria a flusso, hanno mostrato che i linfociti esprimono GJA1 e GJA5. L'espressione di GJA5 era limitata ai linfociti T e B tonsillari. L'analisi citometrica a flusso ha mostrato che l'espressione di GJA1 e GJA5 aumenta dopo la stimolazione mitogenica. Il peptide della connessina extracellulare ha bloccato il trasferimento del colorante tra le sottopopolazioni di linfociti e gli inibitori delle giunzioni gap hanno ridotto la produzione di IgM nei linfociti T e B in co-cultura. I risultati hanno identificato le proteine della giunzione gap come importanti componenti della superficie cellulare che modulano le risposte immunitarie. Tsai e i collaboratori (2003) hanno notato che l'espressione di CX43, CX45 (GJA7) e CX37 (GJA4) ha dimostrato di riflettere lo stadio e la maturità dei follicoli luteinizzati negli studi sugli animali. Hanno scoperto che queste connessine erano espresse nella maggior parte delle cellule della granulosa dei follicoli preovulatori luteinizzati umani. L'espressione è bruscamente diminuita nei follicoli stimolati più grandi di 5,5 ml. Solo l'espressione di CX43 ha predetto una prognosi migliore per la fecondazione in vitro. Neijssen e i collaboratori (2005) hanno dimostrato che i peptidi con una massa molecolare fino a circa 1.800 diffondono a livello intercellulare attraverso giunzioni gap, a meno che non venga imposta una struttura tridimensionale. Questo trasferimento di peptidi intercellulari provoca il riconoscimento delle cellule T citotossiche delle cellule adiacenti e dei monociti attivati. Il trasferimento del peptide mediato dalla giunzione gap è limitato a poche cellule di accoppiamento a causa dell'elevata attività della peptidasi citosolica. Neijssen e i collaboratori (2005) hanno presentato un modello di acquisizione dell'antigene di due cellule adiacenti e si perde nella maggior parte dei tumori attraverso l'accoppiamento di peptidi intercellulari mediato dalla giunzione gap. Elia e i collaboratori (2007) hanno mostrato che le subunità gap junction CX26 e CX43 sono espresse nei punti di contatto tra le fibre radiali e i neuroni in migrazione e che la downregulation acuta di CX26 o CX43 compromette la migrazione dei neuroni verso la piastra corticale. Inaspettatamente, le giunzioni gap non mediano la migrazione neuronale agendo nel modo classico, cioè fornendo un canale per la comunicazione cellula-cellula. Invece, le giunzioni gap forniscono contatti adesivi dinamici che interagiscono con il citoscheletro interno per consentire la stabilizzazione del processo principale lungo le fibre radiali e la successiva traslocazione del nucleo. Elia e i collaboratori (2007) hanno concluso che le aderenze delle giunzioni gap sono necessarie per la migrazione neuronale guidata dalla glia.

Mutazioni del gene GJA1 possono arrecare:

1. la sindrome del cuore sinistro ipoplasico, ovvero un difetto congenito nel quale il lato sinistro del cuore, compresa la camera cardiaca inferiore (ventricolo sinistro), le valvole cardiache (valvola mitralica e aortica) e l'aorta non si sviluppano a sufficienza (Figura 11). I neonati con sindrome del cuore sinistro ipoplasico presentano anche un difetto del setto interatriale (DIA) e un dotto arterioso pervio. Tutto ciò comporta che il ventricolo sinistro sia incapace a sostenere l'adeguata perfusione di tutti gli organi, mentre le sezioni destre del cuore (che hanno il compito di pompare il sangue non ossigenato nei polmoni) sono in genere normalmente sviluppate. L'unica via di uscita del sangue per sostenere la circolazione in tutto l'organismo è il dotto arterioso, un vaso presente nella vita fetale che mette in comunicazione l'arteria polmonare con l'aorta assicurando così la perfusione di tutti gli organi. Dopo la nascita il dotto arterioso inizia a chiudersi, di solito nelle prime ore/primi giorni di vita, pertanto gli organi vitali vengono scarsamente irrorati e si instaura uno stato di shock. Senza trattamento, la sindrome del cuore sinistro ipoplasico è quindi fatale nelle prime ore o nei primi giorni di vita.



*Figura 11: Sindrome del cuore sinistro ipoplasico*

Attraverso vari studi, Dasgupta e i collaboratori, hanno analizzato il gene GJA1 in 46 controlli e 20 riceventi di trapianto di cuore, utilizzando l'elettroforesi su gel a gradiente denaturante per visualizzare DNA normale e mutante, che poi sono stati sequenziati separatamente. In 8 bambini con sindrome del cuore sinistro ipoplasico

e 1 con un difetto del canale atrioventricolare, hanno identificato 4 sostituzioni identiche: 2 mutazioni missenso e 2 polimorfismi. I risultati degli studi di fosforilazione in vitro, hanno indicato l'assenza di arginine 362 e 376 che abolisce completamente la fosforilazione nel dominio di regolazione del canale GJA1;

2. la displasia oculo-dento-digitale (DODD), che è caratterizzata da anomalie craniofacciali, neurologiche, oculari e degli arti. Sono stati descritti circa 250 casi (per lo più soggetti bianchi). La malattia è caratterizzata da grande variabilità fenotipica intra- e interfamiliare. Le anomalie craniofacciali caratteristiche comprendono il naso sottile con ali ipoplastiche, le narici piccole, anteverse e la columella prominente, l'iperaccrescimento della mandibola, la palatoschisi e la microcefalia (Figura 12). I segni scheletrici consistono nella sindattilia (che interessa le IV-V dita delle mani e/o le dita II-IV dei piedi), nella camptodattilia e nella clinodattilia, da ipoplasia o aplasia delle falangi medie. Possono essere presenti iperostosi del cranio e un allargamento delle ossa tubulari. Le anomalie oculari comprendono la riduzione dell'acuità visiva, la microftalmia, la microcornea, la cataratta, il glaucoma, le anomalie dell'iride e l'atrofia ottica. Sono meno comuni il nistagmo, l'ipoplasia delle rime palpebrali, l'epicanto e lo strabismo convergente. La maggior parte dei pazienti presenta anomalie della dentizione permanente e primitiva, associate a microdonzia, anodontia parziale, ipoplasia dello smalto, carie multiple e perdita prematura dei denti. I sintomi neurologici sono comuni e variabili e comprendono la disartria, i disturbi neurogeni della vescica, la paraparesi spastica, l'atassia, la debolezza muscolare della tibia anteriore e le convulsioni. Alcuni pazienti presentano orecchie displastiche e sordità di tipo trasmissivo. È stato osservato un lieve ritardo psicomotorio. L'imaging cerebrale mediante risonanza magnetica (MRI) mostra anomalie della sostanza bianca. Possono essere presenti unghie fragili e alterazioni dei capelli (ipotricosi e crescita lenta). Sono state descritte raramente cardiopatie, che comprendono aritmie o malformazioni congenite (difetto del setto ventricolare).



*Figura 12: Anomalie craniofacciali*

La DODD è dovuta alle mutazioni eterozigoti nel gene GJA1, che codifica per una proteina gap junction, la connessina 43 (Cx43). Sono state identificate più di 40 mutazioni patogenetiche. Sono state descritte le mutazioni nel gene GJA1 anche nella sindattilia tipo 3, suggerendo che queste due condizioni cliniche facciano parte dello stesso spettro fenotipico. Nella maggior parte dei casi, la DODD è trasmessa come carattere autosomico dominante a elevata penetranza ed espressione variabile. Nei casi sporadici di DODD, è stata notata un'età paterna avanzata. Sono state descritte cinque famiglie che presentavano apparentemente una trasmissione autosomica recessiva, ma questo dato necessita di essere confermato. La diagnosi si basa sui segni clinici e può essere confermata attraverso le analisi molecolari. La diagnosi differenziale si pone con un ampio gruppo di sindromi che associano segni scheletrici, oculari, dentali e neurologici. Nei casi familiari, il rischio di ricorrenza è elevato e deve essere presa in considerazione la diagnosi prenatale della mutazione;

3. la sindattilia tipo 3 (SD3) che è una malformazione congenita rara della porzione distale degli arti, caratterizzata dalla fusione di due o più dita della mano (Figura 13) o del piede. Questa forma di malformazione riguarda il quarto e quinto dito della mano (i piedi non sono quasi mai interessati da questo tipo di sindattilia). Si ha per lo più interessamento dei tessuti molli, tuttavia in alcuni casi si può avere la fusione delle dita anche a livello di ossa ed unghie. Richardson e i collaboratori hanno

descritto 10 mutazioni nel gene GJA1, di cui hanno portato all'introduzione di un cambiamento di senso nei due terzi N-terminali della connessina-43, evidenziando l'importanza funzionale di questa regione della proteina. Una di queste mutazioni si è verificata in una famiglia che mostrava sindattilia di tipo III ma non i reperti oftalmici, scheletrici o dentali solitamente associati al disturbo;



*Figura 13: Fusione delle dita della mano provocata da sindattilia*

4. il cheratoderma palmoplantare autosomico dominante con alopecia congenita (PPK-CA), infine, è una malattia genetica rara della cute, caratterizzata dall'assenza dei capelli e dei peli del corpo e da cheratoderma palmoplantare, senza altre complicazioni a livello delle mani. La PPK-CA autosomica dominante si manifesta di solito nel periodo neonatale. L'esordio molto precoce si caratterizza spesso per la scomparsa definitiva dei capelli, dei peli facciali e corporei nei primi mesi di vita. La cheratosi pilare sul corpo e sul viso è un segno aggiuntivo, che compare successivamente. Nel periodo neonatale si osserva cheratoderma palmoplantare, che può presentare una distribuzione inusuale che coinvolge entrambi i lati delle dita e dei palmi delle mani (Figura 14), mentre sono di solito preservate le superfici palmari. In 3 pazienti di 2 famiglie cinesi con cheratoderma palmoplantare e alopecia-1 congenita (PPKCA1), Wang e i collaboratori (2015) hanno identificato l'eterozigosi per una mutazione missenso nel gene GJA1. La mutazione è stata segregata con la malattia in entrambe le famiglie e non è stata trovata in 212 controlli etnicamente abbinati.



*Figura 14: Cheratoderma palmoplantare*

## CAPITOLO 3: LA MALATTIA DI CHARCOT-MARIE-TOOTH

### *3.1 Introduzione*

La malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT) è una neuropatia genetica che colpisce il sistema nervoso periferico, e dovuta all'alterazione di uno dei numerosi geni, alcuni dei quali non ancora noti, che determinano la formazione del nervo. Le neuropatie periferiche possono essere classificate, in base alla distribuzione del deficit, in mononeuropatie (un solo nervo interessato), multineuropatie (più di un nervo interessato in maniera asimmetrica) oppure polineuropatie (interessamento diffuso e simmetrico dei nervi). Queste ultime possono essere dovute a svariate cause, tra cui quelle genetiche (degenerative o metaboliche), tossiche, carenziali, infiammatorie/immunomediate, infettive. La CMT è caratterizzata da debolezza e atrofia dei muscoli, più spesso distali, che appaiono come "dimagriti", e da ridotta sensibilità. I sintomi partono dai piedi e si diffondono progressivamente verso le gambe, parte delle cosce e le mani. Sono frequenti anche le malformazioni osteotendinee come i piedi cavi con dita a martello e, meno frequentemente, le mani en griffe. La malattia esordisce di solito prima dei 20, anche se sono noti casi ad esordio tardivo (III/IV decade), ed è progressiva, ossia peggiora con il tempo, potendo portare ad esiti completamente diversi tra loro: da insignificanti variazioni nelle capacità motorie, all'atrofia degli arti, che arrivano ad assumere una caratteristica forma assottigliata, con una serie di effetti correlati, da difficoltà di deambulazione, deformazioni dello scheletro, in particolare dei piedi che si presentano cavi e dolori muscolari, fino in rari casi alla necessità permanente della carrozzina. La frequenza, probabilmente sottostimata, è di un caso ogni 2.500 persone e l'esordio di solito prima dei 20 anni. La gravità è variabile non solo tra famiglie differenti, ma anche all'interno di una stessa famiglia: si riscontrano infatti casi lievissimi, in cui l'unica alterazione è il piede cavo e rari casi in cui la capacità di camminare è persa o molto ridotta. La progressione, per lo più, è molto lenta e vi possono essere lunghi periodi di stazionarietà.



### 3.2 *Trasmissione e forme*

Sono noti oltre 70 geni malattia, ma molti sono ancora da scoprire. La trasmissione avviene più spesso con modalità autosomica dominante (basta cioè ereditare una copia alterata del gene da uno dei genitori per manifestare la malattia), ma sono note anche alcune forme a trasmissione autosomica recessiva (i genitori sono portatori sani e ciascuno dei figli ha il 25% di probabilità di essere affetto) o legate al cromosoma X (le donne sono colpite in forma lieve e ciascuno dei loro figli maschi ha il 50% di probabilità di ereditare la malattia, che manifesterà però in forma più grave). Di seguito sono elencati i maggiori sottotipi:

- a. Tipo 1: sono le forme demielinizzanti, in cui la guaina che riveste le fibre nervose, detta mielina, si consuma lentamente, alterando la conduzione nervosa. Infatti, nell'elettroencefalografia (ENG), la velocità di conduzione motoria (VCM) è inferiore a 38 metri/sec. L'ereditarietà autosomica è dominante (nella maggioranza dei casi) o recessiva o legata al sesso. Tra queste forme, si riconoscono la CMT1A, che è la più frequente (circa 80% dei casi di CMT) e il cui difetto genetico è una duplicazione del gene che codifica per la Proteina Mielinica di 22 kD (PMP22), specifica della mielina periferica, sul cromosoma 17. Nella forma HNPP, neuropatia ereditaria con predisposizione alle paralisi da compressione dei nervi (che si manifesta di solito con "addormentamento" degli arti in certe posizioni), c'è nella maggioranza dei casi una delezione (assenza) dello stesso gene PMP22;
- b. Tipo 2: sono le forme assonali, in cui viene compromesso il "core" del nervo, cioè l'assone. La VCM è uguale o maggiore a 38 metri/sec. Se ne distinguono anche qui diverse forme, in base al gene mutato;
- c. CMT legata al cromosoma X (X-linked). La CMT1X è così chiamata in quanto è legata al cromosoma X. Poiché le femmine portatrici sono spesso colpite, è considerata una forma a trasmissione X-linked dominante (Kleopa e Scherer, 2006). La CMT1X è causata da mutazioni in GJB1, il gene che codifica per la connessina 32 (Cx32); sono state identificate centinaia di mutazioni diverse. La CX32 forma gap junction, giunzioni comunicanti, canali a livello di membrane cellulari giustapposte, che permettono la diffusione di ioni e piccole molecole. La CX32 è localizzata nelle incisure e nelle regioni paranodali delle cellule di Schwann mielinizzanti, e probabilmente forma gap junctions tra strati adiacenti della guaina mielinica. Si pensa che la perdita di queste giunzioni porti a demielinizzazione e perdita assonale, le principali manifestazioni patologiche negli esseri umani e nei topi con mutazioni in GJB1/Gjb1. Per i maschi affetti, l'esordio clinico si verifica tra i 5 e i 20 anni di

età. I primi sintomi comprendono difficoltà a correre e frequenti distorsioni della caviglia, successivamente vengono coinvolti i muscoli gastrocnemio e soleo, fino al punto in cui sono richiesti dispositivi per l'assistenza alla deambulazione. Si sviluppano anche debolezza, atrofia e perdita di sensibilità nelle mani, in particolare nei muscoli dell'eminanza tenar. Queste manifestazioni cliniche sono il risultato di una perdita assonale cronica, lunghezza-dipendente, e sono quasi indistinguibili da quelle osservate nei pazienti con CMT1A o CMT1B. Tuttavia, la trofia muscolare, soprattutto dei muscoli intrinseci della mano, i fenomeni sensitivi positivi e la perdita di sensibilità possono essere manifestazioni più evidenti nei pazienti con CMT1X. La velocità di conduzione del nervo mediano o ulnare motorio è tipicamente nel range di 30-40 m/s (intermedio); le risposte sensitive sono in genere assenti tranne che nel bambino. Le donne affette di solito hanno un'insorgenza più tardiva rispetto agli uomini, dopo la fine della seconda decade, ed una versione più lieve dello stesso fenotipo ad ogni età, perché solo una frazione delle loro cellule di Schwann esprime l'allele mutato di GJB1 legato alla inattivazione casuale del cromosoma X. Le donne possono anche essere asintomatiche e alcune famiglie sono state descritte come affette da CMT1X recessiva. Tuttavia anche in queste famiglie almeno alcune delle portatrici obbligate dimostrano evidenza elettrofisiologica di neuropatia periferica. Molte mutazioni GJB1 sembrano essere associate ad alterazioni elettrofisiologiche, chimiche e/o di RM da coinvolgimento del sistema nervoso centrale (SNC). Il coinvolgimento subclinico è comune: molti pazienti hanno delle risposte ritardate allo studio dei potenziali evocati acustici del tronco e le vie visive e motorie centrali possono dimostrare alterazioni. Questi reperti elettrofisiologici potrebbero derivare da un meccanismo di gain of function dato che non sono stati ritrovati in pazienti con la delezione del gene GJB1. Manifestazioni cliniche di coinvolgimento del SNC (spasticità e riflessi ipervivaci) sono state riportate in pazienti con alcune mutazioni; l'entità di tali alterazioni può essere mascherato dalla neuropatia periferica. Un coinvolgimento più sorprendente a carico del SNC è stato riportato in singoli pazienti con duplicazione degli amminoacidi 55-61 (atassia cerebellare e disartria) o con la mutazione Val63Ile (ritardo mentale), ma la relazione tra queste anomalie e le mutazioni GJB1 non è provata;

- d. CMT autosomiche recessive (ARCMT). Le forme di ARCMT, più rare delle precedenti, sono spesso ad esordio più precoce e più gravi. Di solito combinato segni di sofferenza dell'assone e della mielina e sono causate da mutazioni in innumerevoli geni.



Figura 15: Debolezza e distrofia degli arti inferiori

### 3.3 Gli esordi

L'inizio della CMT avviene per lo più in maniera lenta e spesso i primi sintomi vengono riferiti a cause non neurologiche, guardando cioè in prevalenza all'indebolimento dei muscoli, che consegue alla degenerazione delle fibre nervose motorie. Solo in pochi casi la malattia colpisce abbastanza rapidamente la muscolatura dei piedi e delle gambe, per poi rimanere stazionaria per qualche decennio.

I primi sintomi sono: inciampo sull'avampiede o per piccoli gradini (più frequente a piedi nudi), distorsioni di caviglia, goffaggine nel camminare, crampi ai polpacci, facilità alle cadute a terra. Spesso il paziente migliora spontaneamente il cammino, utilizzando scarpe con il tacco e facendo rialzare dal calzolaio la parte laterale delle soles, ove si consuma di più. Con il passare del tempo, l'indebolimento della flessione dorsale dei piedi si accentua (Figura 15) e il paziente è costretto a sollevare le ginocchia più del normale, per evitare di inciampare con la punta dei piedi: questo cammino, che ricorda quello del cavallo, è detto deambulazione "steppante" o equina, ed è piuttosto stancante. Raramente la malattia si diffonde ai muscoli delle cosce; quando questo avviene, di solito in fase molto avanzata di malattia salvo per alcune forme molto rare e di solito di ARCMT, il conseguente scarso controllo del ginocchio, il cedimento degli arti inferiori e le frequenti cadute, possono portare

alla decisione di utilizzare la carrozzina. Per quanto riguarda le mani, l'inizio dei sintomi è più tardivo e spesso l'indebolimento è talmente lieve che non determina un deficit funzionale. I disturbi più frequentemente lamentati sono difficoltà ad abbottonarsi e a sbottonarsi, a usare chiusure lampo, a cucire, a scrivere calcando, a girare la chiave, a svitare tappi e coperchi di barattoli. Questi problemi si accentuano con il freddo, che comporta anche una sensazione molesta alle gambe, un peggioramento dell'equilibrio e della sensibilità fine. L'alcool e alcuni farmaci possono causare peggioramento. Il dolore non è frequente e, a parte i crampi, non è dovuto alla neuropatia, ma alle sue conseguenze sull'apparato osteoarticolare (deformità dei piedi e delle ginocchia, artrosi, esiti di traumatismi). Sebbene dopo i 50 anni di età si verifichi un lento peggioramento, nella maggior parte dei casi la disabilità non è grave. La malattia non riduce la durata della vita ma ne peggiora sensibilmente la qualità (Figura 16). L'indebolimento dei muscoli si accompagna al loro assottigliamento (atrofia muscolare). Una deformità tipica, ma non esclusiva della CMT, è il già citato piede cavo, presente nella maggioranza dei casi, di solito accompagnato dalla tipica deformazione delle dita "a martello". Nel 10% dei casi vi è cifoscoliosi. Esistono infine forme rarissime in cui si indeboliscono anche i muscoli respiratori e quelli della fonazione, con paralisi delle corde vocali, come pure forme in cui sono compromessi altri organi e apparati (specie l'orecchio, con sordità neurosensoriale e l'occhio con atrofia ottica). Certamente la ricerca dovrà percorrere ancora molta strada per avere un quadro completo e certo delle caratteristiche sintomatologiche della CMT, ma in ogni caso si può dire che essa solo in poche situazioni presenti una disabilità grave, tanto da costringere all'uso della carrozzina.



Figura 16: Sintomi della malattia di Charcot-Marie-Tooth

### 3.4 Esami e diagnosi

La diagnosi di sospetta CMT parte dall'osservazione clinica e si avvale dell'esame elettrofisiologico ai quattro arti e, sempre meno, della biopsia del nervo. È ormai fondamentale il test genetico dopo un semplice prelievo del sangue, con la ricerca di mutazioni nei numerosi geni coinvolti, che consente la diagnosi precisa in oltre il 60% dei casi. Tuttavia, la lista dei geni è destinata ad allungarsi nel tempo e metodiche di indagine di analisi del DNA di nuova generazione permettono l'analisi contemporanea di molteplici geni. La biopsia del nervo dovrebbe essere sempre l'ultima indagine, da considerarsi solo in casi particolari e quando gli esami precedenti non abbiano identificato alcuna delle forme di CMT rilevabili con i test a disposizione. Va detto per altro che quasi tutti i casi gravi noti sono figli di persone che, al momento del concepimento, non avevano ancora manifestato alcun sintomo oppure i cui genitori erano portatori sani (forme recessive). Identificare le basi genetiche permette comunque al paziente sia di pianificare il proprio futuro gestendo meglio il trattamento riabilitativo, sia di beneficiare prontamente dei risultati della ricerca. Inoltre tramite una consulenza genetica è possibile decidere per un'interruzione di gravidanza con maggiore consapevolezza o pianificare con maggiore coscienza il percorso di diagnosi preimpianto e le alternative di fecondazione assistita per evitare il rischio di ricorrenza.

### *3.5 Caso Studio*

Barbara ha 49 anni ed è affetta da Charcot-Marie-Tooth, una malattia rara del sistema nervoso periferico, che limita progressivamente l'autonomia degli arti. Come molti di noi, ha dovuto affrontare molte battaglie fin dalla giovane età, scontrandosi con i propri demoni interiori e con una società spesso poco attenta alle sue esigenze. Attraverso questo diario, Barbara riferisce la sua testimonianza sulla sua esperienza con la Charcot-Marie-Tooth e i benefici della chirurgia, aiutandoci a comprendere i disagi, le difficoltà e il percorso che ha saputo compiere fino a oggi, con gran sacrificio e tenacia, supportata dall'amore per la propria famiglia e da un'associazione come ACMT-Rete, che da 20 anni aiuta persone come lei, attraverso la propria rete di specialisti.

Parla Barbara:

Mi chiamo Barbara, ho 49 anni e sono affetta da CMT. I primi sintomi della malattia sono comparsi all'età di 13 anni circa, quando a scuola non riuscivo ad eseguire gli esercizi di ginnastica come i miei compagni ed avevo un piede molto cavo, brutto e deforme, che mi vergognavo di mostrare in pubblico. I professori segnalavano le mie difficoltà al medico di famiglia e da allora cominciarono le visite. All'inizio erano solo ortopedici, poi uno di loro capì che il problema era di carattere neurologico, disse che progressivamente avrei perso la capacità di camminare, la vista e l'udito e mi inviò presso la Clinica delle Malattie Nervose del Policlinico Umberto I di Roma. Arrivò la prima diagnosi: Polineuropatia ereditaria motoria e sensitiva. Mi prescrissero un farmaco ed elettromiografie periodiche per monitorare la situazione. Intanto, anche una delle mie sorelle (sono l'ultima di tre figlie) manifestava difficoltà nel camminare, stanchezza e cadute frequenti, fu sottoposta ad esame elettromiografico ai nervi di gambe e braccia ed ebbe la mia stessa diagnosi. Consigliati da un parente medico, i miei genitori consultarono privatamente un altro neurologo, il quale parlò di "Malattia di Charcot-Marie-Tooth". Al contrario dei precedenti, disse che nel tempo non ci sarebbero stati grandi peggioramenti e che sicuramente la modalità di trasmissione era recessiva, in quanto i miei genitori non manifestavano i segni della malattia. Il tempo passava ed io riuscivo comunque a fare tutto quello che facevano gli altri. A diciotto anni presi la patente e poi trovai lavoro in una macelleria, era un lavoro abbastanza pesante perché non si trattava solo di stare dietro ad un bancone, dovevo anche tagliare la carne, preparare gli insaccati e pulire. Qualche anno dopo iniziai ad avere i primi veri sintomi: stanchezza e cadute frequenti. I muscoli del polpaccio cominciarono ad assottigliarsi, finché all'età di 42 anni per camminare avevo bisogno di scarpe ortopediche su misura e tutori. Lentamente la

situazione peggiorava, il piede sinistro si piegava sempre di più con la punta rivolta verso l'interno causandomi forte dolore alla caviglia, all'anca e al ginocchio; mi procurai anche diverse lussazioni al ginocchio e fui costretta a portare un tutore per stabilizzarlo. Fu allora che decisi di iscrivermi all'Associazione e di prenotare una visita con il Dr Paolo Zerbinati.

17 Giugno 2021: mi trovo nella clinica "Sol et salus" di Torre Pedrera, in attesa di essere ricoverata. Sono trascorsi ormai quattro mesi dalla visita con il Dottor Zerbinati e la situazione si è ulteriormente aggravata: cammino con il malleolo e in questi mesi il tecnico ortopedico ha dovuto apportare adattamenti e rialzi al tutore, più o meno ogni dieci giorni. Ho anche una piaga da decubito, procurata dal tutore, che potrebbe ritardare il ricovero. C'è la possibilità che mi rimandino a casa, ma dovrò stare a letto finché la piaga non guarisce completamente. Come faccio? Non ho nessuno che mi aiuta, mio marito lavora tutto il giorno e mio figlio sta attraversando un momento difficile ed ha bisogno di essere seguito. Sono disperata e ne parlo con il Dottor Zerbinati che alla fine decide di farmi fare di nuovo le analisi del sangue per valutare i livelli dell'infezione. L'attesa è interminabile... Alla fine la notizia tanto sperata: mi operano, ma sarà l'ultimo intervento della giornata. Per fortuna l'agonia è finita. Alle 16:30 circa entro in sala operatoria per allungamento percutaneo achilleo, allungamento flessore lungo alluce e dita, osteotomia di estensione percutanea, artrotomia periastraglica, reinserzione tibiale posteriore, splatt e release fascia plantare del piede sinistro (interventi prevalentemente su tendini e muscoli per rimettere il piede in asse e favorire un migliore appoggio, NdR).

18 Giugno 2021: ore 8:00 del mattino. È andato tutto bene, sono in piedi e muovo piccoli passi nella stanza, non mi sembra vero di poter poggiare tutto il piede a terra. Mi dicono che già oggi farò un'ora di fisioterapia.

2 Luglio 2021: secondo i terapisti e i medici, sto recuperando al meglio la funzionalità della gamba. Ogni giorno faccio il tapis roulant, la cyclette, le scale, esercizi vari per il potenziamento della muscolatura e per l'equilibrio e linfodrenaggio. L'assistenza è di ottimo livello ed il personale, molto preparato e professionale, è sempre disponibile e gentile.

## CAPITOLO 4: TERAPIE E TRATTAMENTI

### *4.1 Terapie disponibili per la malattia di Charcot-Marie-Tooth*

I trattamenti attualmente disponibili per la CMT variano dalla terapia medica, per contenere il dolore e ridurre la fatica e i crampi, fino all'impiego di sostegni, come tutori o plantari, per migliorare l'appoggio dei piedi. In molti casi, per le deformazioni scheletriche, si ricorre alla chirurgia, che ha una funzione preventiva oltre che correttiva. Inoltre, è certamente importante non trascurare la fisioterapia riabilitativa, che aiuta a prevenire il peggioramento del quadro clinico: infatti, ACMT-Rete si sta duramente battendo affinché lo Stato italiano garantisca ai pazienti la continuità del trattamento fisioterapico.

Attualmente non esiste una terapia farmacologica per tale malattia, tuttavia vi sono opzioni terapeutiche in via di sviluppo per la patologia; sono oggi in atto sperimentazioni basate su approcci molto differenti, il primo e più avanzato dei quali riguarda il farmaco PXT3003, una miscela di baclofen, sorbitolo e naltrexone attualmente in valutazione all'interno dello studio clinico di Fase III PREMIER, in svolgimento in diversi centri di ricerca in Europa e nel mondo. In Italia, ad essere coinvolti nella sperimentazione sono l'Azienda Ospedaliero-Universitaria "San Martino" di Genova, l'Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico "G. Martino" di Messina, l'Università Tor Vergata di Roma e l'Ospedale Policlinico "G.B. Rossi" di Verona.

Per il trattamento della CMT non mancano approcci che guardano alle vie della neuregulina, proteina coinvolta nel mantenimento dello spessore della mielina, o mirati al ripristino della funzionalità assonale. Un tema verso cui è rivolta grande attenzione, riguarda il tentativo di ridurre la sovraespressione della proteina PMP22, alla base della CMT1, forma demielinizzante della Charcot-Marie-Tooth contraddistinta da una notevole riduzione della velocità di conduzione nervosa.

Sono inoltre allo studio, benché ancora su modelli animali, potenziali soluzioni che coinvolgono l'uso di oligonucleotidi antisenso (ASO) e di small interfering RNA (siRNA), mentre altre opzioni prevedono il ricorso alla terapia genica, attraverso cui introdurre un gene mancante (nel caso delle forme autosomiche dominanti o legate al cromosoma X) o sostituire quello difettoso (nel caso delle forme recessive o in altre legate sempre al cromosoma X).



Al momento i pazienti possono convivere meglio con la CMT grazie alla chirurgia e riabilitazione, che finora ha dato ottimi risultati. Anche in questo campo, le conoscenze sono ancora insufficienti e poco diffuse a individuare percorsi mirati e utili a impedire la progressione della neuropatia. In quanto affetti da questa patologia, è importante non sottovalutare i problemi legati all'equilibrio ed evitare di cadere, perché lunghi periodi di immobilizzazione possono essere deleteri per il sistema muscolare già compromesso. L'utilizzo di ortesi e ausili come scarpe adatte, opportunamente modificate, di plantari ben confezionati ed eventualmente di tutori di caviglia, migliora notevolmente l'equilibrio e il cammino. Una moderata attività fisica può essere utile, un'attenta chirurgia del piede può migliorare l'equilibrio e il cammino. Attraverso vari studi si è visto che il 71% dei pazienti con CMT presenta deformità ai piedi. Di questi, il 30% degli individui si è sottoposto a intervento chirurgico, mentre nel 25%-41% dei casi vengono utilizzate ortesi (tutori gamba/piede o plantari). Inoltre l'instabilità posturale nella Charcot-Marie-Tooth è dovuta a diversi fattori tra cui: l'ipostenia muscolare e lo squilibrio presente tra muscoli dorsiflessori/plantiflessori della caviglia, le deformità scheletriche ai piedi, il deficit di sensibilità a livello distale degli arti inferiori e raramente deficit vestibolari e uditivi (CMT4). In letteratura non sono state svolte revisioni sistematiche relative a questa problematica, ma vi sono dei trials che dimostrano che esercizi di equilibrio, con e senza ausilio di apparato meccanico e stimolazione meccanica vibratoria, migliorano la stabilità dei pazienti con Charcot-Marie-Tooth (Matjačić Z. et al. 2006, Pazzaglia C. 2016). Un recente studio, svolto su un numero esiguo di pazienti, ha dimostrato che un allenamento svolto su treadmill antigrafitario porta a miglioramenti nell'equilibrio (Kirsten L. Knak et al., 2017). In linea con la letteratura scientifica, l'obiettivo generale che la fisioterapia si propone nella Charcot-Marie-Tooth è migliorare la qualità della vita, attraverso prevenzione, educazione e riabilitazione dei soggetti affetti. In particolare la Fisioterapia è orientata al raggiungimento dei seguenti obiettivi:

1. migliorare la forza muscolare dei distretti corporei prossimali degli arti superiori e inferiori, del tronco, al fine di compensare il deficit di forza distale;
2. mantenere la forza presente nei distretti distali di arti superiori e inferiori, in particolare dei muscoli intrinseci di mani e piedi;
3. recuperare e mantenere adeguata estensibilità delle catene muscolari;
4. contrastare l'insorgenza di deformità ossee a livello delle estremità distali di arto superiore e inferiore ed evitarne lo strutturarsi;
5. migliorare l'equilibrio nelle varie posture, per favorirne un maggior controllo in stazione eretta e nel cammino;

6. ridurre la sintomatologia dolorosa, sia di natura nocicettiva che neuropatica;
7. diminuire l'incidenza di crampi;
8. ridurre la fatica e migliorare la capacità aerobica.

Gli obiettivi vengono raggiunti mediante la somministrazione di esercizi attivi eseguiti a corpo libero, con pesi leggeri, con l'ausilio di piccoli attrezzi o particolari pedane o con l'uso di realtà virtuale, terapia manuale passiva, addestramento e allenamento all'utilizzo di ortesi e/o ausili e, infine, con l'educazione alla adozione di uno stile di vita sano, nel quale l'attività fisica regolare svolge un ruolo fondamentale (Figura 17).



*Figura 17: Fisioterapia riabilitativa per il trattamento della CMT*

Interessanti sono le prospettive di trattamento per la patologia del dottor Davide Pareyson, dirigente medico e responsabile clinico delle neuropatie degenerative centrali e periferiche. Egli lavora presso l'Istituto Neurologico "Carlo Besta" di Milano ed è responsabile del Registro NMD per la CMT e dirigente del protocollo realizzato con ACMT-Rete. Proprio il dott. Pareyson è stato protagonista del webinar promosso da ACMT-Rete (Figura 18), associazione che da vent'anni è impegnata nella creazione di reti di collaborazione tra pazienti affetti da malattia di Charcot-Marie-Tooth e clinici, sostenendo corsi di formazione per volontari, medici e fisioterapisti e supportando progetti di informazione su questa patologia, di cui, in Italia, si contano circa 17mila casi (in Europa il totale dei casi non arriva a 200mila).



*Figura 18: Associazione ACMT-Rete per la malattia di Charcot-Marie-Tooth*

Di solito, il riconoscimento della malattia è affidato al pediatra e, successivamente, si arriva al coinvolgimento del neurologo o del neuropediatra, ma non sempre ciò si realizza, anche perché la diagnosi non è semplice: occorre valutare con attenzione il quadro clinico, esplorando la familiarità e studiando le diverse modalità di trasmissione della patologia (la forma autosomica dominante è la più diffusa, ma esistono anche forme a trasmissione recessiva o legata al cromosoma X). Di particolare importanza è l'esecuzione di uno studio di elettrofisiologia, tramite cui ottenere informazioni sulla velocità di conduzione del riflesso nervoso e sull'ampiezza dei potenziali motori e sensitivi. Infine, è possibile ricorrere a tecniche di analisi del DNA per indagare la presenza di eventuali mutazioni correlate a specifiche varianti di patologia, nel tentativo di distinguere così la Charcot-Marie-Tooth da altre neuropatie genetiche, acquisite o autoimmuni, dalle miopatie distali o da altre malattie del motoneurone.

#### *4.2 Il punto di vista degli esperti*

Il dr. Francesco Ferraro sarà ambasciatore della quarta Campagna di sensibilizzazione della Federazione Europea CMT sulla malattia di Charcot-Marie-Tooth. Ferraro è Direttore della struttura di Riabilitazione Neuromotoria del Presidio di Bozzolo (MN) e Direttore del dipartimento di Riabilitazione dell'ASST di Mantova. Da anni è in essere una collaborazione con ACMT-Rete che ha dato ottimi frutti in termini di produzione scientifica e risultati ottenuti, come ad esempio il lavoro scientifico sull'utilità della chirurgia nei pazienti con

malattia di Charcot-Marie-Tooth (CMT) o il protocollo riabilitativo post-chirurgico. Di seguito è riportata l'intervista:

- Dr. Ferraro, come ha scoperto dell'esistenza della malattia di Charcot-Marie-Tooth? Era la fine degli anni '90 e lavoravo come medico fisiatra nell'Ospedale Maggiore di Parma. Fu lì che grazie al Prof. Franco Gemignani iniziai a conoscere persone con deficit funzionali causati dalla Malattia di Charcot-Marie-Tooth. Avevo da poco terminato la Specializzazione in Neurologia, che ritenevo un completamento della mia formazione professionale di Specialista in Medicina Fisica e Riabilitazione. Iniziare a valutare pazienti con deficit sensitivi e motori così peculiari che mi diede la possibilità di approfondire concetti fondamentali per la riabilitazione. Nelle persone con CMT, ebbi modo di valutare come tali soggetti presentano deficit neurologici che causano alterazioni biomeccaniche dell'apparato muscolo-scheletrico che rendono difficoltose funzioni importanti come la deambulazione, l'equilibrio e la funzionalità della mano, con conseguente alterazione della qualità della vita. I concetti, fondamentali per la riabilitazione, di presa in carico della persona precocemente, in modo continuativo nel tempo, con una visione bio-psico-sociale e con un lavoro in team, si adattavano perfettamente alla cura di queste persone. Entrai quindi a far parte del gruppo di specialisti che si occupavano di CMT e conobbi fin da subito i rappresentanti dell'associazione ACMT-Rete, con i quali si instaurò subito un clima di collaborazione ed amicizia che è proseguita ancor più proficuamente presso la Struttura di Riabilitazione Neuromotoria dell'ASST di Mantova, nel Presidio di Bozzolo che attualmente dirigo.

- Secondo lei, come possiamo suscitare negli altri professionisti motivazione e curiosità per andare oltre durante la visita di un paziente e trovare la giusta diagnosi e il trattamento corretto?

Parlo ovviamente da fisiatra e mi rivolgo soprattutto ai professionisti della riabilitazione che ricordo sono tanti: medici, fisioterapisti, tecnici ortopedici, psicologi, terapisti occupazionali, logopedisti, infermieri. Purtroppo nella formazione professionale di questi operatori le malattie rare sono spesso poco studiate. Pertanto il primo approccio con tali pazienti dovrebbe avvenire durante la formazione universitaria. Sappiamo com'è importante per uno studente avere docenti che, oltre a far conoscere la patologia, ispirino curiosità ed entusiasmo per la materia che insegnano. In seguito, durante la propria vita professionale, è necessario cogliere le occasioni di aggiornamento e specializzazione; per questo sono importanti i corsi di aggiornamento come quelli che ACMT-Rete organizza annualmente. Inoltre sono fondamentali, ai giorni nostri, tutti i canali di informazione che rendono ormai

diffuse le conoscenze anche sulle malattie rare. È necessario però volerle cercare! Credo che la motivazione più grande che deve spingere un professionista nella cura di una persona sia molto semplicemente la soddisfazione del paziente. Personalmente, l'energia che ricevo dalla soddisfazione del paziente nel sentirsi ascoltato e nel percepire l'impegno nel trovare soluzioni, a volte difficili, ai problemi manifestati, mi dà la forza per continuare a lavorare senza stancarmi.

- Quale sarebbe il suo messaggio per i suoi colleghi per incoraggiarli a essere più curiosi nella loro pratica medica?

La curiosità, nella vita, è la dote umana che consente la scoperta di soluzioni. Nella pratica medica, senza curiosità non ci sarebbero scoperte, quindi credo debba essere una dote che vada alimentata. Nel caso della diagnosi e della cura delle persone con CMT, come di molte altre patologie cronico-degenerative, è necessario far superare il concetto che non essendoci ancora una cura causale non ci siano soluzioni ai problemi dei pazienti, ed è altresì importante sapere che le persone hanno un potenziale a volte inesperto che possiamo far emergere con la riabilitazione. Non sottovalutare i sintomi, fare diagnosi precoce e creare un percorso diagnostico-terapeutico e riabilitativo è fondamentale. Sapere che vi sono nuovi concetti di neurofisiologia che stanno alla base delle metodiche riabilitative, conoscere le soluzioni ortesiche sempre più aggiornate e le possibilità chirurgiche, ribadire l'importanza dell'attività fisica e del corretto approccio psicologico devono indurre tutti coloro che vengono a contatto con le persone con CMT a orientarle verso un percorso specialistico appropriato.

- Quali sono i principali problemi di salute causati da questa malattia? E il suo impatto sulla società e sulla sanità pubblica?

Le persone con CMT presentano quadri clinici e funzionali molto vari anche all'interno della stessa famiglia. I principali problemi di salute sono l'ipotrofia e l'ipostenia muscolare delle gambe, con deficit soprattutto della dorsiflessione e, in misura minore, della plantiflessione e pronazione del piede. Ai deficit muscolari si associano deficit della sensibilità tattile-dolorifica e, nei casi più gravi, della sensibilità propriocettiva. Conseguenza dei deficit muscolari sono gli squilibri di attività muscolare, che comportano nella gamba retrazione del tendine d'Achille e nel piede cavismo con dita a griffe più o meno riducibile. È fondamentale considerare che gli squilibri muscolari, seppur distali, causano alterazioni posturali tali da compromettere la normale funzionalità anche dei muscoli prossimali indenni, con riduzione della capacità di allungarsi e attivarsi in modo fisiologico e con conseguente perdita di forza

e trofismo. I deficit appena descritti causano alterazioni di due funzioni motorie fondamentali, l'equilibrio e il cammino. Molti pazienti presentano difficoltà nel mantenere la posizione eretta per la retrazione del tendine d'Achille, che causa una retroposizione della tibia, e per il deficit dei muscoli dorsiflessori e dei peronei, che non consente gli aggiustamenti posturali atti a riportare il baricentro all'interno della base d'appoggio dei piedi. Se a ciò si aggiungono i deficit sensitivi, soprattutto quelli propriocettivi, il deficit di equilibrio si accentua ulteriormente.

- Ogni persona ha una propria motivazione, uno stimolo che lo spinge a dare il meglio di sé nell'esercizio della propria professione. Qual è la sua e perché ha accettato di essere un ambasciatore CMT per questa nuova campagna di sensibilizzazione?

La soddisfazione del paziente nei confronti del mio operato è lo stimolo più forte a fare sempre meglio. Nel corso degli anni si è accresciuta in me la consapevolezza che l'ascolto della persona, l'entrare in empatia e riuscire a trovare soluzioni per il superamento delle difficoltà conseguenti alla disabilità ha ripagato e ripaga ampiamente il mio impegno e invito ogni professionista della riabilitazione a fare altrettanto. Ascoltare le persone con CMT, sempre attente nell'analizzare le proprie problematiche, mi ha insegnato moltissimo e con loro sono cresciuto professionalmente. È quindi doveroso, per me, partecipare alla Campagna europea di sensibilizzazione per la Charcot-Marie-Tooth 2020, e sono molto onorato di poter essere un ambasciatore CMT.

Il dottor Piscoquito è stato Ambasciatore per la Campagna europea per la consapevolezza per la Charcot-Marie-Tooth, facendo il punto su prospettive e trattamenti riguardo tale malattia. Egli lavorava presso l'equipe del dottor Pareyson a Besta, ma attualmente lavora presso l'IRCCS di Telese in Campania, un istituto di rilievo nazionale e di alta specializzazione per la medicina riabilitativa, e si occupa dell'ambulatorio per le neuropatie e per le atassie. Segue dunque l'intervista:

- Come ha conosciuto la malattia di Charcot-Marie-Tooth?

In realtà, non sono venuto a contatto con la CMT per caso, ma ho scelto di occuparmi di neuropatie ereditarie. Fin dai tempi in cui ero al Besta di Milano, insieme al dottor Pareyson avevamo un ambulatorio di neuropatie generale e un ambulatorio dedicato alle neuropatie ereditarie. Il Besta è un istituto ben specializzato, sapevo fin dall'inizio di che cosa mi sarei

occupato e ho avuto la possibilità di farlo in questi due ambulatori e in reparto. Ovviamente, negli anni, grazie a una buona intesa e un rapporto di fiducia con il mio responsabile, il dottor Pareyson, abbiamo creato anche un ambulatorio trial, in cui lavoravo praticamente da solo, coordinandomi con tutta l'equipe. In questi ambulatori, ho visitato numerosissime persone affette da questa neuropatia; grosso modo nei 5-6 anni in cui sono stato al Besta avrò visto due o tremila persone, tutti con i loro problemi e con il loro fenotipo clinico. Mi sono costruito un bagaglio di conoscenze ampio che poi ho utilizzato e utilizzo ancora tuttora nella mia pratica clinica.

- Quali sono i principali problemi di salute, la sintomatologia di questa malattia? E qual è secondo lei l'impatto sulla società e sulla sanità pubblica che la CMT ha?

La sintomatologia classica della Charcot-Marie-Tooth è legata prevalentemente a una sindrome ipostenica e ipotrofica distale, ovvero manca la forza e i muscoli diventano atrofici, "magri", nei piedi e nelle mani. Di conseguenza, si ha difficoltà a camminare, si hanno distorsioni frequenti, difficoltà a sollevare la punta del piede, il cosiddetto piede cadente che fa inciampare spesso quando si fanno le scale; nel caso delle mani, il paziente ha difficoltà ad aprire barattoli, ad aprire una bottiglia, ad infilare il filo nella cruna di un ago, ad allacciare e slacciare i bottoni di una camicia. I sintomi sono anche legati alla ipoestesia, cioè alla mancanza di sensibilità distale, ovvero nei piedi nelle mani: a volte ci si ferisce e non si prova dolore, necessario perché è d'allarme per il paziente. Ciò crea delle vere e proprie lesioni agli arti inferiori; anche le callosità sono dovute ad alterazioni della sensibilità. Le alterazioni della sensibilità compromettono anche l'equilibrio: non è strano che questi soggetti non riescano a camminare su terreni accidentati, o a stare in piedi in autobus o in metropolitana. Sia lo squilibrio muscolare che l'alterazione della sensibilità portano a strutturare anche delle alterazioni scheletriche: ad esempio, il piede cavo, il ginocchio varo o la scoliosi, che causano, a loro volta, dolore. La maggior parte dei dolori sono osteoarticolari, ma va notato che un'alta percentuale di pazienti che lamenta anche dolori neuropatici. Il dolore neuropatico non è causato da un danno osteoarticolare ma è dovuto a un'alterazione tale del nervo stesso che porta ad avere dolore. Si calcola che circa il 20% dei pazienti soffre di dolore neuropatico. Altra sintomatologia caratteristica sono i crampi, molto frequenti soprattutto ai polpacci, la fatica e la facile esauribilità muscolare. È ovvio che poi chi soffre di questa sintomatologia può avere una ridotta produttività lavorativa, un ridotto profitto scolastico, purtroppo, e quindi questo come costi diretti per il paziente e per le aziende, ma è ovvio che poi l'altra faccia della medaglia è che richiedono prestazioni sanitarie, devono assentarsi dal lavoro e quindi l'altra sfera dei costi indiretti. Non penso ci

siano studi in tal senso che possono quantizzare la dimensione del problema in Italia. Devo purtroppo constatare che, da questo punto di vista, le politiche sanitarie sono abbastanza carenti e non sempre offrono le agevolazioni necessarie; molte volte non si conoscono neanche le agevolazioni necessarie e per cui si resta in questa fase in cui non si riesce ad usufruire dei servizi possibili. In quest'ambito, c'è sicuramente molto da fare.

- Esistono dei trattamenti per la Charcot-Marie-Tooth? Cosa si sentirebbe di suggerire ad un paziente per rallentare la progressione della malattia?

Esistono sicuramente dei trattamenti per la neuropatia ereditaria, alcuni non sono ancora ben standardizzati e accessibili a tutta la popolazione, ma molto bolle in pentola. Ad oggi, l'approccio è forma-specifico: la CMT1A, ad esempio, che è la forma più comune, ha a disposizione alcuni trattamenti rispetto alle altre forme come la CMTX, che ne ha altri, o la CMT1B, piuttosto che le altre forme. Volendoli analizzare un po' a grandi linee, la CMT1A che è dovuta alla duplicazione del gene PMP22, ha dei trattamenti che puntano a ridurre quella iperespressione: è alla terza fase di sviluppo clinico un'associazione di tre molecole che puntano a ridurre la PMP22, ma molto ci aspettiamo anche da un'altra tecnologia, quella degli oligonucleotidi antisenso, che puntano a ridurre l'RNA messaggero per la PMP22, così come anche lo sono i cosiddetti siRNA, degli RNA interference che riducono l'RNA messaggero per questa proteina e sono già in fase di sperimentazione avanzata preclinica e saranno presto a disposizione per la clinica. Per quanto riguarda la CMT1X, un gruppo è riuscito a introdurre il corrispondente gene sano direttamente intrarachide, nel liquor cefalospinale, avendo una restituzione del fenotipo clinico, come dimostrato nel topo, con risultati veramente molto confortanti: anche quando i sintomi della neuropatologia si sono già manifestati, il topo migliora. Questo stesso approccio della sostituzione genica può essere applicato, teoricamente, per tutte le "loss of function", cioè per tutte quelle mutazioni che portano alla perdita della funzione del gene: con la terapia genica se ne può ripristinare teoricamente la funzione somministrandolo dall'esterno, come fatto ad esempio per le CMT 4C. La terza forma più comune, legata alla MPZ, è la CMT 1B: un gruppo italo-americano ha stabilito una correlazione tra questa forma e lo stress del reticolo endoplasmatico, ci sono delle molecole pronte per arrivare in clinica. Per le forme assonali, ovvero quelle forme dove una parte del nervo specifica, che si chiama assone, soffre, è in fase di sviluppo una classe di farmaci chiamati inibitori dell'istone deacetilasi, molecole pronte per la fase clinica; non dobbiamo poi dimenticarci della neurotrofina e della neuregulina. C'è anche un altro approccio, che agisce più sul muscolo che sul nervo, l'ACE-083, che anche ha fatto una



prima fase di sperimentazione clinica ottima, e si stanno avvicinando alla seconda fase. Quindi, il trattamento sta arrivando.

- Ogni persona ha una propria motivazione, uno stimolo che lo spinge a dare il meglio di sé nell'esercizio della propria professione. Qual è la sua e perché ha accettato di essere un ambasciatore CMT per questa nuova campagna di sensibilizzazione?

Sin dal corso di specializzazione, mi sono sempre occupato di malattie neurodegenerative, di malattie rare e di malattie orfane. In particolare, negli ultimi anni, mi sono concentrato sulle neuropatie ereditarie in generale e sulla Charcot-Marie-Tooth. Penso che questa tipologia di malattie sia la sfida del futuro, sono convinto che la mia generazione vedrà una rivoluzione terapeutica, esattamente come successo qualche generazione fa con la terapia antibiotica per le infezioni, e quindi ho l'ambizione personale di partecipare a questa rivoluzione. Stare dalla parte del paziente è un dovere di ogni buon medico, e io vorrei esserlo; quindi, fare l'ambasciatore europeo mi lusinga, ne sono fiero, ringrazio ancora una volta ACMT-Rete e spero di esserne in grado, e che anche attraverso questo ruolo io possa dare il mio contributo e partecipare a questa rivoluzione.

## CONCLUSIONI

In questo elaborato di tesi abbiamo potuto notare l'importanza delle connessine nella formazione delle giunzioni gap che permettono il passaggio di molecole e ioni tra cellule adiacenti al fine di consentire la comunicazione cellulare, garantendo le funzioni dell'intero organismo. Esempio plausibile è la formazione delle sinapsi, che grazie alla presenza delle giunzioni gap formate dalle connessine, permettono una rapida comunicazione garantendo quindi lo svolgimento delle normali funzioni interne in risposta all'ambiente circostante e che quindi permettono la vita. Di conseguenza, mutazioni di una qualsiasi cellula possono intaccare l'omeostasi di un organismo vivente, e in particolare mutazioni genetiche di una piccola sequenza nucleotidica possono causare la trasformazione di una sequenza genica in una anomala e trasmettere tale anomalia alla derivante generazione; da qui l'interesse nell'esaltare le patologie genetiche ereditarie legate al cervello. Tra le patologie menzionate, la malattia di Charcot-Marie-Tooth rappresenta una delle atassie neurologiche ereditarie rare più diffusa che, come descritto nell'elaborato stesso, comporta conseguenze sul versante fisico, psicologico e sociale. L'impatto della malattia sulla vita di ogni singolo individuo è modulato non soltanto dalla severità delle manifestazioni della malattia stessa, ma anche dall'atteggiamento che il soggetto assume, dalla presenza di figure di supporto, dalle opportunità e gli aiuti ai quali la persona può accedere nella propria quotidianità. Dedicare spazio agli aspetti psicologici della convivenza con la malattia significa, in primo luogo, riconoscere ad ogni malato lo sforzo emotivo che il confrontarsi con le limitazioni comporta. Le reazioni di ogni soggetto infatti, dipendono dallo stile individuale nell'affrontare difficoltà e problemi, dalle caratteristiche di personalità e dall'atteggiamento generale verso il mondo. Le risposte emozionali sono inoltre strettamente legate all'idea che ognuno si è fatto della propria condizione di malattia, sulla base delle informazioni che ha ricevuto o delle esperienze che ha vissuto nel caso che altri familiari abbiano la CMT: alcune persone, pur riconoscendo la presenza di malattia, rifiutano di sentirsi malate e cercano di mantenere il più possibile il proprio stile di vita, sforzandosi di conservare la propria autonomia e continuando a coltivarsi come persone attraverso il proprio lavoro, le relazioni personali, gli hobby. Un adeguato adattamento consente alle persone malate di ricercare attivamente o aderire alle proposte di aiuto (fisioterapia, psicoterapia, ricorso ad ortesi e ad ausili specifici), volte a migliorare la qualità della vita quotidiana. Le persone con CMT che effettuano più o meno regolarmente percorsi riabilitativi o si dedicano all'attività sportiva dimostrano, di fatto, di avere superato una possibile fase di negazione delle difficoltà. Iniziare un percorso riabilitativo, infatti, significa attivarsi per ricercare una condizione di maggiore benessere,

alimentare la speranza di potere migliorare o almeno di tenere sotto controllo la propria condizione. Inoltre la possibilità di fare riferimento ad un'Associazione può essere un importante punto di forza per i malati, i loro familiari e per gli operatori sanitari e sociali. Per alcune persone, il confronto con gli individui che convivono con la stessa patologia può favorire l'uscita dall'isolamento, la condivisione di difficoltà e limiti, ma anche di informazioni utili e di strategie per affrontare i problemi che si presentano nella quotidianità. In conclusione, possiamo dire che arrivare ad una accettabile convivenza con la CMT non è un obbligo, ma una reale possibilità che passa attraverso sfide quotidiane, nelle quali l'eventuale presenza di sofferenza, rabbia, tristezza, sconforto e paura può essere contrastata dal desiderio di continuare a coltivare la propria voglia di vivere e i propri valori, mettendo a punto obiettivi che tengano conto delle limitazioni imposte dalla malattia, ma anche di tutte le risorse e gli aiuti sui quali si può fare affidamento per raggiungerli.

## **Bibliografia**

*Abrams, C. K., Bennett, M. V. L., Verselis, V. K., Bargiello, T. A. Voltage opens unopposed gap junction hemichannels formed by a connexin 32 mutant associated with X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. Proc. Nat. Acad. Sci. 99: 3980-3984, 2002.*

*Ainsworth, P. J., Bolton, C. F., Murphy, B. C., Stuart, J. A., Hahn, A. F. Genotype/phenotype correlation in affected individuals of a family with a deletion of the entire coding sequence of the connexin 32 gene. Hum. Genet. 103: 242-244, 1998.*

*Bergoffen, J., Scherer, S. S., Wang, S., Oronzi Scott, M., Bone, L. J., Paul, D. L., Chen, K., Lensch, M. W., Chance, P. F., Fischbeck, K. H. Connexin mutations in X-linked Charcot-Marie-Tooth disease. Science 262: 2039-2042, 1993.*

*Ionasescu, V. V., Trofatter, J., Haines, J. L., Summers, A. M., Ionasescu, R., Searby, C. Heterogeneity in X-linked recessive Charcot-Marie-Tooth neuropathy. Am. J. Hum. Genet. 48: 1075-1083, 1991.*

*Montenegro, G., Powell, E., Huang, J., Speziani, F., Edwards, Y. J. K., Beecham, G., Hulme, W., Siskind, C., Vance, J., Shy, M., Zuchner, S. Exome sequencing allows for rapid gene identification in a Charcot-Marie-Tooth family. Ann. Neurol. 69: 464-470, 2011.*

*Yiu, E. M., Geevasinga, N., Nicholson, G. A., Fagan, E. R., Ryan, M. M., Ouvrier, R. A. A retrospective review of X-linked Charcot-Marie-Tooth disease in childhood. Neurology 76: 461-466, 2011.*

*Kelsell, D. P., Wilgoss, A. L., Richard, G., Stevens, H. P., Munro, C. S., Leigh, I. M. Connexin mutations associated with palmoplantar keratoderma and profound deafness in a single family. Europ. J. Hum. Genet. 8: 141-144, 2000. Note: Erratum: Europ. J. Hum. Genet. 8: 468 only, 2000.*

*Alvarez, A., del Castillo, I., Pera, A., Villamar, M., Moreno-Pelayo, M. A., Rivera, T., Solanellas, J., Moreno, F. Uniparental disomy of chromosome 13q causing homozygosity for the 35delG mutation in the gene encoding connexin26 (GJB2) results in prelingual hearing impairment in two unrelated Spanish patients. J. Med. Genet. 40: 636-639, 2003.*

*Cheng, X., Li, L., Brashears, S., Morlet, T., Ng, S. S., Berlin, C., Hood, L., Keats, B. Connexin 26 variants and auditory neuropathy/dys-synchrony among children in schools for the deaf. Am. J. Med. Genet. 139A: 13-18, 2005.*

*del Castillo, I., Villamar, M., Moreno-Pelayo, M. A., del Castillo, F. J., Alvarez, A., Telleria, D., Menendez, I., Moreno, F. A deletion involving the connexin 30 gene in nonsyndromic hearing impairment.*

*Denoyelle, F., Lina-Granade, G., Plauchu, H., Bruzzone, R., Chaib, H., Levi-Acobas, F., Weil, D., Petit, C. Connexin 26 gene linked to a dominant deafness. Nature 393: 319-320, 1998.*

*©2019 Osservatorio Malattie Rare, testata giornalistica iscritta al ROC, n.20188, ai sensi dell'art.16 L.62/2001. Testata registrata presso il Tribunale di Roma - 296/2011 - 4 Ottobre.*

*Dipartimento di Neuroscienze, Oftalmologia e Genetica, Università di Genova, Coordinamento Commissione Medico-Scientifica UILDM. Testo aggiornato nel mese di gennaio 2018.*

*A Michela*