

**UNIVERSITÀ
DEGLI STUDI
DI PADOVA**

Università degli Studi di Padova

Dipartimento di Salute della Donna e del Bambino

**Scuola di Dottorato in Medicina dello Sviluppo
e Scienze della Programmazione Sanitaria
Indirizzo di “Emato-oncologia, genetica, malattie rare e medicina predittiva”**

CICLO XXVIII

TESI

Valutazione della storia naturale dei pazienti affetti da mucopolisaccaridosi e dell'efficacia terapeutica mediante indicatori clinici e biochimici, individuazione di marcatori precoci di severità: studio osservazionale

Coordinatore: Ch.mo Prof. Giuseppe Basso

Supervisore: Ch.mo Prof. Maurizio Scarpa

Co-Supervisore: Dr.ssa Rosella Tomanin

Dottorando : Dr.ssa Angelica Rampazzo

Abstract

In the present thesis, a clinical, neuropsychiatric and biochemical evaluation of patients affected by different types of Mucopolysaccharidosis (MPS) was performed, with the aim to analyze the natural history of these pathologies, and therefore their onset and their progression over time, but also to evaluate the effects, on the natural history, of the therapies available today and to identify early markers of severity.

This project is part of a more extensive multi-center project on mucopolysaccharidoses, which also includes a preclinical evaluation performed on mouse models, not reported in this thesis. Furthermore, the project produced an IT platform, accessible remotely from all the Operating Units involved in the project, on which it will be possible to continue patients' data uploading over time, in order to increase as much as possible, the number of samples to be analyzed.

This thesis reports the results of the analysis performed on the 58 MPS patients so far available, at 3 different stages of progressive evaluation.

The analysis of the sample here evaluated confirmed that MPS patients are diagnosed with some delay, and this is especially true for those suffering from MPS III, diagnosed on average after 5 years of age; this may also be due to the particular clinical manifestations of this specific syndrome. Moreover, this data could be influenced by the heterogeneity of the analyzed sample, which includes both recent diagnoses and dated diagnostic pathways. The clinical suspicion on these diseases has certainly increased in recent years and this will undoubtedly help an early diagnosis.

With respect to the signs and symptoms at the onset, 41% of the patients in the sample present at the same time more signs and symptoms, and for almost 30% of the MPS subjects the suspicion that leads to the diagnosis is of musculoskeletal origin. Among the neuronopathic MPS analyzed, 37.5% of MPS II and 38.5% of MPS III patients present at the onset neurological signs and symptoms. This last data is particularly interesting, since we commonly consider the peripheral

involvement in MPS III as being limited. From the present analysis, this does not appear to be true at the onset, when in more than 60% of cases, MPS III patients presented with non-neurological signs and symptoms, being this an important aspect to consider during diagnosis.

From a neurological point of view, it was evident how, independently from the different forms of MPS, both neuronopathic and not, on average half of the patients present macrocephaly at diagnosis, with peaks of 85% in the case of MPS I.

In neuronopathic forms, there are different signs and symptoms that occur at diagnosis and/or during disease progression; in this thesis, in particular language disorders and intellectual disability were analyzed. As already known, the analysis carried out in this thesis confirms that the intellectual disability does not receive any benefits from the administration of the enzyme replacement therapy, in particular for patients suffering from the severe form of MPS II, in which a significant increase in the degree of neuro-cognitive severity is progressively registered. As expected, the psychiatric features of the different MPS, such as sleep disturbances and behavioral disorders, also do not receive benefits from ERT administration.

On the other hand, some peripheral variables have shown benefits from replacement therapy, although in most cases only a tendency to an improvement has been shown, while a statistically significant improvement has been registered for hepatosplenomegaly and urinary glycosaminoglycan (GAG) levels.

Interestingly, the analysis carried out highlighted some significant correlations between quantitative urinary GAG analysis and the neuropsychiatric involvement, and between the urinary levels of heparan-sulfate, identified by qualitative test, and the same clinical aspects.

In these diseases, the identification of biomarkers helping to understand, even in the very early stage of the disease, what could be its progression, would be of considerable importance for the management of the patient and his family, and for the evaluation of a correct therapeutic choice.

It is hoped that soon a critical analysis of many clinical and biochemical data obtained from a large cohort of patients will allow to identify other biomarkers, useful for an early diagnosis and possibly a prognosis on the severity of its progression.

Riassunto

In questa tesi di dottorato è stata effettuata una valutazione clinica, neuropsichiatrica e biochimica di pazienti affetti da diversi tipi di Mucopolisaccaridosi (MPS), con lo scopo di analizzare la storia naturale di queste patologie, e perciò la loro insorgenza e la loro progressione nel tempo, ma anche di valutare gli effetti, sulla storia naturale, delle terapie ad oggi disponibili e di individuare marcatori precoci di severità.

Questo progetto di tesi è parte di un progetto multicentrico più esteso sulle mucopolisaccaridosi, che prevede anche una valutazione preclinica effettuata sui modelli murini, non riportata in questa tesi. Inoltre, il progetto ha prodotto una piattaforma informatica, accessibile da remoto da tutte le Unità Operative afferenti al progetto stesso, sulla quale sarà possibile continuare a caricare i dati nei pazienti nel corso del tempo, in modo da aumentare quanto più possibile la numerosità del campione da analizzare.

Questa tesi riporta i risultati dell'analisi effettuata sui 58 pazienti MPS finora disponibili, a 3 diversi tempi di valutazione progressiva.

L'analisi del campione qui valutato ha confermato come i pazienti MPS siano diagnosticati con un certo ritardo, e ciò vale soprattutto per gli affetti da MPS III, diagnosticati mediamente dopo i 5 anni di età; questo forse anche a causa delle particolari manifestazioni cliniche di questa specifica sindrome. Inoltre, tale dato potrebbe essere influenzato dall'eterogeneità del campione analizzato, che comprende sia diagnosi recenti che percorsi diagnostici datati. Il sospetto clinico su queste patologie è sicuramente aumentato negli ultimi anni e ciò indubbiamente aiuterà una diagnosi precoce.

Per quanto riguarda i segni e i sintomi all'esordio, il 41% dei pazienti del campione presenta contemporaneamente più segni e sintomi, e per quasi il 30% dei soggetti MPS il sospetto che porta a formulare la diagnosi è di origine muscolo-scheletrica. Tra le MPS neuronopatiche analizzate, presentano all'esordio segni e sintomi di origine neurologica il 37.5% delle MPS II e il 38.5% delle MPS III. Quest'ultimo dato risulta particolarmente interessante, dato che

comunemente si considera che il coinvolgimento periferico nelle MPS III sia relativo. Dai dati qui analizzati, ciò non sembra vero all'esordio, quando in oltre il 60% dei casi i pazienti possono presentare segni e sintomi non neurologici, dato questo importante da considerare in fase di diagnosi.

Da un punto di vista neurologico, è risultato evidente come, indipendentemente dalle diverse forme di MPS, sia neuronopatiche che non, mediamente la metà dei pazienti presenti macrocefalia alla diagnosi, con punte del 85% nel caso della MPS I.

Nelle forme neuronopatiche, diversi sono i segni e i sintomi che si presentano alla diagnosi e/o in corso di progressione; in questa tesi sono stati in particolare analizzati i disturbi del linguaggio e la disabilità intellettiva. Come era già noto, l'analisi effettuata in questo lavoro di tesi conferma come la disabilità intellettiva non riceva alcun giovamento dalla somministrazione della terapia enzimatica sostitutiva, in particolare per quanto riguarda i pazienti affetti dalla forma severa di MPS II, nei quali si evidenzia un aumento significativo nel tempo del grado di severità neuro-cognitiva. Come atteso, anche le caratteristiche psichiatriche delle diverse MPS, come i disturbi del sonno e del comportamento, non ricevono beneficio dall'ERT.

Alcune variabili periferiche hanno evidenziato, invece, di trarre giovamento dalla terapia sostitutiva; tuttavia, nella maggior parte dei casi si apprezza solo una tendenza a un miglioramento, mentre un miglioramento statisticamente significativo si è evidenziato per l'epatosplenomegalia e i livelli di glicosaminoglicani (GAG) urinari.

In modo interessante, l'analisi qui effettuata ha messo in evidenza alcune correlazioni significative tra la concentrazione dei GAG quantitativi e il coinvolgimento neuropsichiatrico e tra i livelli urinari di eparan-solfato, identificati tramite saggio qualitativo, e le medesime problematiche.

In queste patologie, l'identificazione di biomarcatori che aiutassero a comprendere, ancora in fase molto precoce di malattia, quale potrebbe essere la sua progressione, sarebbe di notevole importanza per la gestione del paziente e dei suoi famigliari, e anche per la valutazione di una corretta scelta terapeutica.

È auspicabile che in un prossimo futuro un'analisi critica di molti dati clinici e biochimici ricavati da un'ampia popolazione di pazienti consenta di identificare altri biomarcatori, utili ad una diagnosi precoce e possibilmente ad una prognosi sulla severità della sua progressione.

Indice

Introduzione	1
1. Capitolo 1	7
1.1. Mucopolisaccaridosi	7
1.1.1. Mucopolisaccaridosi tipo I (Sindrome di Hurler, Hurler/Scheie, Scheie)	7
1.1.1. Mucopolisaccaridosi tipo II (Sindrome di Hunter)	11
1.1.2. Mucopolisaccaridosi tipo III (Sindrome di Sanfilippo)	14
1.1.3. Mucopolisaccaridosi tipo IV (Sindrome di Morquio)	17
1.1.4. Mucopolisaccaridosi di tipo VI (Sindrome di Maroteaux-Lamy)	18
1.2. Diagnosi	20
1.3. Trattamento	21
1.4. Screening neonatale	23
1.5. Biomarcatori di severità e di efficacia terapeutica	23
2. Capitolo 2	25
2.1. Obiettivi dello studio	25
3. Capitolo 3	27
3.1. Partecipanti	27
3.2. Strumenti	28
3.2.1. Dati clinici	29
3.2.2. Dati di laboratorio	30
3.3. Metodi di analisi statistica	31
4. Capitolo 4	33
4.1. Risultati	33
4.1.1. Caratteristiche anagrafiche	33
4.1.2. Segni e sintomi d'esordio	34
4.1.3. Caratteristiche neurologiche	36
4.1.4. Caratteristiche psichiatriche	41
4.1.5. Caratteristiche oculistiche	42
4.1.6. Caratteristiche otorinolaringoiatriche	44
4.1.7. Valvulopatie	47

4.1.8.	Epatomegalia e splenomegalia	50
4.1.9.	Caratteristiche Muscoloscheletriche	53
4.1.10.	Dati biochimici	57
4.1.11.	Correlazioni tra i GAG e il coinvolgimento neuropsichiatrico	62
	Discussione	65
	Bibliografia	69

Introduzione

Le mucopolisaccaridosi (MPS) sono un gruppo di malattie ereditarie rare, causate dal deficit di enzimi lisosomiali implicati nel catabolismo dei glicosaminoglicani (GAG). Dal momento che i lisosomi sono contenuti in tutte le cellule dell'organismo, fatta eccezione per i globuli rossi, il difetto metabolico si verifica contemporaneamente a carico di vari organi ed apparati.

Sono stati individuati 9 tipi di MPS; nella Tabella I (Muenzer, 2011) sono riportate per ciascun tipo le principali caratteristiche: sostanza accumulata, deficit enzimatico, locus genetico coinvolto, tipo di trasmissione e incidenza nella popolazione.

L'incidenza complessiva è di circa 1,5 ogni 100.000 nati vivi (Khan et al, 2017).

Tutte le MPS sono trasmesse come malattie autosomiche recessive, eccetto la MPS II, la cui trasmissione è X-linked, meno di 10 casi di soggetti femmine nel mondo sono stati finora segnalati (Pinto et al, 2010; Tuschl et al, 2005).

L'accumulo dei GAG nei lisosomi esita in una disfunzione cellulare, tissutale e di organo, determinando una variabilità fenotipica tra le diverse forme e all'interno di ciascuna di esse (Neufeld et al, 2001).

Le correlazioni genotipo-fenotipo sono limitate dalla rarità di questo gruppo di patologie e dal gran numero di mutazioni, molte delle quali private, cioè ricorrenti in una sola famiglia (Terlato et al, 2003).

Il decorso di queste patologie è cronico e progressivo, con ridotta aspettativa di vita; in particolare, ciò si verifica nei soggetti con coinvolgimento del Sistema Nervoso Centrale (SNC).

Le più comuni manifestazioni somatiche sono: dismorfismi facciali, alterazioni scheletriche associate a rigidità articolare, bassa statura, epato-splenomegalia, coinvolgimento dell'apparato cardiovascolare e respiratorio, della vista e dell'udito. I pazienti affetti da queste patologie vanno spesso incontro ad interventi chirurgici per adeno-tonsillectomia, riduzione di ernie ombelicali e inguinali,

interventi neurochirurgici di decompressione atlo-occipitale o derivazione ventricolo-peritoneale.

Le manifestazioni a livello del Sistema Nervoso Centrale sono differenti tra i diversi tipi di MPS; i pazienti affetti da MPS di tipo IV e VI possono presentare complicanze neurologiche secondarie a compressione del midollo cervicale a causa dell'instabilità atlo-assiale, ma non presentano coinvolgimento cognitivo e vengono riportati rari casi di epilessia (Mendes et al, 2016; Scarpa et al, 2017).

I pazienti con MPS I, II, III e VII presentano una compromissione neurologica che si manifesta con ritardo del linguaggio, disabilità intellettiva, disturbo del sonno, epilessia e disturbo del comportamento. Gli studi più recenti suggeriscono che il quadro neuronopatico sia determinato dall'incompleta degradazione dell'eparan solfato, il cui accumulo nel comparto lisosomiale delle cellule neuronali determina una serie di eventi secondari che portano a morte cellulare e neurodegenerazione (Scarpa et al, 2017; Shapiro et al, 2017a; Shapiro et al, 2017b;).

Tra gli eventi osservati, secondari all'accumulo di substrato primario, vi è la perdita di funzionalità assonale, la disfunzione del processo di degradazione delle proteine intracellulari, anomalie dei processi autofagici, disfunzioni mitocondriali e una progressiva risposta infiammatoria (Bellettato et al, 2010).

Nella valutazione dei disturbi comportamentali e del sonno dei soggetti con MPS, è opportuno considerare i numerosi fattori scatenanti che possono essere causa o esacerbare tali disturbi (Escolar et al, 2017). Il dolore di origine osteo-articolare è frequente nei soggetti con quadro neuronopatico, dovuto alle progressive deformità spastiche delle articolazioni, lussazioni dell'anca e gravi scoliosi.

Inoltre, i disturbi comportamentali, soprattutto nelle MPS III, possono essere dovuti ad alterazioni elettroencefalografiche del sonno (Bonanni et al, 2014; Rapoport et al, 2017).

Negli ultimi anni, la maggiore attenzione e indagini sui soggetti neuronopatici con MPS, sta sollevando qualche riflessione maggiore, descrivendo aspetti di agitazione e talvolta di eteroaggressività non come disturbi primari del comportamento, ma come disturbi secondari ad altre cause scatenanti (Escolar et al, 2017). Probabilmente questa maggiore sensibilità e conoscenza determinerà nel

tempo anche una revisione di alcune caratteristiche fenotipiche comportamentali riportate in letteratura.

In molti casi, i pazienti arrivano fino ai 3-4 anni di vita senza che sia stata possibile una diagnosi corretta della patologia, questo a scapito di possibili terapie che hanno maggiori possibilità di riuscita o che comunque determinano un maggior vantaggio per il paziente se applicate prima dei 2 anni di età, quali il trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT) per i pazienti affetti da MPS I, e la terapia enzimatica sostitutiva (ERT) disponibile per MPS I, II, IV e VI. (Hendriksz, 2016; Giugliani et al, 2010; Prasad et al, 2010;).

Approcci terapeutici alternativi come la terapia genica (Ferla et al, 2013; Wolf et al, 2015) e l'utilizzo di modulatori della risposta infiammatoria (Schuchman et al, 2013) sono in fase di sperimentazione per alcune MPS.

Numerose molecole biologiche sono state proposte come potenziali biomarkers per valutare l'efficacia dei diversi approcci terapeutici per le MPS (Clarke et al, 2012). Nella maggior parte dei trial l'efficacia è stata valutata attraverso il contenuto totale di GAG urinari. Alcuni Autori hanno evidenziato in passato come un livello elevato di GAG nelle urine correli positivamente con la severità del quadro clinico (Swiedler et al, 2005). Tuttavia, risulta ormai chiaro che la valutazione dei GAG urinari non può rimanere l'indicatore più comune in studi di monitoraggio di progressione di patologia e/o di efficacia terapeutica.

Emerge infatti sempre di più la necessità che i parametri biochimici siano correlabili al quadro clinico e fenotipico del paziente in modo da poter monitorare non solo l'efficacia terapeutica, ma anche perché essi vengano impiegati come indicatori affidabili nelle diagnosi precoci, per aiutare a definire, insieme agli indicatori clinici, il quadro fenotipico, fondamentale per individuare percorsi di cura e di prognosi.

I disaccaridi derivati dai GAG plasmatici e urinari sono stati proposti come efficaci biomarkers in pazienti affetti da MPS I e II, in trattamento con ERT (de Ru

et al, 2013; Volpi et al, 2013 Coppa et al, 2012; Tomatsu et al, 2010). Dati recenti hanno mostrato che l'eparan solfato (HS) potrebbe rappresentare un marker affidabile di quadro neuronopatico (Bruyère et al, 2015 Coppa et al, 2015; Coppa et al, 2013; de Rujter et al, 2012).

Il presente studio pone un'attenzione particolare al confronto tra i dati biochimici e la risposta clinica alla terapia per i pazienti in trattamento e, dove non vi sia cura possibile, per comprendere il decorso della storia naturale. Rimane da valutare se tale confronto precoce potrebbe perciò risultare informativo rispetto alla prognosi e, in generale, rispetto al grado di progressione di queste patologie.

La presente ricerca è parte di un progetto PRIN 2012, che ha previsto collateralmente anche studi di tipo sperimentale, preclinico, da effettuare sui modelli murini. Per quanto attiene all'aspetto clinico riportato in questa tesi, lo studio, multicentrico, ha coinvolto quattro unità di ricerca: l'Università Politecnica delle Marche (centro coordinatore), l'Università di Padova, l'Università di Catania e l'Università di Catanzaro.

TABLE 1 The mucopolysaccharidoses

Disorder	GAG storage material	Deficient enzyme	Gene locus	Genetic inheritance	Incidence per 100 000 live births [16-24]
MPS I (Hurler, Hurler-Scheie, Scheie syndromes)	Dermatan sulphate, heparan sulphate	α -L-iduronidase	4p16.3	Autosomal recessive	0.69-1.66
MPS II (Hunter syndrome)	Dermatan sulphate, heparan sulphate	Iduronate-2-sulphatase	Xq28	X-linked recessive	0.30-0.71
MPS III A-D (Sanfilippo syndrome)	Heparan sulphate	A: heparan N-sulphatase B: α -N-acetylglucosaminidase C: acetyl-CoA: α -glucosaminide acetyltransferase D: N-acetylglucosamine 6-sulphatase	A: 17q25.3 B: 17q21 C: 8p11.1 D: 12q14	Autosomal recessive	A: 0.29-1.89 B: 0.42-0.72 C: 0.07-0.21 D: 0.1
MPS IV A, B (Morquio syndrome)	A: keratan sulphate, chondroitin sulphate B: keratan sulphate	A: galactose 6-sulphatase B: β -galactosidase	A: 16q24.3 B: 3p21.33	Autosomal recessive	A: 0.22-1.3 B: 0.02-0.14
MPS V	Formerly Scheie syndrome, later discovered to be α -L-iduronidase deficiency and allelic to Hurler syndrome				
MPS VI (Maroteaux-Lamy syndrome)	Dermatan sulphate, chondroitin sulphate	Arylsulphatase B	5q11-q13	Autosomal recessive	0.36-1.30
MPS VII (Sly syndrome)	Dermatan sulphate, heparan sulphate, chondroitin sulphate	β -Glucuronidase	7q21.11	Autosomal recessive	0.05-0.29
MPS VIII	A deficiency of glucosamine-6-sulphate was reported in one patient with clinical features of Morquio and Sanfilippo syndromes and assigned as MPS VIII, but this report was subsequently retracted. The MPS VIII term is no longer used.				
MPS IX	Hyaluronan	Hyaluronidase	3p21.3-p21.2	Autosomal recessive	Four cases reported

Tabella I: Caratteristiche delle Mucopolisaccaridosi

Capitolo 1

1.1. Mucopolisaccaridosi

1.1.1. Mucopolisaccaridosi tipo I (Sindrome di Hurler, Hurler/Scheie, Scheie)

La MPS di tipo I (Sindrome di Hurler, Hurler/Scheie, Scheie), è dovuta al deficit di alfa-L-iduronidasi, ciò determina l'accumulo di dermatan solfato (DS) ed eparan solfato (HS) (Neufeld et al, 2001). Storicamente venivano riconosciuti tre tipi sulla base della presentazione clinica: Sindrome di Hurler la forma severa, la Sindrome di Hurler-Scheie la forma intermedia e la Sindrome di Scheie la forma lieve. È ormai riconosciuto che vi sono più di 100 differenti alleli del gene dell'alfa-L-iduronidasi che possono essere causa della patologia e che la MPS I, così come tutti i disturbi MPS, rappresenta una malattia con una manifestazione fenotipica che ha un continuum, che va dal grave all'attenuato. È stata pertanto raccomandata la suddivisione in due gruppi: forma severa MPS I (sindrome di Hurler) e la forma attenuata (la sindrome di Hurler –Scheie e Scheie). Si preferisce utilizzare il termine attenuato anziché lieve poiché i pazienti presentano comunque significative disabilità dovute al coinvolgimento somatico (Muenzer et al, 2009).

La MPS I coinvolge tutte le etnie con una incidenza stimata di 1 caso per 100.000 nati vivi. Approssimativamente, circa dal 50% al 80% dei casi presentano la forma severa, uno studio condotto su una popolazione ha riportato che il fenotipo attenuato era presente nel 26% della popolazione totale affetta da MPS I. Si deve sottolineare che tale percentuale può riflettere dei bias, poiché i casi severi sono più facilmente diagnosticabili rispetto agli attenuati (Neufeld et al, 2001; Meikle et al, 1999; Scott et al, 1995).

I pazienti con la forma attenuata (Sindrome Hurler-Scheie e Scheie) possono presentare un minore numero di segni e sintomi somatici, che tendono a manifestarsi più tardi nel tempo (potendo rimanere non diagnosticati per anni) e

non viene coinvolto il funzionamento cognitivo (Vijay et al, 2005). La sopravvivenza fino all'età adulta è comune (Neufeld et al, 2001), anche se può verificarsi una morte prematura, secondaria ad una compromissione a carico delle vie aeree e al quadro cardiologico progressivo (Wraith, 1995).

Per questi individui, le manifestazioni cliniche possono essere lievi in molti organi o presentare grave compromissione in un paio d'organi e lievi nei restanti. Le manifestazioni cliniche sono le medesime di quelle descritte in seguito per la forma severa. L'interessamento scheletrico e articolare rappresenta comunque la fonte più significativa di disabilità e disagio per gli individui con forma attenuata (Clarke, 1997).

Gli individui con Sindrome di Hurler sono solitamente diagnosticati tra i 9 e 18 mesi di età (Cleary et al, 1995). Segni e sintomi si verificano fin dalla prima infanzia in diversi organi contemporaneamente, questi pazienti presentano un deterioramento cognitivo. I tratti somatici caratteristici divengono sempre più evidenti, entro i primi due anni di vita (Clarke, 1997).

Il progressivo coinvolgimento oculare è caratterizzato da opacità corneale che può portare ad una riduzione severa della vista, aumento della pressione intraoculare, retinopatia (Ashworth et al, 2006).

L'ipoacusia, comune nella forma severa, è di tipo misto sia trasmissiva (dovuta alle frequenti infezioni dell'orecchio medio) che neuro-sensoriale, talvolta con necessità di protesizzazione (Clarke, 1997; Neufeld et al, 2001). L'accumulo di GAG nell'oro-faringe con ingrandimento delle tonsille e adenoidi può contribuire a complicazioni delle vie aeree superiori determinando una respirazione rumorosa ed apnee notturne.

Quando la morte si verifica prematuramente, entro la prima decade di vita, questa è largamente dovuta a complicanze di tipo cardio-respiratorio (Lum et al, 2017).

L'impegno cardiaco, osservato in tutti gli individui con MPS I, è caratterizzato da progressivo ispessimento e irrigidimento delle valvole con conseguente rigurgito mitralico e aortico, che può divenire emodinamicamente significativo nelle fasi più avanzate della malattia (Neufeld et al, 2001). Gli studi condotti a lungo termine sulla valutazione dell'efficacia della terapia enzimatica sostitutiva (ERT)

non hanno mostrato cambiamenti significativi, né nella regressione né nella prevenzione della valvulopatia (Brands et al, 2013). L'efficacia del trapianto sulla componente cardiaca presenta un outcome variabile sul quale incidono i livelli enzimatici indotti dal trapianto e il chimerismo del donatore, dove ovviamente livelli elevati di entrambi correlano con un outcome cardiaco positivo, a lungo termine (Lum et al, 2017).

L'epatosplenomegalia è un reperto comune, l'accumulo di glicosaminoglicani nel fegato e nella milza non è però correlato ad una disfunzione d'organo (Clarke, 1997).

L'interessamento scheletrico, si manifesta in particolare a livello dell'articolazione coxo-femorale, frequente è il riscontro di gibbo dorso-lombare e dai tre anni si osserva un arresto lineare della crescita. La progressiva artropatia porta ad una severa deformità articolare con rigidità articolare diffusa fin dai primi anni di vita, caratteristico è l'aspetto della mano ad artiglio (Clarke et al, 2015)

Coinvolgimento neurologico

L'idrocefalo iperteso comunicante causato da un mancato riassorbimento del liquido cerebro-spinale è una manifestazione possibile a livello del Sistema Nervoso Centrale (SNC) (Vedolin et al, 2007). I sintomi risultano spesso difficili da accertare e la progressione può essere insidiosa, infatti spesso non si evidenzia papilledema né vomito. Nel sospetto di idrocefalo, sostenuto anche dalle indagini neuro-radiologiche, potrebbe essere opportuno eseguire una puntura lombare per la misurazione della pressione (Muenzer et al, 2009). E' importante monitorarne nel tempo l'andamento, poichè le aumentate dimensioni dei ventricoli potrebbero rispecchiare l'evoluzione atrofica del parenchima.

L'intervento necessario, in caso di idrocefalo iperteso, è la derivazione ventricolo-peritoneale che permette una riduzione dei sintomi quali cefalea, disturbi del sonno e complicanze sistemiche dovute alla sofferenza del parenchima cerebrale.

Nei pazienti con forma attenuata, l'aumento di pressione intracranica può essere molto lento e graduale negli anni, determinando una sintomatologia cefalalgica cronica (Muenzer et al, 2009).

L'instabilità atlo-occipitale, determinata da un'ipoplasia del dente dell'epistrofeo, può provocare una sofferenza del midollo cervicale. I pazienti vengono dunque valutati alla diagnosi e monitorati attraverso neuroimaging (possibilmente con sequenze in flessione-estensione) di Risonanza Magnetica per meglio osservare il midollo, la Tomografia Assiale Computerizzata per indagare le strutture ossee ed esami funzionali come i Potenziali Evocati Somatosensoriali. L'intervento risolutivo consiste nella decompressione chirurgica che deve però essere eseguita tempestivamente, prima che il danno diventi irreversibile.

La sindrome del tunnel carpale si sviluppa in molti pazienti, si manifesta con parestesie, dolori notturni alle mani, deficit funzionale.

I pazienti con sindrome di Hurler, forma severa di MPS I, presentano una progressiva compromissione cognitiva, mentre la forma attenuata presenta un funzionamento cognitivo nella norma o ai limiti (Shapiro et al, 2015). Sebbene lo sviluppo psicomotorio nel primo anno di vita possa apparire ai limiti di norma, la compromissione si rende evidente tra i 12 e i 24 mesi di età (Neufeld et al, 2001). Successivamente, molti individui presentano un arresto dello sviluppo cognitivo, con un plateau per qualche anno, cui segue un lento declino delle capacità intellettive. Ad otto-dieci anni, la maggior parte degli individui presenta una disabilità intellettiva severa. I bambini con sindrome di Hurler hanno uno sviluppo limitato del linguaggio, probabilmente legato alla triade: ritardo dello sviluppo, ipoacusia e ingrossamento della lingua (Neufeld et al, 2001). Anche lo sviluppo delle competenze motorie è ritardato, probabilmente legate alla compromissione ortopedica (Kiely et al, 2016).

I severi effetti sullo sviluppo cognitivo non sono associati ad un disturbo del comportamento, osservato invece nella MPS II e MPS III. Nella casistica di Bax e Colville i bambini sono descritti come ansiosi e paurosi e a volte agitati, ma raramente aggressivi o con condotte distruttive (Bax et al, 1995).

La natura dei disturbi del sonno è correlata alla sintomatologia di origine otorinolaringoiatrica: tosse, apnee notturne (Rapoport et al, 2017)

In uno studio condotto su quaranta pazienti sottoposti a trapianto di midollo, in cui sono state valutate le funzioni neuropsicologiche prima e dopo l'intervento, Peters

e colleghi hanno dimostrato che i pazienti con un indice di sviluppo prima dell'intervento superiore a 70 presentavano un miglioramento delle funzioni cognitive, non presente nei soggetti con indice di sviluppo inferiore a 70 (Peters et al, 1996).

Il trapianto di cellule staminali ematopoietiche, rappresenta al momento l'unica cura in grado di intervenire sulla degenerazione neurologica, si è osservato che un arresto della progressione cognitiva si ha a circa 1 anno dall'intervento (Staba et al, 2004).

Rispetto all'adattamento psicosociale dei pazienti trapiantati, una ricerca ha rilevato come i bambini e i giovani adulti affetti da MPS IH nel post-trapianto abbiano significative differenze nelle esperienze sociali rispetto a soggetti non affetti da disabilità o malattia cronica. In particolare, i bambini dai 2.5 ai 5 anni, gli adolescenti e i giovani adulti hanno una tendenza all'isolamento ed atteggiamento inibito, con scarsa partecipazione ad attività nel gruppo dei pari (Pitt et al, 2009).

1.1.1. Mucopolisaccaridosi tipo II (Sindrome di Hunter)

La MPS tipo II (Sindrome di Hunter) è dovuta al deficit dell'enzima iduronato 2-solfatasi (IDS), implicato nella degradazione di eparan e dermatan solfato. L'incidenza stimata è di 1,3 su 100.000 maschi nati vivi. Viene riconosciuta una forma severa per la presenza di coinvolgimento cognitivo e una forma attenuata in cui le funzioni cognitive sono nella norma o ai limiti; l'attività enzimatica è ugualmente deficitaria in entrambe le forme, dunque solo il fenotipo clinico ci permette al momento di distinguerle. Sono stati proposti dei marcatori clinici precoci di severità: disturbi del comportamento (iperattività, agitazione, masticazione continua), epilessia, disturbi del sonno, mancato controllo degli sfinteri. Tra questi, i disturbi comportamentali sono stati quelli più precocemente osservati (età media 40 mesi) (Holt et al, 2011).

La diagnosi avviene tra i due e i quattro anni di età, le manifestazioni somatiche sono multiorgano con grado di compromissione variabile intra e inter-soggetto.

A carico dell'apparato visivo, i pazienti con MPS tipo II, presentano: esoftalmo, retinopatia, se presente l'opacità corneale è di grado minimo (Ashworth et al, 2006). Per quanto attiene all'apparato otorinolaringoiatrico, presentano ipoacusia mista (trasmissiva e neurosensoriale), inoltre spesso vi è ipertrofia adenotonsillare per la quale i soggetti affetti vanno incontro ad intervento chirurgico.

L'epatosplenomegalia è un reperto comune che non è però correlato ad una disfunzione d'organo; gli studi condotti sull'efficacia della terapia enzimatica sostitutiva hanno evidenziato, in modo concorde, un riduzione dei volumi prevalentemente a carico del fegato (Tomanin et al, 2014).

I pazienti affetti da MPS II presentano un coinvolgimento delle valvole cardiache che esita in steno-insufficienza mitralica e/o aortica; in modo concorde con quanto osservato anche nella MPS I e VI, l'ERT non sembra influire in modo significativo nella compromissione valvolare (Brands et al, 2013).

A carico dell'apparato muscolo-scheletrico si osservano deformità scheletriche (gibbo, mani ad artiglio, petto carenato/escavato) già presenti alla diagnosi e un progressivo instaurarsi di rigidità a carico di tutti i distretti articolari che determinano un'importante grado di disabilità. Nei pazienti con forma neuronopatica, come per i soggetti con MPS tipo III, si osserva nelle fasi più avanzate della malattia un peggioramento dell'apparato muscolo-scheletrico caratterizzato da scoliosi, retrazione del tendine d'Achille; giungendo all'immobilizzazione nelle fasi terminali della malattia.

Coinvolgimento neurologico

Le alterazioni del parenchima cerebrale e delle strutture ossee annesse, che si possono osservare nella MPS II, così come nelle altre MPS, sono: l'allargamento degli spazi perivascolari, alterazioni della sostanza bianca, allargamento dello spazio subaracnoideo, dilatazione del III-ventricolo, anomalie della sella turcica, iperostosi cranica, craniosinostosi, cisterna magna allargata, ipoplasia del dente dell'epistrofeo, ispessimento periodontoide, stenosi spinale, platispondilia e anomalie del disco. L'ERT non sembra modificare la progressione dell'atrofia / idrocefalo comunicante e stenosi spinale (Manara et al, 2011).

L'idrocefalo comunicante è un evento che si può manifestare, come nella MPS I, associato ad un aumento del volume dei ventricoli, della pressione intracranica e a macrocefalia (nei primi anni di vita). L'esatta fisiopatologia dell'idrocefalo nei pazienti con MPS rimane da determinare, ma è probabile che ad un alterato riassorbimento del liquor causato da un ingorgo da parte dei GAG a livello delle granulazioni aracnoidee, si associno processi infiammatori (Aliabadi et al, 2010).

La presenza di idrocefalo solitamente si basa sulla comparsa di sintomi: cefalea, nausea, vomito, alterazioni del visus, disturbi comportamentali, perdita delle funzioni cognitive e motorie; nei soggetti con MPS può essere più difficile da diagnosticare poiché i sintomi sono mascherati dal quadro degenerativo legato all'atrofia cerebrale; risulta dunque fondamentale il monitoraggio attraverso neuroimaging. Ai fini del trattamento, è fondamentale differenziare l'idrocefalo dall'atrofia cerebrale, sono stati proposti degli indicatori radiografici e la misurazione della pressione attraverso puntura lombare, che potrebbero risultare utili. L'epilessia, nei soggetti con MPS II, ha una prevalenza complessiva di circa il 30%, tale percentuale aumenta nei pazienti con forma neuronopatica, l'età media di insorgenza è di 10 anni (Mendes et al, 2016; Grioni et al, 2010).

Le convulsioni possono essere di tipo generalizzato e/o di tipo focale, ma si possono presentare anche stati epilettici non convulsivi che si manifestano con decadimento delle funzioni cognitive e alterazioni del comportamento e quindi essere confuse con il decorso degenerativo della patologia (Bonanni et al, 2012). Alterazioni elettroencefalografiche, anche in assenza di convulsioni, si evidenziano negli stati avanzati delle forme severe; tali anomalie possono contribuire alla destrutturazione del sonno, inoltre vengono descritte crisi notturne associate a movimenti caotici del corpo (Bonanni et al, 2014). Da quanto emerge sempre di più dai casi riportati in letteratura, risulta fondamentale in questi soggetti monitorare attraverso EEG in veglia e sonno l'attività elettrica, in particolare di fronte a cambiamenti del ritmo sonno-veglia e del comportamento, così da permettere un intervento farmacologico mirato.

I pazienti con forma attenuata presentano un funzionamento cognitivo nella norma o ai limiti e non vengono riportati disturbi del comportamento (Shapiro et al,

2016). Vengono riportati in letteratura studi su soggetti giovani adulti in trattamento con ERT, in cui è stata osservata una correlazione tra il peggioramento delle condizioni psichiche dei pazienti e il progredire della disabilità fisica (Kuratsubo et al, 2009). Si può dunque ipotizzare che l'ERT possa determinare anche indiretti benefici sullo stato psicologico, ma manifestazioni cliniche come le valvulopatie e la displasia ossea, potranno determinare ulteriori problemi psichici. La disponibilità di cure e l'allungamento della vita di questi pazienti, pone di fronte a nuove problematiche che non erano presenti in passato. Nella forma neuronopatica vi è una progressiva perdita delle funzioni intellettive, si possono distinguere tre fasi: la prima che si manifesta con un ritardo dello sviluppo; la seconda (4-8 anni) di plateau dal punto di vista cognitivo mentre i disturbi del comportamento sono più evidenti (già visibili dal secondo anno di vita): iperattività, impulsività, scarsa tolleranza alle frustrazioni. La terza fase della malattia è caratterizzata dalla regressione delle funzioni cognitive e solitamente da una riduzione dei disturbi del comportamento (Young et al, 1983; Holt et al, 2011). Spesso, in particolare nei primi anni di vita, vengono segnalati disturbi del sonno (Bax et al, 1995).

1.1.2. Mucopolisaccaridosi tipo III (Sindrome di Sanfilippo)

La MPS di tipo III (Sindrome di Sanfilippo) è una malattia causata dal deficit di uno dei quattro enzimi preposti al degrado dell'eparan solfato. Si identificano quattro sottotipi: tipo A dovuto ad un difetto di eparan N-sulfatasi (cromosoma 17q25.3), tipo B ad un difetto di α -N-acetilglucosamidasi (cr.17q21), tipo C ad un difetto di acetil-CoA α -glucosaminide acetiltransferasi (cr. 14), e tipo D dovuto ad un difetto dell'enzima N-acetilglucosamina-6-solfatasi (cr.12q14). L'incidenza dei quattro sottotipi varia da 0,28 a 4,1 ogni 100.000 nati vivi, le forme A e B sono più comuni delle forme C e D (Valstar et al, 2008).

La caratteristica principale della malattia è la progressiva compromissione del Sistema Nervoso Centrale, con disabilità intellettiva e disturbi comportamentali. Si riconosce una forma con esordio dei sintomi nei primi anni di vita con rapida e

severa evoluzione; e un fenotipo attenuato, in cui il coinvolgimento neurologico si manifesta più tardi e con progressione più lenta (Wigburg et al, 2013).

Le manifestazioni somatiche sono complessivamente più attenuate rispetto a quelle che si ritrovano nelle altre MPS. I dismorfismi facciali sono meno evidenti rispetto alla MPS I, II e VI, fatto salvo per l'ipertricosi e l'irsutismo. A carico degli altri organi, è rilevante il coinvolgimento gastrointestinale con alvo diarroico soprattutto nei primi anni di vita, l'epatomegalia è presente in circa la metà dei soggetti e in pochi soggetti è stata riportata splenomegalia.

A livello oculare i pazienti affetti da MPS III sviluppano retinopatia di tipo rod-cone, raramente presentano opacità corneale (Ashworth et al, 2006; Suppiej et al, 2012). Le infezioni a carico delle alte vie aeree sono frequenti e spesso associate ad ipertrofia adeno-tonsillare. Il coinvolgimento cardiaco è caratterizzato da interessamento dei lembi valvolari con quadri prevalenti di insufficienza mitralica e aortica lieve-moderata (Valstar et al, 2008).

Il coinvolgimento muscolo scheletrico può manifestarsi già nei primi anni di vita con gibbo dorso-lombare e valgismo delle ginocchia; progressivamente possono manifestarsi displasia dell'anca, scoliosi, tunnel carpale; compromissioni che sono spesso fonte di dolore difficilmente diagnosticabile che si manifesta con stati di agitazione.

Coinvolgimento neurologico

A livello cerebrale si osserva un'atrofia cerebrale, una riduzione del volume dell'amigdala e un aumento del volume dei ventricoli. L'atrofia ha un decorso più rapido nelle forme più severe rispetto alle forme attenuate.

Tra il 26% e il 52% dei pazienti con MPS III sviluppa epilessia, non ci sono particolari differenze di frequenza tra i quattro sottotipi. L'età di insorgenza è variabile (ma non precocissima), può essere preceduta da anomalie evidenziate all'elettroencefalogramma, che alterano spesso il ciclo del sonno. L'epilessia è prevalentemente di tipo generalizzato e tende a divenire farmaco-resistente necessitando di poli-terapia. La risposta alla farmacoterapia è soggettiva e bisogna sempre considerare gli effetti paradosso (di agitazione) dell'utilizzo di

benzodiazepine nei soggetti con disabilità intellettiva. (Bonanni et al, 2012; Bonanni et al, 2014).

Si distinguono tre fasi nell'evoluzione del profilo neuropsichico: la prima fase, 1-4 anni, in cui il problema più evidente riguarda l'area del linguaggio e nel 50% dei casi il mancato controllo degli sfinteri. La seconda fase, 5-10 anni, caratterizzata da gravi disturbi del comportamento, vengono riportate condotte aggressive e distruttive, iperattività e una rapida diminuzione dei tempi di attenzione.

Il disturbo del sonno, comune a tutte le MPS con una prevalenza del 71%, interessa l'87% dei bambini con sindrome di Sanfilippo (Bax et al, 1995). Il disturbo del sonno in questi pazienti si può manifestare con difficoltà di addormentamento, risvegli frequenti, movimenti caotici. La produzione circadiana di melatonina sembra essere alterata nella sindrome di Sanfilippo, livelli più alti di 6S-Mel nelle urine si sono riscontrati durante il giorno e più bassi del normale nella notte. Questo può spiegare i disturbi del sonno descritti e perché la melatonina rappresenti il primario trattamento di successo per questi individui (Guerrero et al, 2006). Tuttavia, può essere necessaria una terapia di associazione, poiché l'origine del disturbo del sonno può essere multifattoriale, soprattutto nelle fasi più avanzate della malattia.

Dai 10 anni di età la malattia cambia nuovamente e si entra nella terza e ultima fase, dove prevalgono i sintomi neurologici, gli attacchi epilettici in questa fase si fanno più presenti.

Per la comparsa di disfagia e il conseguente rischio di ab ingestis, si rende necessaria l'alimentazione attraverso sondino naso-gastrico o posizionamento di gastrostomia percutanea endoscopica. La spasticità e rigidità costringe molti bambini alla immobilizzazione (Cleary et al, 1993).

La MPS III nella forma attenuata può rimanere non-diagnosticata a lungo, in quanto i tratti somatici appaiono sfumati e il coinvolgimento neurologico può manifestarsi con una disabilità cognitiva lieve-moderata che può evolvere successivamente in demenza. A tal proposito è riportato in letteratura il follow-up di sette pazienti adulti con forma attenuata di MPS IIIB, questi soggetti di età

compresa tra i 30 e i 40 anni, hanno presentato un inizio tardo e un decorso lento di demenza, in assenza dei caratteristici aspetti somatici (Valstar et al, 2010).

In letteratura viene riportato un caso di un soggetto di circa 30 anni affetto da MPS III A con una disabilità intellettiva stabile di grado moderato, senza sintomatologia psichiatrica associata, nel quale il dosaggio di eparan solfato risulta inferiore rispetto ad un gruppo di confronto di soggetti con MPS III forma severa (Coppa et al, 2013).

1.1.3. Mucopolisaccaridosi tipo IV (Sindrome di Morquio)

La MPS di tipo IV (Sindrome di Morquio), è una malattia caratterizzata dal deficit dell'enzima N-acetil galattosamina 6-solfato solfatasi (gene GALNS) nella MPS IVA e di beta-galattosidasi (gene GLB1) nella MPS IVB, con conseguente difetto del catabolismo del condroitin-6-solfato. Il gene GALNS è localizzato nella regione cromosomica 16q24.3, mentre il gene GLB1 nella regione cromosomica 3p21.33 (Sukegawa et al, 2000). Il keratan-solfato si accumula maggiormente nella cartilagine e nella cornea che rappresentano quindi gli organi bersaglio nella sindrome di Morquio (Funderburgh, 2000). Entrambe le forme di MPS IV sono caratterizzate da displasia dello scheletro, caratterizzata da: busto corto, petto carenato, cifosi, gibbo, ginocchia valghe e anomalie delle articolazioni; solitamente, inoltre, i soggetti presentano bassa statura.

La lassità legamentosa e iper-mobilità articolare differenzia la MPS IV dalle altre forme che presentano invece un interessamento articolare caratterizzato da rigidità e diminuzione della mobilità.

L'interessamento della cornea si mantiene solitamente nel tempo lieve e vi può essere anche una sofferenza della retina (Ashworth et al, 2006).

Altre manifestazioni frequenti sono ipoacusia, ernie, e denti sottili con predisposizione alla carie (Neufeld et al, 2001). È presente una predisposizione alle infezioni polmonari per la progressiva deformità e immobilità del tronco.

Dal punto di vista cardiologico vi è un interessamento precoce delle coronarie e un ispessimento delle valvole aortica e polmonare, che esitano in disfunzione cardiaca (Factor et al, 1978).

Coinvolgimento neurologico

L'ipoplasia del dente dell'epistrofeo in combinazione con la lassità legamentosa e il deposito extradurale di mucopolisaccaridi può esitare in una sublussazione (Rigante et al, 1999). Per determinare se e quando effettuare la decompressione chirurgica, il gruppo di Möllmann ha recentemente associato ai riscontri delle indagini neuro-radiologiche un punteggio in grado di facilitare la gestione clinica di questa patologia (Möllmann et al, 2013).

Il normale metabolismo di eparan e dermatan solfato in questa sindrome, risparmia i pazienti dal coinvolgimento cognitivo e questo rappresenta un'importante caratteristica che li distingue da quasi tutte le altre MPS. Dal punto di vista del comportamento sono descritti come apprensivi e ostinati. Disturbi del sonno, se pur descritti, sono più lievi rispetto alle altre sindromi (Bax et al, 1995).

1.1.4. Mucopolisaccaridosi di tipo VI (Sindrome di Maroteaux-Lamy)

La MPS di tipo VI (Sindrome di Maroteaux-Lamy) è una malattia dovuta al deficit di arilsulfatasi B (ASB) con conseguente accumulo lisosomiale di dermatan solfato. Il gene codificante l'ASB è stato localizzato nella regione 5q11-q13 (Isbrandt et al, 1994). Come per le altre MPS, anche la tipo VI presenta uno spettro di gravità clinica. I pazienti con la forma severa presentano un'insorgenza dei sintomi tra i 6 e i 24 mesi di vita, mentre quelli con la forma attenuata o con una lenta progressione della malattia di solito vengono diagnosticati nell'adolescenza o nella giovane età adulta, in occasione della comparsa di complicanze scheletriche (Valayannopoulos et al, 2010). Nella MPS VI l'aspetto somatico è caratteristico, con evidenti dismorfismi somatici. La facies è caratterizzata da: macrocefalia, fronte prominente, naso a sella, denti diastasi, lingua ingrandita e protrusa, opacità corneale. I soggetti affetti da MPS VI,

presentano solitamente uno sviluppo staturico-ponderale ai limiti superiori di norma nel primo anno di vita, seguito da un rallentamento e una bassa statura nell'infanzia che esita poi in nanismo in età adulta.

L'opacità corneale è una manifestazione sempre descritta, solitamente il quadro progressivo diffuso determina ipovisione con indicazione al trapianto di cornea (Ashworth et al, 2006), sono inoltre descritti casi di glaucoma, di cui non risulta sempre facile il monitoraggio attraverso la misurazione della pressione (per scarsa collaborazione nei bambini piccoli e per lo spessore della cornea).

Le infezioni ricorrenti a carico delle alte vie sono frequenti nei primi anni di vita, determinando quadri di ipoacusia trasmissiva. L'Epatomegalia e la splenomegalia, come nelle altre MPS, sono reperti comuni.

Nella MPS VI l'accumulo di dermatan solfato, come per le forme MPS I e II, determina la compromissione delle valvole cardiache, prevalentemente coinvolte sono la mitralica e l'aortica, con quadri di steno-insufficienza (Leal et al, 2010). Gli studi condotti a lungo termine sulla valutazione dell'efficacia della terapia enzimatica sostitutiva (ERT) non hanno mostrato cambiamenti significativi, né nella regressione né nella prevenzione della valvulopatia (Brands et al, 2013, Giugliani et al, 2014).

È presente, inoltre, coinvolgimento articolare con quadri di rigidità diffusa (sia al cingolo superiore che inferiore) e conseguenti contratture, associate a deformità scheletriche, che sono spesso indicatori diagnostici precoci quali gibbo, petto carenato, mani ad artiglio.

Coinvolgimento neurologico

L'instabilità cranio-cervicale, dovuta ad un'ipoplasia del dente dell'epistrofeo, determina una sofferenza del midollo cervicale che impone monitoraggi e interventi neurochirurgici tempestivi.

L'assenza di disabilità intellettiva caratterizza questa sindrome, tuttavia i deficit visivi e uditivi possono intervenire nel rallentare lo sviluppo psicomotorio, e successivamente rendere più difficoltosi gli apprendimenti scolastici (associato ad una compromissione della motricità fine).

Rispetto a tratti psicologici caratteristici, non è riportato nulla in letteratura. Importanti spunti di riflessione, ambito di studi futuri, nell'era della terapia e dunque di una sempre maggiore aspettanza di vita, è la fase adolescenziale di questi pazienti, in cui le evidenti differenze somatiche si rendono più manifeste rispetto alle precedenti fasi evolutive. L'aspetto e le limitazioni che derivano dal corpo, associate ai cambiamenti che l'adolescenza porta con sé, indicano la probabile difficoltà nella definizione della propria autostima e fiducia di sé, influenzando poi nelle relazioni sociali.

Il disturbo del sonno non viene riportato, se presente è legato a difficoltà respiratorie o a dolore muscolo-scheletrico e neuropatico nelle fasi più avanzate della malattia (Congedi et al, 2017).

1.2. **Diagnosi**

Una diagnosi, precoce e accurata è indispensabile per ottimizzare i risultati del trattamento, in particolare per quei disturbi che sono suscettibili al trattamento con trapianto di cellule staminali ematopoietiche (Hematopoietic stem cell transplantation - HSCT) o terapia enzimatica sostitutiva (Enzyme Replacement Therapy - ERT).

La misurazione dei livelli urinari di GAG è un test di screening utile, un risultato positivo è molto suggestivo di MPS, tuttavia anche falsi negativi sono comuni (Mahalingam et al, 2004) e nel caso di sospetto clinico di MPS IV B non dobbiamo attenderci dei livelli fuori range.

Quindi il forte sospetto clinico, anche in caso di esito negativo al dosaggio dei GAG non deve fare desistere dall'approfondimento diagnostico.

La diagnosi si basa sul dosaggio dell'attività dell'enzima (di cui vi è il sospetto di deficit) su fibroblasti, leucociti o siero.

L'analisi molecolare del DNA, per quanto non indispensabile ai fini diagnostici, deve essere sempre eseguita. Risulta infatti utile ai fini della programmazione familiare (diagnosi prenatale), può essere un elemento di guida per alcune scelte

trapiantologiche, ma soprattutto, oggi che alcune terapie sono disponibili, può costituire un elemento di ricerca importante nella valutazione dell'“outcome” terapeutico.

1.3. **Trattamento**

La gestione dei pazienti con MPS richiede valutazioni regolari e una presa in carico clinica multidisciplinare, per affrontare una serie di possibili complicanze organiche.

A causa della complessità e rarità di queste patologie, i pazienti sono meglio monitorati e curati presso una struttura che ha esperienza nel trattamento di pazienti con MPS. Storicamente, le cure palliative sono state per anni l'unica opzione terapeutica.

Per molte MPS sono stati tentati trapianti allogenici di midollo per garantire una fonte continua e sistemica di enzima. In seguito al trapianto, le cellule del paziente possono captare l'enzima circolante nel plasma mediante un meccanismo di endocitosi e contemporaneamente i leucociti trapiantati colonizzano i diversi organi attraverso il sistema monocita-macrofago.

Il primo trapianto di midollo per una MPS, fu eseguito nel 1981 da Hobbs, in un paziente Hurler di 1 anno allo stadio iniziale della patologia. Il bambino, a 3-4 mesi dal trapianto presentava attività enzimatica nel siero e nelle urine e aumento della secrezione dei GAG degradati nelle urine ma, soprattutto, scomparsa dell'epato-splenomegalia e dell'opacità corneale, e arresto del progressivo deterioramento nello sviluppo, almeno dal punto di vista fisico. Il trapianto con cellule staminali provenienti dal midollo osseo o dal cordone ombelicale è stato eseguito in un certo numero di patologie lisosomiali con elevata variabilità di successo (Shapiro et al, 1995; Vellodi et al, 1992;), i risultati migliori sono stati ottenuti nei soggetti affetti da MPS I (Souillet et al, 2003).

Il trapianto può produrre miglioramenti e/o stabilizzazione delle vie aeree superiori e della funzione respiratoria, udito, vista, funzionalità cardiaca,

epatosplenomegalia e della mobilità articolare. Eppure, anche quando si verifica un pieno attecchimento, alcune anomalie persistono e richiedono intervento, in particolare l'opacità corneale (Souillet et al, 2003), le malformazioni valvolari (Braunlin et al, 2003) e le anomalie scheletriche (Weisstein et al, 2004). Inoltre, l'HSCT non sembra capace di intervenire sul deterioramento intellettuale, dopo che questo si è già verificato. Il successo clinico del trapianto dipende quindi dall'età del bambino all'intervento, dal grado di coinvolgimento clinico, dal tipo di donatore e dalla capacità di attecchimento senza lo sviluppo di rigetto (Prasad et al, 2010).

Nel corso degli ultimi anni, è stata approvata negli USA, Europa e in molti altri paesi del mondo la terapia sostitutiva con enzima ricombinante (ERT) per la MPS I, II e VI e da pochi anni anche per la MPS IV A. L'inizio tempestivo dell'ERT, come per l'HSCT, migliora il potenziale esito, a causa della natura irreversibile di alcune disfunzioni d'organo associate alle MPS (McGill et al, 2010; Schulze-Frenking et al, 2011).

La terapia con ERT può determinare un miglioramento almeno iniziale della mobilità, migliorata funzionalità respiratoria con ridotte infezioni; riduzione dell'epatosplenomegalia e significativa riduzione dell'escrezione urinaria di GAG (Muenzer, 2011; Wraith, 2007)

In generale, bisogna comunque sottolineare che, a causa della presenza della barriera emato-encefalica, gli enzimi somministrati non sono in grado di produrre alcun tipo di miglioramento cerebrale nei pazienti con coinvolgimento neurologico della patologia.

I più comuni eventi avversi con l'ERT sono reazioni, correlate all'infusione, di ipersensibilità, che possono essere caratterizzate da vampate di calore, cefalea, febbre od orticaria. Tali reazioni sono generalmente gestite attraverso il rallentamento della velocità di infusione e somministrazione di antistaminici e/o steroidi (Burton et al, 2011). Un numero significativo di pazienti con MPS che ricevono ERT sono noti per sviluppare IgG contro l'enzima ricombinante, ma il significato di tali anticorpi sull'efficacia non è chiaro. Negli studi clinici, nessun paziente ha sviluppato anticorpi IgE (Muenzer, 2011; Wraith, 2007).

1.4. Screening neonatale

Nel mondo si stanno elaborando diversi programmi di “screening” neonatale per le malattie da accumulo lisosomiale, che permetteranno di riconoscere tutte le forme lievi che attualmente rischiano di non essere individuate.

In uno studio austriaco, pubblicato qualche anno fa su Lancet (Mechtler et al, 2012), riportante i risultati di uno screening neonatale nazionale eseguito in Austria, è stata riscontrata una proporzione complessiva di bambini portatori di mutazioni per una delle 4 malattie da accumulo lisosomiale valutate, superiore alle aspettative. Lo screening neonatale per questo gruppo di malattie si sta rendendo quindi sempre più necessario, come anche la necessità di una regolamentazione nazionale omogenea.

Queste nuove frontiere, portano con sé numerosi risvolti non solo scientifici, ma anche etici e psicologici per i portatori e le loro famiglie.

1.5. Biomarcatori di severità e di efficacia terapeutica

L’identificazione di biomarcatori monitorabili, in tessuti facilmente accessibili e correlabili alla severità delle diverse forme di MPS rimane un problema importante, tuttavia ancora aperto. Inoltre, da quando sono diventate disponibili diverse forme di terapia, e in particolare l’ERT, per alcune MPS, si è presentata la necessità di verificarne l’efficacia mediante biomarcatori periferici significativi e correlabili a parametri clinici, indice di miglioramento delle condizioni del paziente.

Buona parte degli studi finora riportati sui pazienti in terapia enzimatica sostitutiva utilizza quali parametri di efficacia il calo dei livelli urinari di GAG e la riduzione dell’epatosplenomegalia (REF), più recentemente viene anche

effettuata una valutazione degli apparati muscolo-scheletrico [tramite il 6 minutes walking test (6MWT) e l'analisi delle articolazioni] e cardio-respiratorio [tramite analisi delle valvole cardiache e della Capacità Vitale Forzata (FVC)] (Muenzer et al, 2017).

Purtroppo mancano ancora degli indicatori precoci di severità di patologia per quelle MPS che presentano forme a coinvolgimento neurologico, quali la MPS I, la II, tutte le III e la VII (Scarpa et al, 2017).

Eccettuate le mutazioni genomiche di tipo frame-shift o quelle che causano uno STOP precoce della trascrizione, è ormai chiaro che spesso anche la diagnosi genetica non aiuta nel definire la prognosi di questi bambini, considerato che le stesse varianti genetiche possono caratterizzare pazienti con fenotipi clinici molto diversi (Filocamo et al, 2011).

In queste patologie, l'identificazione di biomarcatori che aiutassero a comprendere, ancora in fase molto precoce di malattia, quale potrebbe essere la sua progressione, sarebbe di notevole importanza per la gestione del paziente e dei suoi familiari, e anche per la valutazione di una corretta scelta terapeutica.

Capitolo 2

2.1. Obiettivi dello studio

Descrizione della storia naturale dei pazienti con MPS

Primo obiettivo dello studio era andare a valutare lo stato di ogni paziente dal primo sospetto clinico che ha condotto alla diagnosi di malattia fino all'inizio del trattamento, nei casi in cui questo fosse disponibile (MPS I, II, IV e VI). Per quanto riguarda, invece, i soggetti affetti dalle diverse forme di MPS III, per le quali non è ancora disponibile il trattamento di sostituzione enzimatica né HSCT, il monitoraggio dei pazienti è stato continuato fino ai tempi attuali. Il monitoraggio dei pazienti prima o in assenza di trattamento consente di valutare la storia naturale della malattia.

Valutazione dell'efficacia terapeutica di ERT o di HSCT nei diversi organi

È stato effettuato un monitoraggio dell'efficacia terapeutica a diversi time-points dall'inizio del trattamento, a seconda del tipo e dei tempi di trattamento. Obiettivo di tale analisi era di evidenziare la presenza di cambiamenti significativi delle variabili cliniche considerate nei diversi organi coinvolti.

Indagare la presenza di correlazioni tra il coinvolgimento neuropsichiatrico e i dati biochimici per i soggetti affetti da MPS tipo I, II e III.

Per quanto riguarda, in particolare, il coinvolgimento neurologico e psichiatrico, in questa fase si è valutata una possibile correlazione con il livello dei GAG quantitativi e le concentrazioni urinarie di eparan-solfato. Tale indagine è stata eseguita sul campione globale di MPS di tipo I, II e III; in tutti questi soggetti, infatti, a prescindere dal quadro fenotipico vi è un accumulo di eparan solfato.

Capitolo 3

3.1. Partecipanti

Il reclutamento dei pazienti, e la raccolta dei dati e dei campioni sono stati eseguiti in seguito ad Autorizzazione dei Comitati Etici delle Unità coinvolte nello studio. Le quattro unità di ricerca sono state responsabili del reclutamento di 58 pazienti affetti da MPS, di cui 29 da parte della Clinica Pediatrica dell'Università di Padova.

In particolare sono stati inclusi tutti i pazienti:

- con diagnosi di MPS I, II, III, IV, VI, confermata da dosaggio enzimatico e/o indagine genetica
- di qualsiasi età
- nuovi pazienti diagnosticati dopo l'inizio dello studio (2014)
- pazienti già in trattamento con terapia enzimatica sostitutiva (ERT) o trapianto di cellule staminali ematopoietiche (HSCT)
- pazienti non in trattamento
- con consenso informato firmato.

Nella Tabella 1, è indicata la numerosità del campione totale (prima riga) e suddivisa poi per tipo di MPS; la presenza o assenza di quadro neuronopatico e il tipo di trattamento (laddove disponibile).

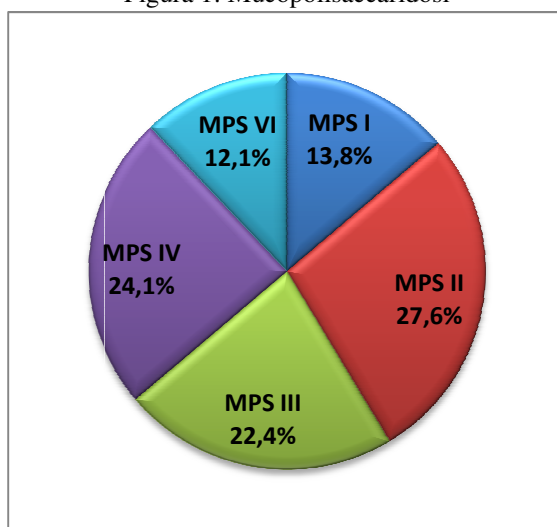
Tabella 1: Caratteristiche cliniche del campione

	NUMERO PAZIENTI	NEURONOPATIA	TRATTAMENTO
	Totale (M/F)	con/senza	ERT/HSCT/Nessuno
MPS	58 (35/23)	26/32	38/5/15
MPS I	8 (5/3)	3/5	4/4/0
MPS II	16 (15/1)	10/6	15/1/0

MPS III	13 (7/6)	13/0	0/0/13
MPS IV	14 (6/8)	0/14	12/0/2
MPS VI	7 (2/5)	0/7	7/0/0

Nella Figura 1 è rappresentata la distribuzione dei soggetti nei diversi sottotipi di mucopolisaccaridosi del campione preso in esame.

Figura 1: Mucopolisaccaridosi



3.2. Strumenti

Lo studio ha previsto la raccolta dei dati clinici e di laboratorio alla diagnosi (T Diagnosi = TD), appena prima dell'inizio del trattamento (laddove disponibile) (T0) e all'arruolamento (T1). Per alcuni pazienti è stato possibile raccogliere gli indicatori clinici e biochimici prefissati anche per tempi definiti successivi: ad un anno (T7) e a tempi intermedi per i pazienti che hanno iniziato il trattamento dopo l'arruolamento. Al fine di una valutazione omogenea della casistica sono stati presi in considerazione, per tutti i soggetti, i tempi: TD, T0, T1.

Poiché la presa in carico della maggior parte dei pazienti risale al momento della diagnosi, per molti di questi è disponibile un follow-up di diversi anni ($M \pm DS = 11.8 \pm 8.5$ anni).

Tutti i dati ottenuti sono stati inseriti, da parte di ciascuna Unità Operativa, in una piattaforma informatica accessibile tramite un sito web dedicato al progetto.

3.2.1. Dati clinici

I pazienti, sono stati monitorati da un'equipe di medici in ciascuna unità operativa, in base a protocolli standard per il follow-up delle Mucopolisaccaridosi (Muenzer et al, 2009; Andria et al, 2010; Scarpa et al, 2011).

In particolare, per ciascun apparato coinvolto dalla patologia sono stati considerati ed inseriti nella piattaforma informatica i segni e sintomi che in letteratura vengono confermati come indicatori specifici di compromissione d'organo.

Oggetto di valutazione e di rielaborazione statistica di questa tesi, sono i seguenti indicatori clinici:

- Apparato Visivo: opacità corneale, ipovisione;
- Apparato ORL e Respiratorio: infezioni ricorrenti, ipoacusia, ipertrofia adenotonsillare, interventi chirurgici;
- Apparato Cardiocircolatorio: stenosi e insufficienza delle valvole aortica, mitralica e tricuspide, grado di severità della compromissione;
- Apparato Gastrointestinale: epato e splenomegalia;
- Apparato Muscolo-Scheletrico: bassa statura, rigidità articolare, gibbo, scoliosi, mani ad artiglio, ginocchia valghe, petto carenato/escavato, tunnel carpale, retrazione tendine d'Achille;

Del Sistema Nervoso Centrale sono state indagate:

- alterazioni strutturali dell'encefalo e midollo: idrocefalo, instabilità atlanto-assiale;

- manifestazioni neurologiche: macrocefalia, epilessia, alterazioni elettroencefalografiche;
- manifestazioni neurocognitive: ritardo/disturbo del linguaggio, disabilità intellettiva e suo grado di severità;
- manifestazioni psichiatriche: disturbo del sonno, disturbo del comportamento (iperattività, scarsa tolleranza alle frustrazioni, stereotipie) e altri disturbi psichici (disturbi d'ansia e dell'umore).

Gli strumenti utilizzati per le valutazioni somatiche sono quelli in uso nella pratica clinica per il follow-up di routine dei pazienti, le equipe specialistiche hanno sviluppato competenze specifiche in questo gruppo di patologie rare che hanno permesso di effettuare valutazioni accurate.

Gli strumenti per le valutazioni del sistema nervoso centrale sono: esame neurologico, neuroimaging, elettroencefalogramma (EEG) in veglia e sonno, interviste cliniche semistrutturate, test psicometrici e sul funzionamento adattivo (scala Bailey, scale Wechsler, scala Vineland), questionario sul comportamento del bambino (Achenbach).

3.2.2. Dati di laboratorio

Campioni di sangue e urine sono stati periodicamente prelevati dai pazienti affetti da MPS arruolati e in trattamento con HSCT o ERT e dai pazienti affetti da MPS non in trattamento, e sono stati analizzati per la determinazione dei GAG urinari.

Analisi dei GAG urinari totali e determinazione del pattern qualitativo.

L'urina è stata utilizzata per una valutazione quantitativa dei GAG totali, da ciascuna delle unità di ricerca responsabili del reclutamento dei pazienti, per mezzo di metodi standardizzati. Inoltre, è stata eseguita una valutazione qualitativa di tutti i campioni da parte del Laboratorio Metabolico della Divisione Pediatrica dell'Università Politecnica delle Marche.

Le variabili cliniche e biochimiche sono state considerate in base a presenza o assenza e laddove vi era indicato un grado di severità queste sono state considerate come variabili numeriche ordinali.

3.3. Metodi di analisi statistica

I dati sono stati sottoposti ad elaborazione statistica attraverso il programma IBM SPSS vers.23. Sono state preliminarmente applicate delle statistiche descrittive (medie, deviazioni standard, frequenze e percentuali) allo scopo di giungere ad un quadro descrittivo del campione rispetto alle caratteristiche anagrafiche e a quelle relative alle variabili cliniche e biochimiche.

Successivamente è stato applicato il test di McNemar, un test per variabili dicotomiche, per valutare come i soggetti si distribuiscono rispetto alle variabili di interesse nei diversi tempi considerati; il test è stato applicato sia sul gruppo globale dei soggetti che ai diversi sottogruppi facenti riferimento ai diversi tipi di MPS. Parallelamente, al gruppo globale dei soggetti è stato applicato il Test t di Student per dati appaiati per confrontare le medie delle variabili con più di una categoria nei diversi tempi considerati; lo stesso confronto è stato effettuato sui diversi sottogruppi applicando il test di Wilcoxon, alternativa non parametrica al t test per dati appaiati.

Per testare le correlazioni tra le variabili considerate. dei soggetti del nostro studio, è stato utilizzato il coefficiente di correlazione r di Pearson, che riflette il grado di rapporto lineare tra due variabili. I limiti della correlazione sono fra -1 e +1, dove lo 0 indica che non esiste alcuna relazione nell'andamento di due variabili. I segni - o + indicano la direzione della correlazione, mentre la cifra indica la sua forza.

Capitolo 4

4.1. Risultati

Si presentano i risultati della ricerca nel tentativo di mettere in evidenza, sulla base delle ipotesi precedentemente formulate e delle analisi svolte, i dati maggiormente significativi che hanno permesso di sviluppare le successive riflessioni.

4.1.1. Caratteristiche anagrafiche

Sono stati arruolati 58 pazienti e tutti hanno completato lo studio. Per alcuni pazienti non è stato possibile recuperare alcuni dati clinici retrospettivi, dunque le analisi statistiche sono eseguite su un campione variabile di soggetti. Inoltre, per il gruppo di soggetti con MPS di tipo III abbiamo il TD e il T1 non essendo per loro disponibile un trattamento e quindi un punto pre-terapia (T0).

Nella Tabella 2 sono indicate le età medie alla diagnosi, all'inizio terapia e all'arruolamento del gruppo totale di pazienti e suddiviso per i diversi sottotipi; inoltre, sono indicate le medie tra gli intervalli di tempo considerati.

Si può osservare che l'età media alla diagnosi dell'intero campione è di 3.9 ± 3.4 anni, nella nostra casistica sono i soggetti con MPS di tipo VI coloro che giungono più precocemente alla diagnosi, con età media di 2 ± 0.7 anni; mentre nei soggetti con MPS di tipo III l'età media alla diagnosi è di 5.4 ± 4.4 anni.

Tabella 2: Età medie in anni alla diagnosi TD, all'inizio del trattamento T0 e all'arruolamento T1; medie tra gli intervalli di tempo

	Età alla diagnosi TD M (DS)	Età inizio terapia T0 M (DS)	Età arruolamento T1 M (DS)	TD - T0 M (DS)	T0 - T1 M (DS)	TD - T1 M (DS)
MPS	3.9 (3.4)	8.6 (8.8)	15.9 (9.5)	5.4 (7.7)	7.2 (6.0)	11.8 (8.5)
MPS I	2.5 (2.0)	4.2 (3.7)	16.8 (9.5)	1.7 (2.5)	12.5 (6.6)	14.3 (8.7)
MPS II*	3.9 (3.6)	8.6 (10.3)	17.0 (10.4)	4.5 (8.0)	7.9 (5.2)	12.4 (12.7)
MPS III	5.4 (4.4)	-	15.0 (8.5)	-	-	9.6 (6.3)
MPS IV	4.3 (3.3)	12.8 (10.2)	14.7 (11.4)	9.5 (9.9)	1.3 (1.4)	10.4 (10.6)
MPS VI	2.0 (0.7)	6.7 (3.3)	16.2 (7.3)	4.7 (3.4)	9.5 (4.3)	14.2 (7.5)

* nel gruppo MPS II il calcolo delle medie è stato eseguito senza un soggetto con età alla diagnosi di 44.27 anni

4.1.2. Segni e sintomi d'esordio

Nella Figura 2 sono indicate le frequenze dei segni e sintomi che hanno condotto alla diagnosi nella casistica globale e per tipo di MPS. La sintomatologia è stata suddivisa in base all'origine: otorinolaringoiatrica (infezioni ricorrenti, ipertrofia adeno-tonsillare), neurologica (macrocefalia, ritardo del linguaggio, disabilità intellettiva, disturbi del comportamento e del sonno), muscolo-scheletrica (mani ad artiglio, gibbo, petto carenato, dita a scatto, rigidità articolare), familiarità per patologia (fratello affetto), presenza di più segni e sintomi di quelli sopra indicati.

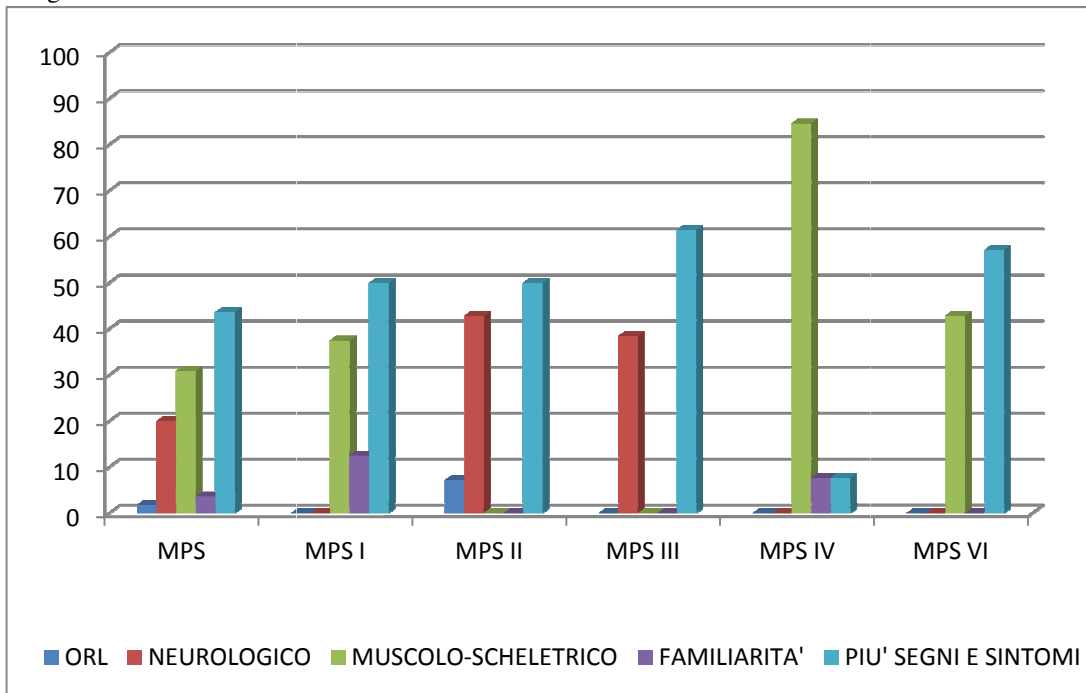
Nel campione globale il 41,4% presentava contemporaneamente più segni e sintomi che hanno condotto al sospetto diagnostico, per il 29,3% dei soggetti il sintomo che ha indicato il sospetto diagnostico è di origine muscolo-scheletrica, il 19% sintomi neurologici, il 3,4% ha un familiare affetto e l'1,7% per sintomi di origine otorinolaringoiatrica.

Nello specifico nei soggetti con MPS I, il 50% presentavano segni e sintomi in almeno due distretti corporei, e per il 37,5% di origine muscolo-scheletrica. Tra i pazienti affetti da MPS II il 43,8% presentavano segni e sintomi multipli, il 37,5%

compromissione neurologica. I pazienti MPSIII per il 61,5% presentavano più segni e sintomi e per il 38,5% segni di origine neurologica.

I soggetti con MPS IV per il 78,6% sono giunti a diagnosi con sintomi di origine muscolo-scheletrica; per laMPS VI il 57,1% con più segni e sintomi e il 42,9 % con sintomi di origine muscolo-scheletrica.

Figura 2: Sintomi d'esordio

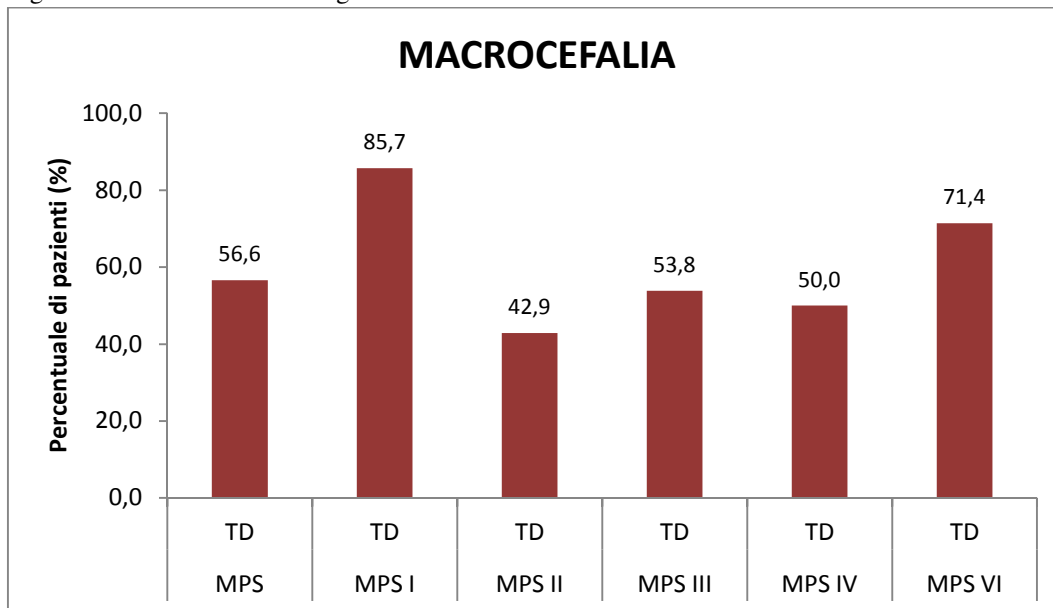


4.1.3. Caratteristiche neurologiche

La **macrocefalia** è una manifestazione clinica che si può presentare frequentemente alla diagnosi; nella casistica oggetto di studio sono state trasformate le misure grezze della circonferenza cranica in valori percentile standardizzati sulla base dell'età e genere. È stata considerata la macrocefalia assoluta considerando i valori superiori o uguali al novantasettesimo percentile (Curve standard di crescita -World Health Organization (WHO)).

Nel campione generale il 51,7% dei soggetti presenta macrocefalia alla diagnosi, nella Figura 3 sono rappresentate anche le percentuali di frequenza dei soggetti con macrocefalia nei diversi sottotipi di MPS.

Figura 3: Macrocefalia alla diagnosi



L'epilessia, in accordo con quanto è segnalato in letteratura, è presente nei soggetti neuronopatici, nello specifico il 53,8% dei soggetti (7/13) con MPS III e 3 soggetti MPS II; si segnala anche un soggetto con MPS VI che ha sviluppato epilessia in età giovane adulta. Le crisi epilettiche si sono manifestate al Tempo 1, ad eccezione di un soggetto che presentava la sintomatologia alla diagnosi.

Le **alterazioni elettroencefalografiche**, presenti nei pazienti epilettici, si possono evidenziare nei soggetti neuronopatici anche in assenza di franche crisi. Nella

nostra casistica, al Tempo 1, le alterazioni sono presenti in 3 soggetti con MPS II e in 2 con MPS III.

L'**idrocefalo** è presente in un soggetto con MPS I e uno con MPS IV al tempo della diagnosi, mentre nell'MPS II l'idrocefalo si è manifestato tra il T0 e il T1 in due pazienti.

L'**instabilità cranio cervicale** è presente in tutte le MPS con maggiore frequenza nella MPS IV e VI, mentre non si evidenzia nella tipo III.

Nella nostra casistica si riportano 15 **interventi neurochirurgici** (derivazione ventricolo-peritoneale, decompressione midollo cervicale), si evidenzia che i pazienti con MPS VI vanno incontro maggiormente ad intervento.

Nella Tabella 3 è riportata l'analisi descrittiva delle caratteristiche neurologiche.

Tabella 3: Caratteristiche neurologiche

CARATTERISTICHE NEUROLOGICHE	MPS	TIPO MPS					
		MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	
% (n. POSITIVI/ CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
EPILESSIA	TD	1.8 (1/56)	0 (0/7)	0 (0/16)	7.7 (1/13)	0 (0/13)	0 (0/7)
	T0	2.4 (1/41)	12.5 (1/8)	6.3 (1/16)	-	0 (0/11)	0 (0/7)
	T1	19.6 (11/56)	0 (0/7)	18.8 (3/16)	53.8 (7/13)	0 (0/13)	14.3 (1/7)
ALTERAZIONI ALL'EEG	TD	2.8 (1/36)	0 (0/4)	0 (0/16)	7.7 (1/13)	0 (0/13)	-
	T0	4.3 (1/23)	0 (0/3)	7.1 (1/14)	-	0 (0/4)	0 (0/2)
	T1	42.1 (16/38)	-	42.9 (6/14)	69.2 (9/13)	0 (0/5)	16.7 (1/6)
IDROCEFALO	TD	3.7 (2/54)	16.7 (1/6)	0 (0/16)	0 (0/13)	8.3 (1/12)	0 (0/7)
	T0	5.1 (2/39)	16.7 (1/6)	0 (0/16)	-	9.1 (1/11)	0 (0/6)
	T1	5.6 (3/54)	0 (0/7)	14.3 (2/14)	0 (0/13)	7.7 (1/13)	0 (0/7)
INSTABILITA' CRANIO-CERVICALE	TD	27.1 (13/48)	50.0 (2/4)	0 (0/16)	0 (0/13)	63.6 (7/11)	100.0 (4/4)
	T0	31.4 (11/35)	50.0 (2/4)	0 (0/16)	-	55.6 (5/9)	66.7 (4/6)
	T1	25.0 (13/52)	40.0 (2/5)	28.6 (4/14)	0 (0/13)	38.5 (5/13)	28.6 (2/7)
INTERVENTI CHIRURGICI*	TD	1.9 (1/53)	16.7 (1/6)	0 (0/16)	0 (0/13)	0 (0/12)	0 (0/6)
	T0	15.0 (6/40)	16.7 (1/6)	0 (0/16)	-	27.3 (3/11)	28.6 (2/7)
	T1	14.5 (8/55)	28.6 (2/7)	18.8 (3/16)	0 (0/13)	0 (0/12)	42.9 (3/7)

* interventi chirurgici: decompressione midollare cranio-cervicale e derivazione ventricolo-peritoneale

E' stato applicato il test di McNemar per valutare se vi fossero cambiamenti significativi all'interno del gruppo generale di soggetti e nei diversi tipi di MPS rispetto alla presenza di problematiche neurologiche negli intervalli di tempo: TD-T0, T0-T1, TD-T1.

Dai risultati emerge un cambiamento statisticamente significativo rispetto alla variabile epilessia nel campione globale tra TD e T1 ($p=.002$). Dall'analisi dei singoli sottotipi, tale cambiamento rimane significativo solo per la MPS III ($p=.031$). Più nello specifico si osserva come nel 46,2% (N=6) dei soggetti sia emersa la presenza di sintomatologia epilettica tra i due tempi considerati, mentre nel 53,8% (N=7) si sono osservate condizioni di stabilità rispetto alla presenza o all'assenza di epilessia. In nessun caso si sono osservati dei cambiamenti che

andassero nella direzione di un miglioramento rispetto alla variabile presa in esame.

Nella Tabella 4 è riportata l'analisi di contingenza rispetto alla variabile epilessia. Per tutti gli altri parametri considerati non si sono evidenziate differenze statisticamente significative negli intervalli di tempo valutati.

Tabella 4: Tabella di contingenza Epilessia

		EPILESSIA				Test di McNemar
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N	p-value
MPS	TD-T0	0	0	1	40	>.05
	T0-T1	1	0	3	35	>.05
	TD-T1	1	0	10	43	0.002
MPS I	TD-T0	7	7	7	7	>.05
	T0-T1	0	0	0	6	>.05
	TD-T1	0	0	0	6	>.05
MPS II	TD-T0	0	0	1	15	>.05
	T0-T1	1	0	2	13	>.05
	TD-T1	0	0	3	13	>.05
MPS III	TD-T1	1	0	6	6	0.031
MPS IV	TD-T0	0	0	0	11	>.05
	T0-T1	0	0	0	10	>.05
	TD-T1	0	0	0	12	>.05
MPS VI	TD-T0	0	0	0	7	>.05
	T0-T1	0	0	1	6	>.05
	TD-T1	0	0	1	6	>.05

Disturbi neuropsicologici

Il **disturbo del linguaggio** è presente tra il 40 e il 50% del campione globale nei tre tempi considerati. Nei sottotipi di MPS, solo nella forma MPS VI non viene mai riportato un disturbo del linguaggio; nell'MPS III tutti i soggetti hanno un ritardo del linguaggio alla diagnosi che evolve progressivamente nella perdita della parola. Nel gruppo dei soggetti MPS I e II si osserva una riduzione della frequenza dal TD al T1.

La **disabilità intellettiva**, come atteso, è presente in tutti i pazienti MPS III, nel 68.8% dei pazienti con MPS II e nel 14.3% con MPS I.

Nella Tabella 5 sono riportate le frequenze dei disturbi neuropsicologici.

Il **grado di severità della disabilità intellettiva** è stato analizzato applicando il t test. Nel campione globale emerge una differenza statisticamente significativa tra il T0 e T1 [$t(40) = -2.76$, $p = .009$]; al T1 i soggetti presentano punteggi medi significativamente superiori (in questa analisi non vi sono i soggetti con MPS tipo III). Tra il TD e T1 vi è una differenza statisticamente significativa [$t(54) = -4.24$, $p = .000$] al T1 i soggetti presentano punteggi medi significativamente superiori.

E' stato successivamente applicato il test di Wilcoxon per verificare se vi fossero differenze statisticamente significative rispetto al grado di disabilità intellettiva tra TD e T0, T0 e T1 e tra TD e T1 all'interno dei vari tipi di MPS.

Per quanto riguarda la MPS II dai risultati emerge come vi sia una differenza statisticamente significativa rispetto alla variabile di interesse tra T0 e T1 ($Z = -2.60$, $p = .009$) e tra TD e T1 ($Z = -2.59$, $p = .010$). Più nello specifico si osserva come nei due intervalli di tempo considerati vi sia un aumento significativo del grado di severità.

Nei soggetti con MPS III emerge una differenza statisticamente significativa tra TD e T1 ($Z = -2.60$, $p = .009$) anche qui si osserva come vi sia un aumento significativo del grado di severità.

Nell'MPS I, IV e VI, non emergono cambiamenti statisticamente significativi.

Tabella 5: Disturbi neuropsicologici

DISTURBI NEUROPSICOLOGICI	MPS	TIPO MPS					
		MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	
% (n. POSITIVI / CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
RITARDO/DISTURBO DEL LINGUAGGIO	TD	48.2 (27/56)	33.3 (2/6)	75.0 (12/16)	92.3 (12/13)	7.1 (1/14)	0 (0/7)
	T0	40.0 (16/40)	33.3 (2/6)	75.0 (12/16)	-	18.2 (2/11)	0 (0/7)
	T1	46.4 (26/56)	14.3 (1/7)	68.8 (11/16)	100.0 (13/13)	7.7 (1/13)	0 (0/7)
DISABILITA' INTELLETTIVA	TD	40.0 (22/55)	20.0 (1/5)	56.3 (9/16)	92.3 (12/13)	0 (0/14)	0 (0/7)
	T0	25.0 (10/30)	16.7 (1/6)	56.3 (9/16)	-	21.4 (3/14)	0 (0/7)
	T1	46.4 (26/56)	14.3 (1/7)	68.8 (11/16)	100.0 (13/13)	7.7 (1/13)	0 (0/7)

4.1.4. Caratteristiche psichiatriche

Nel campione complessivo il **disturbo del sonno** è presente nel 23.5% dei soggetti alla diagnosi, al tempo dell'arruolamento diviene del 33.9%. Il disturbo è prevalente nei soggetti con MPS tipo II e III, con un importante aumento di frequenza dal TD rispetto al T1.

Il **disturbo del comportamento** (iperattività, ridotti tempi di attenzione, stati di irrequietezza, stereotipie) è presente esclusivamente nei soggetti con MPS tipo II e III, in quest'ultimi si osserva una riduzione del disturbo al T1 legato alla progressione della malattia.

Le altre problematiche psichiatriche (disturbi d'ansia e dell'umore) sono presenti nel 15,8% al T1 del campione globale, mentre non sono riportate alla diagnosi.

Sono sottoposti a **trattamento farmacologico** (melatonina, benzodiazepine, risperidone) l'11.5% dei soggetti al TD e aumenta al T1 al 26.8% nel campione globale; i pazienti con MPS III sono quelli maggiormente sottoposti a farmacoterapia.

Nella Tabella 6 è riportata l'analisi descrittiva dei disturbi psichiatrici.

Tabella 6: Disturbi psichiatrici

DISTURBI PSICHIATRICI	MPS	TIPO MPS					
		MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	
% (n. POSITIVI/ CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
DISTURBI DEL SONNO	TD	23.5 (12/51)	0 (0/6)	13.3 (2/15)	69.2 (9/13)	8.3 (1/12)	0 (0/5)
	T0	8.3 (3/36)	0 (0/6)	14.3 (2/14)	-	11.1 (1/9)	0 (0/7)
	T1	33.9 (19/56)	0 (0/7)	40.0 (6/15)	84.6 (11/13)	7.1 (1/14)	14.3 (1/7)
DISTURBO DEL COMPORTAMENTO	TD	28.3 (15/53)	0 (0/6)	31.3 (5/16)	76.9 (10/13)	0 (0/12)	0 (0/6)
	T0	13.2 (5/38)	0 (0/6)	31.3 (5/16)	-	0 (0/9)	0 (0/7)
	T1	28.1 (16/57)	0 (0/7)	56.3 (9/16)	46.2 (6/13)	7.1 (1/14)	0 (0/7)
ALTRI DISTURBI PSICHIATRICI	TD	0 (0/52)	0 (0/6)	0 (0/16)	0 (0/13)	0 (0/12)	0 (0/5)
	T0	2.6 (1/38)	0 (0/6)	6.3 (1/16)	-	0 (0/9)	0 (0/7)
	T1	15.8 (9/57)	28.6 (2/7)	12.5 (2/16)	15.4 (2/13)	14.3 (2/14)	14.3 (1/7)
TRATTAMENTO FARMACOLOGICO	TD	11.5 (6/52)	0 (0/6)	6.3 (1/16)	38.5 (5/13)	0 (0/12)	0 (0/5)
	T0	2.6 (1/38)	0 (0/6)	6.3 (1/16)	-	0 (0/9)	0 (0/7)
	T1	26.8 (15/56)	0 (0/7)	26.7 (4/15)	76.9 (10/13)	0 (0/14)	14.3 (1/7)

E' stato applicato il test di McNemar per valutare se vi fossero cambiamenti significativi all'interno del gruppo generale e nei sottotipi di MPS rispetto alla presenza di problematiche psichiatriche tra gli intervalli di tempo considerati; non sono state evidenziate differenze statisticamente significative.

4.1.5. Caratteristiche oculistiche

Nella Tabella 7 sono riportate le problematiche oculistiche dei soggetti, suddivisi per campione globale e nei sottotipi di MPS. L'**ipovisione** nei pazienti con MPS I si manifesta al T1 con una percentuale del 85.7%, nei soggetti con MPS II, IV e VI la frequenza dei soggetti ipovedenti aumenta da un intervallo di tempo all'altro, mentre i pazienti con MPS III non presentano il disturbo. L'**opacità corneale** è presente in tutti i soggetti con MPS VI già dal TD; nelle forme MPS I e IV l'epoca di comparsa appare più tardiva con una frequenza al T1 rispettivamente del 71.4% e 64.3%. Un solo soggetto con MPS II presenta opacità della cornea e nessuno degli MPS III. Sono stati sottoposti a cheratoplastica complessivamente 4 pazienti.

Tabella 7: Caratteristiche oculistiche

CARATTERISTICHE OCULISTICHE	MPS	TIPO MPS					
		MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI	
% (n. POSITIVI / CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
IPOVISIONE	TD	14.6 (7/48)	0 (0/6)	10.0 (1/10)	0 (0/13)	33.3 (4/12)	28.6 (2/7)
	T0	28.6 (10/35)	0 (0/6)	25.0 (3/12)	-	50.0 (5/10)	28.6 (2/7)
	T1	37.5 (21/56)	85.7 (6/7)	40.0 (6/15)	0 (0/13)	35.7 (5/14)	57.1 (4/7)
OPACITA' CORNEALE	TD	24.5 (12/49)	14.3 (1/7)	0 (0/10)	0 (0/13)	33.3 (4/12)	100.0 (7/7)
	T0	45.9 (17/37)	25.0 (2/8)	8.3 (1/12)	-	70.0 (7/10)	100.0 (7/7)
	T1	40.0 (22/55)	71.4 (5/7)	7.1 (1/14)	0 (0/13)	64.3 (9/14)	100.0 (7/7)
CHERATOPLASTICA	TD	0 (0/51)	0 (0/6)	0 (0/11)	0 (0/13)	0 (0/12)	0 (0/7)
	T0	2.7 (1/37)	0 (0/8)	0 (0/12)	-	10.0 (1/10)	0 (0/7)
	T1	7.1 (4/56)	28.6 (2/7)	6.7 (1/15)	0 (0/13)	7.1 (1/14)	0 (0/7)

È stata applicata l'analisi statistica di McNemar per evidenziare la presenza di cambiamenti significativi. Nel campione generale è stato riscontrato un cambiamento significativo per l'ipovisione tra i tempi T0 e T1 ($p=.039$) e per l'opacità corneale tra TD e T1 ($p=.039$). Nelle specifiche forme di MPS non si evidenziano cambiamenti statisticamente significativi.

Il grado di severità dell'ipovisione e dell'opacità corneale sono state analizzate applicando il t test.

Per l'ipovisione, nel campione globale emerge una differenza statisticamente significativa tra il T0 e T1 [$t(32) = -2.53$, $p = .017$]; al T1 i soggetti presentano punteggi medi significativamente superiori. Tra il TD e T1 vi è una differenza statisticamente significativa [$t(46) = -2.70$, $p = .010$] al T1 i soggetti presentano punteggi medi significativamente superiori. Per l'opacità corneale, nel campione globale emerge un punteggio superiore in T0 rispetto a TD [$t(32) = -2.39$, $p = .023$]; in T1 rispetto a T0 [$t(33) = -2.73$, $p = .010$]; in T1 rispetto a TD [$t(47) = -4.07$, $p = .000$].

E' stato successivamente applicato il test di Wilcoxon per verificare se vi fossero differenze statisticamente significative rispetto alle variabili considerate all'interno dei vari tipi di MPS. Si è evidenziata solo nei pazienti con MPS VI una differenza statisticamente significativa rispetto all'opacità corneale tra T0 e T1

($Z = -2.24$, $p = .025$) e tra TD e T1 ($Z = -2.65$, $p = .008$). Più nello specifico si osserva come nei due intervalli di tempo considerati vi sia un aumento significativo del grado di severità.

4.1.6. Caratteristiche otorinolaringoiatriche

Si evidenzia una riduzione delle **infezioni ricorrenti**, nel campione globale, dal tempo della diagnosi al T1; i soggetti con MPS II presentano la frequenza più elevata (90%). **L'ipertrofia adeno-tonsillare** alla diagnosi è presente nel 70% dei pazienti MPSII e 75% dei soggetti con MPS VI. Si osserva che in tutte le forme di MPS, ad eccezione della MPS III, vi è un aumento della frequenza dei soggetti con **ipoacusia** al T1.

Nella Tabella 8 sono riportate le problematiche otorinolaringoiatriche, suddivise per campione globale e nei sottotipi di MPS.

Tabella 8: Caratteristiche otorinolaringoiatriche

CARATTERISTICHE ORL		TIPO MPS					
		MPS	MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI
% (n. AFFETTI / CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
INFEZIONI RICORRENTI	TD	72,3 (34/47)	42,9 (3/7)	90,0 (9/10)	84,6 (11/13)	50,0 (5/10)	85,7 (6/7)
	T0	65,7 (23/35)	28,6 (2/7)	91,7 (11/12)	-	55,6 (5/9)	71,4 (5/7)
	T1	40,7 (22/54)	28,6 (2/7)	42,9 (6/14)	46,2 (6/13)	30,8 (4/13)	57,1 (4/7)
IPERTROFIA ADENO- TONSILLARE	TD	59,5 (25/42)	20,0 (1/5)	70,0 (7/10)	69,2 (9/13)	50,0 (5/10)	75,0 (3/4)
	T0	48,4 (15/31)	0 (0/5)	66,7 (8/12)	-	44,4 (4/9)	60,0 (3/5)
	T1	22,2 (12/54)	14,3 (1/7)	21,4 (3/14)	15,4 (2/13)	38,5 (5/13)	14,3 (1/7)
IPOACUSIA	TD	51,1 (23/45)	42,9 (3/7)	70,0 (7/10)	69,2 (9/13)	33,3 (3/9)	16,7 (1/6)
	T0	51,5 (17/33)	33,3 (2/6)	75,0 (9/12)	-	37,5 (3/8)	42,9 (3/7)
	T1	57,4 (31/54)	57,1 (4/7)	85,7 (12/14)	38,5 (5/13)	46,2 (6/13)	57,1 (4/7)
PROTESI ACUSTICA	TD	4,9 (2/41)	0 (0/5)	20,0 (2/10)	0 (0/13)	0 (0/7)	0 (0/6)
	T0	18,2 (4/22)	0 (0/2)	33,3 (3/9)	-	16,7 (1/6)	0 (0/5)
	T1	17,9 (7/39)	0 (0/4)	55,5 (5/9)	0 (0/13)	12,5 (1/8)	20,0 (1/5)
ADENO- TONSILLECTOMIA	TD	22,2 (10/45)	20,0 (1/5)	10,0 (1/10)	46,2 (6/13)	10,0 (1/10)	14,3 (1/7)
	T0	15,6 (5/32)	0 (0/5)	33,3 (4/12)	-	12,5 (1/8)	0 (0/7)
	T1	30,2 (16/53)	0 (0/6)	50,0 (7/14)	30,8 (4/13)	15,4 (2/13)	42,9 (3/7)

Al test di McNemar emergono cambiamenti statisticamente significativi nel campione globale e nei soggetti con MPS II tra TO-T1 per le variabili ipertrofia tonsillare e infezioni ricorrenti. Nella Tabella 9 e nella Tabella 10 di contingenza sono indicati i risultati del test.

Tabella 9: Tabella di contingenza Infezioni ricorrenti

INFEZIONI RICORRENTI		Test di McNemar				p-value
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N	
MPS	TD-T0	20	3	0	9	>.05
	T0-T1	11	10	2	10	0.039
	TD-T1	16	17	2	11	0.001
MPS I	TD-T0	2	1	0	4	>.05
	T0-T1	1	0	1	4	>.05
	TD-T1	1	1	1	3	>.05
MPS II	TD-T0	9	0	0	1	>.05
	T0-T1	4	6	0	1	0.031
	TD-T1	4	5	0	1	>.05
MPS III	TD-T1	6	5	0	2	>.05
MPS IV	TD-T0	4	1	0	3	>.05
	T0-T1	3	2	0	4	>.05
	TD-T1	2	3	0	5	>.05
MPS VI	TD-T0	5	1	0	1	>.05
	T0-T1	3	2	1	1	>.05
	TD-T1	3	3	1	0	>.05

Tabella 10: Tabella di contingenza Ipertrofia adeno-tonsillare

IPERTROFIA ADENO-TONSILLARE						Test di McNemar
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N	p-value
MPS	TD-T0	12	4	1	10	>.05
	T0-T1	6	8	0	16	0.008
	TD-T1	7	18	0	17	0.000
MPS I	TD-T0	1	1	1	4	>.05
	T0-T1	0	0	0	5	>.05
	TD-T1	1	1	4	4	>.05
MPS II	TD-T0	6	1	1	2	>.05
	T0-T1	1	6	0	4	0.031
	TD-T1	1	6	0	3	0.031
MPS III	TD-T1	2	7	0	4	0.016
MPS IV	TD-T0	4	1	0	3	>.05
	T0-T1	4	0	0	5	>.05
	TD-T1	4	1	0	5	>.05
MPS VI	TD-T0	2	1	0	1	>.05
	T0-T1	1	2	0	2	>.05
	TD-T1	0	3	0	1	>.05

4.1.7. Valvulopatie

Nelle Figura 4, Figura 5, Figura 6, Figura 7 e Figura 8 che seguono, sono riportati i risultati delle analisi descrittive rispetto alle frequenze dei soggetti con insufficienza valvolare. Si osserva nell'MPS tipo I, II e VI una maggiore frequenza dei soggetti con insufficienza aortica e mitralica, con aumento della frequenza in T1 per il coinvolgimento della mitralica nell'MPS I e dell'aortica nell'MPS II. Nell'MPS VI si rileva un aumento di frequenza in T1 per entrambe le valvole, maggiormente evidente per la mitralica; si segnala inoltre un coinvolgimento della tricuspide maggiore rispetto alle altre MPS. Nell'MPS III e IV vi è una complessiva minore frequenza di soggetti con insufficienza aortica e mitralica rispetto alle forme precedentemente descritte; il coinvolgimento della valvola tricuspide interessa principalmente i pazienti con MPS IV.

Figura 4: Insufficienze valvolari MPS I

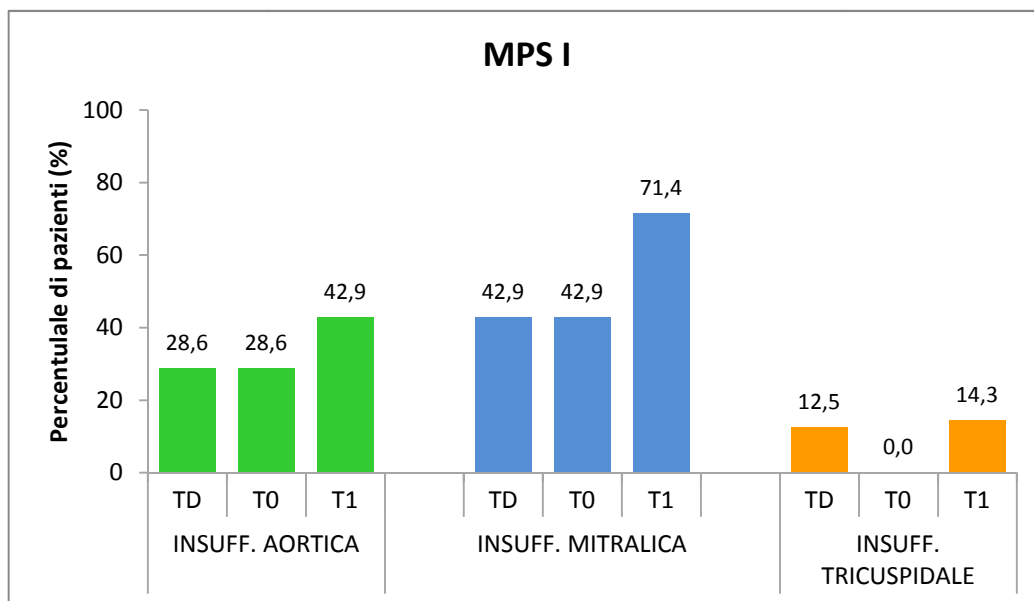


Figura 5: Insufficienze valvolari MPS II

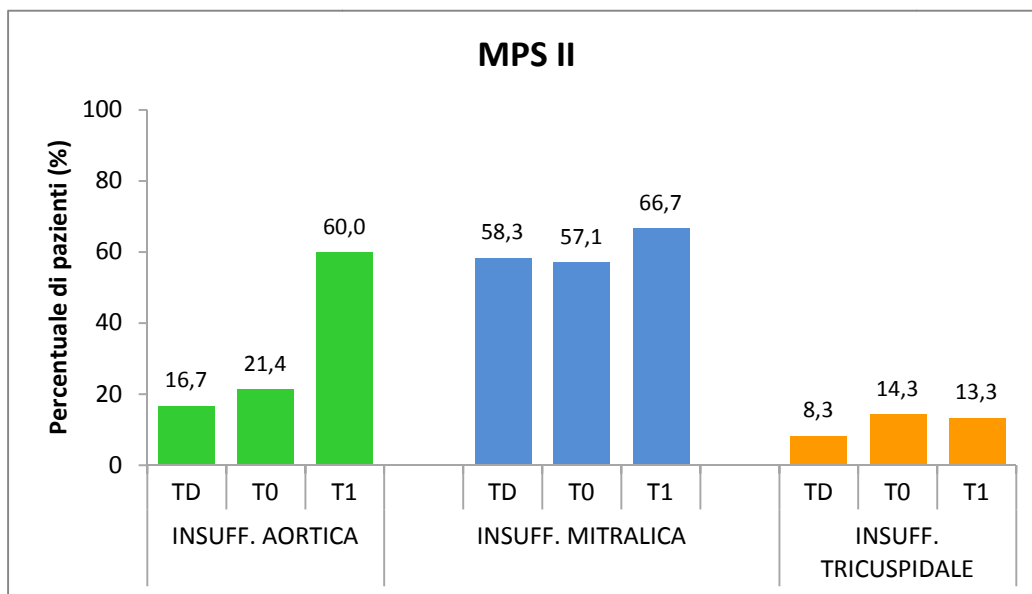


Figura 6: Insufficienze valvolari MPS III

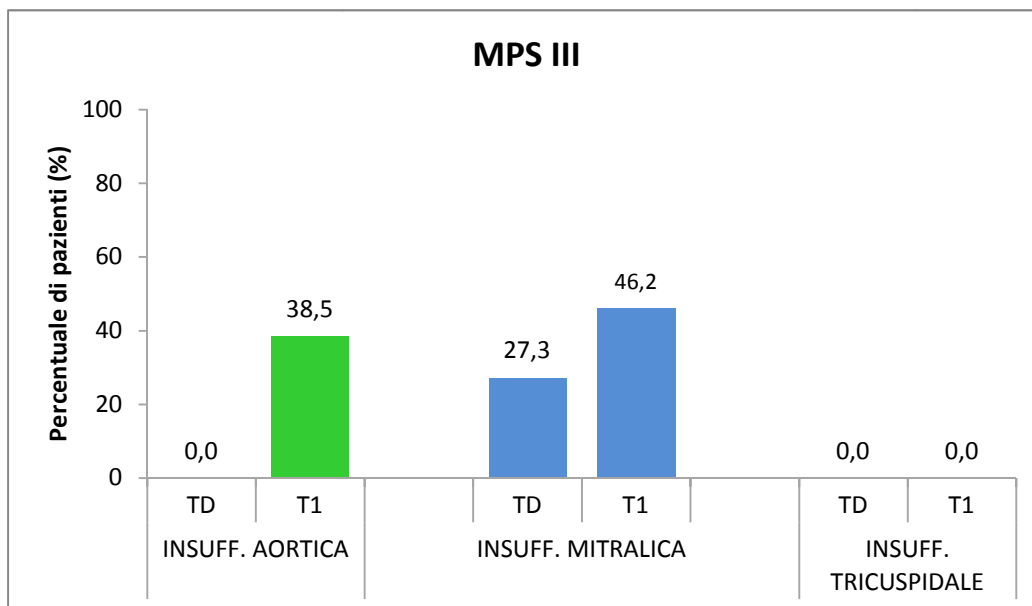


Figura 7: Insufficienze valvolari MPS IV

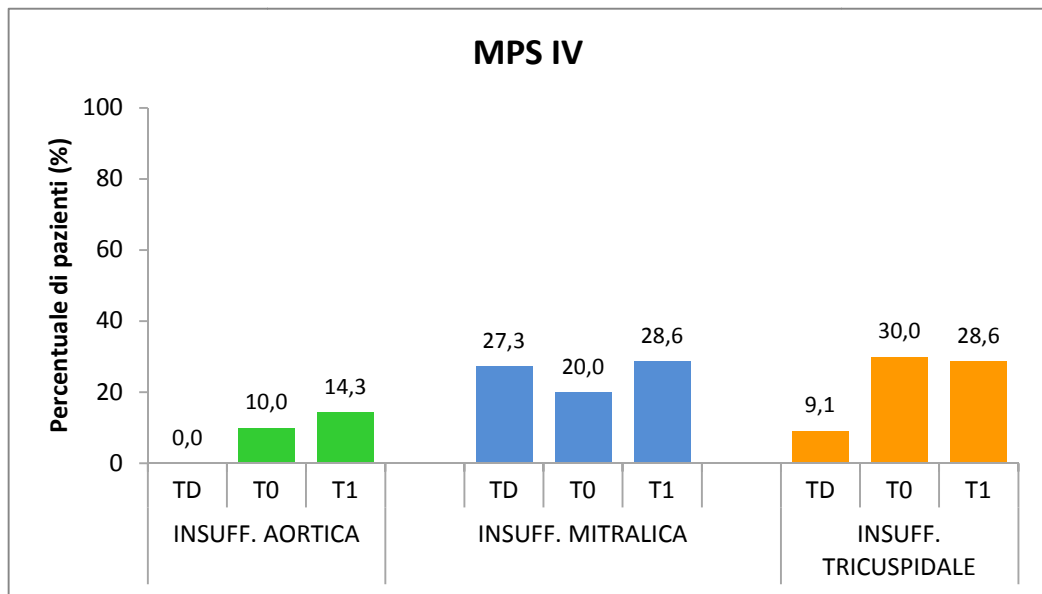
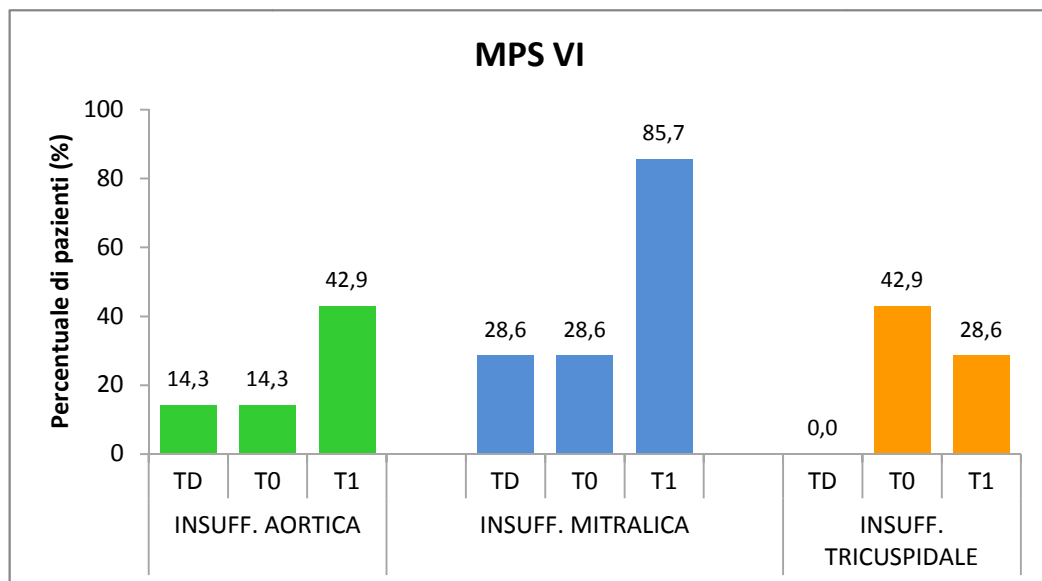


Figura 8: Insufficienze valvolari MPS VI



È stata applicata l'analisi statistica di McNemar per evidenziare la presenza di cambiamenti significativi. Nel campione generale è stato riscontrato un cambiamento significativo per l'insufficienza aortica tra i tempi T0 e T1 ($p=0.008$), nello specifico si osserva come nel 22.2% ($N=8$) dei soggetti sia emersa la presenza di valvulopatia tra i due tempi considerati, mentre nel restante 77.8% ($N=28$) si sono osservate condizioni di stabilità rispetto alla presenza o all'assenza

di valvulopatia; lo stesso cambiamento significativo si è osservato tra i tempi TD-T1 ($p=.002$), 10 soggetti (20.8%) hanno sviluppato l'insufficienza aortica.

I **gradi di severità delle insufficienze valvolari** sono state analizzate applicando il t test nel campione globale, emerge una differenza statisticamente significativa tra il TD e T1 per l'insufficienza aortica [$t(47) = -3.71, p = .001$] e mitralica [$t(45) = -2.30, p = .027$] al T1 i soggetti presentano punteggi medi significativamente superiori.

E' stato successivamente applicato il test di Wilcoxon per verificare se vi fossero differenze statisticamente significative rispetto alle variabili considerate all'interno dei vari tipi di MPS. Si è evidenziata solo nei pazienti con MPS II una differenza significativa rispetto all'insufficienza aortica tra T0 e T1 ($Z = -2.24, p = .025$) e tra TD e T1 ($Z = -2.00, p = .046$). Più nello specifico si osserva come nei due intervalli di tempo considerati vi sia un aumento significativo del grado di severità.

4.1.8. Epatomegalia e splenomegalia

Nella casistica oggetto di studio, si osserva nel sottotipo MPS I e II una maggiore frequenza di epatomegalia alla diagnosi rispetto alle altre forme; la splenomegalia, in tutti i sottotipi, è meno frequente dell'epatomegalia ad eccezione dell'MPS I dove entrambi i sintomi alla diagnosi presentano la stessa frequenza (71.4 %).

Le analisi descrittive sono riportate nella Tabella 11.

Tabella 11: Organomegalie

ORGANOMEGALIE		MPS	TIPO MPS				
			MPS I	MPS II	MPS III	MPS IV	MPS VI
% (n. POSITIVI/ CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
EPATOMEGALIA	TD	59.2 (29/49)	71.4 (5/7)	72.7 (8/11)	69.2 (9/13)	33.3 (4/12)	50.0 (3/6)
	T0	57.5 (23/40)	71.4 (5/7)	80.0 (12/15)	-	27.3 (3/11)	42.9 (3/7)
	T1	45.6 (26/57)	71.4 (5/7)	43.8 (7/16)	61.5 (8/13)	42.9 (6/14)	42.9 (3/7)
SPLENOMEGALIA	TD	32.6 (16/49)	71.4 (5/7)	27.3 (3/11)	38.5 (5/13)	16.7 (2/12)	16.7 (1/6)
	T0	42.5 (17/40)	71.4 (5/7)	46.7 (7/15)	-	10.0 (1/10)	57.1 (4/7)
	T1	24.6 (14/57)	14.3 (1/7)	25.0 (4/16)	46.2 (6/13)	7.1 (1/14)	28.6 (2/7)

Tabella 12:Tabella di contingenza Epatomegalia

EPATOMEGALIA						Test di McNemar	evoluzione positiva	
						p-value	proporzione	CI (95%)
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N			
MPS	TD-T0	15	3	2	13	>.05	0.48	(0.325 - 0.648)
	T0-T1	12	10	4	13	>.05	0.59	(0.434 - 0.729)
	TD-T1	14	14	7	13	>.05	0.56	(0.423 - 0.693)
MPS I	TD-T0	4	0	0	2	>.05	0.33	(0.097 - 0.7)
	T0-T1	0	4	2	0	>.05	0.67	(0.3 - 0.903)
	TD-T1	0	4	2	0	>.05	0.67	(0.3 - 0.903)
MPS II	TD-T0	8	0	0	3	>.05	0.27	(0.097 - 0.566)
	T0-T1	6	6	0	3	.031	0.60	(0.357 - 0.802)
	TD-T1	4	4	0	3	>.05	0.64	(0.354 - 0.848)
MPS III	TD-T1	6	3	2	2	>.05	0.38	(0.177 - 0.645)
MPS IV	TD-T0	2	1	1	6	>.05	0.70	(0.397 - 0.892)
	T0-T1	3	0	2	6	>.05	0.55	(0.28 - 0.787)
	TD-T1	3	1	2	6	>.05	0.58	(0.32 - 0.807)
MPS VI	TD-T0	1	2	1	2	>.05	0.67	(0.3 - 0.903)
	T0-T1	3	0	0	4	>.05	0.57	(0.25 - 0.842)
	TD-T1	1	2	1	2	>.05	0.67	(0.3 - 0.903)

Tabella 13: Tabella di contingenza Splenomegalia

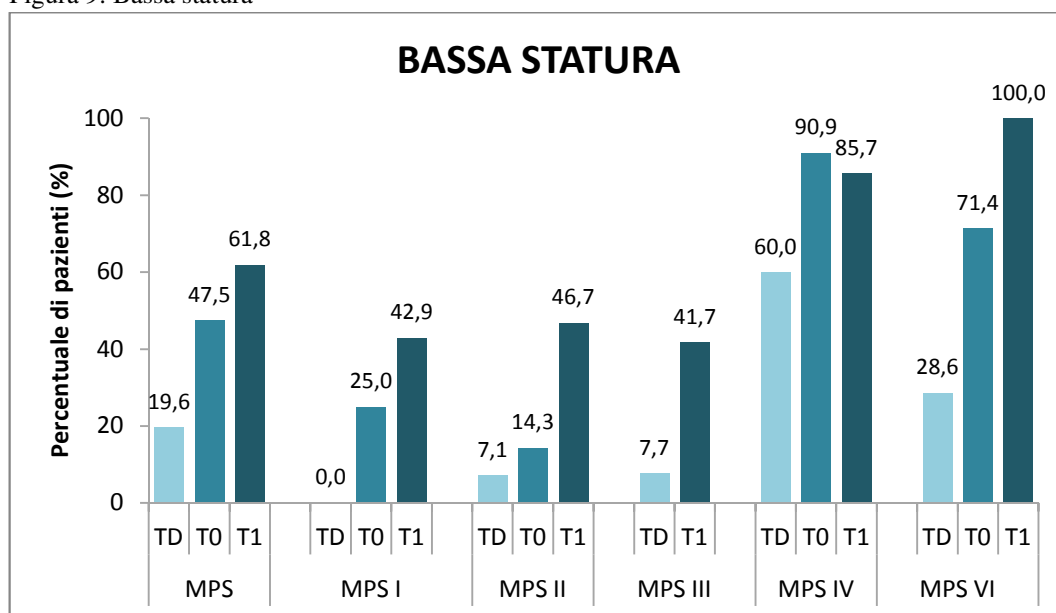
SPLENOMEGALIA						Test di McNemar	evoluzione positiva	
						p-value	proporzione	CI (95%)
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N			
MPS	TD-T0	9	0	2	22	.05	0.67	(0.496 - 0.802)
	T0-T1	6	10	2	21	.039	0.79	(0.645 - 0.892)
	TD-TI	5	10	6	27	>.05	0.77	(0.635 - 0.867)
MPS I	TD-T0	4	0	0	2	>.05	0.33	(0.097 - 0.7)
	T0-T1	0	4	1	1	>.05	0.83	(0.436 - 0.97)
	TD-T1	0	4	1	1	>.05	0.83	(0.436 - 0.97)
MPS II	TD-T0	3	0	0	8	>.05	0.73	(0.434 - 0.903)
	T0-T1	4	3	0	8	>.05	0.73	(0.48 - 0.891)
	TD-T1	1	2	0	8	>.05	0.91	(0.623 - 0.984)
MPS III	TD-T1	2	3	4	4	>.05	0.54	(0.291 - 0.768)
MPS IV	TD-T0	1	0	0	9	>.05	0.90	(0.596 - 0.982)
	T0-T1	1	0	0	10	>.05	0.91	(0.623 - 0.984)
	TD-T1	1	1	0	10	>.05	0.92	(0.646 - 0.985)
MPS VI	TD-T0	1	0	2	3	>.05	0.50	(0.188 - 0.812)
	T0-T1	1	3	1	2	>.05	0.71	(0.359 - 0.918)
	TD-T1	1	0	1	4	>.05	0.67	(0.3 - 0.903)

E' stato applicato il test di McNemar per valutare se vi fossero cambiamenti significativi all'interno del gruppo generale e nei diversi tipi di MPS di soggetti rispetto alla presenza di epatomegalia e splenomegalia (Tabella 12 e Tabella 13). Nel campione generale emergono cambiamenti significativi per la splenomegalia tra gli intervalli di tempo TD-T0 ($p=.05$) e T0-T1 ($p=.039$). Nel sottotipo MPS II, nell'intervallo T0-T1, si evidenzia un cambiamento significativo per la variabile epatomegalia ($p=.031$), nello specifico si osserva come il 40% (N=6) dei soggetti non presenta più il sintomo.

4.1.9. Caratteristiche Muscoloscheletriche

La bassa statura è stata considerata per i valori di lunghezza/altezza inferiori o uguali al terzo percentile, facendo riferimento alle curve di crescita standardizzate per età e genere (Curve standard di crescita -World Health Organization (WHO)). Si riporta nel grafico di Figura 9 le percentuali di frequenza del campione generale e suddivise per tipo di MPS nei diversi tempi. Si osservano, al tempo della diagnosi, ridotte frequenze di bassa statura in tutte le forme di MPS ad eccezione della tipo IV; al T1 si ha un aumento di frequenza in tutte le forme, in particolare tutti i soggetti con MPS VI presentano tale manifestazione clinica.

Figura 9: Bassa statura



Nella Tabella 14 seguente sono indicate le percentuali di frequenza delle manifestazioni muscoloscheletriche; si può osservare come nei soggetti con MPS tipo VI ci sia fin dalla diagnosi un maggiore coinvolgimento a carico di tutti i distretti corporei; nei soggetti con MPS tipo III l'apparato muscolo-scheletrico è molto meno interessato e le manifestazioni compaiono prevalentemente al T1.

Tabella 14: Caratteristiche muscoloscheletriche

CARATTERISTICHE MUSCOLOSCHIELETRICHE		TIPO MPS (n° soggetti)					
		MPS (58)	MPSI (8)	MPSII (16)	MPSIII (13)	MPSIV (14)	MPSVI (7)
% (n. POSITIVI/ CAMPIONE TOTALE VALIDO)							
BASSA STATURA	TD	19.6 (10/51)	0 (0/7)	7.1 (1/14)	7.7 (1/13)	60 (6/10)	28.6 (2/7)
	T0	47.5 (19/40)	25 (2/8)	14.3 (2/14)	-	90.9 (10/11)	71.4 (5/7)
	T1	61.8 (34/55)	42.9 (3/7)	46.7 (7/15)	41.7 (5/12)	85.7 (12/14)	100 (7/7)
RIGIDITA' ARTICOLARE	TD	72 (36/50)	100 (7/7)	81.3 (13/16)	38.5 (5/13)	66.7 (6/9)	100 (5/5)
	T0	91.7 (33/36)	100 (7/7)	87.5 (14/16)	-	85.7 (6/7)	100 (6/6)
	T1	85.7 (48/56)	85.7 (6/7)	93.8 (15/16)	69.2 (9/13)	84.6 (11/13)	100 (7/7)
MANI AD ARTIGLIO	TD	34.6 (18/52)	62.5 (5/8)	46.2 (6/13)	0 (0/13)	8.3 (1/12)	100 (6/6)
	T0	57.5 (23/40)	62.5 (5/8)	57.1 (8/14)	-	27.3 (3/11)	100 (7/7)
	T1	54.5 (30/55)	83.3 (5/6)	93.8 (15/16)	0 (0/13)	23.1 (3/13)	100 (7/7)
TUNNEL CARPALE	TD	0 (0/53)	0 (0/8)	0 (0/13)	0 (0/13)	0 (0/12)	0 (0/7)
	T0	2.6(1/39)	12.5 (1/8)	0 (0/14)	-	0 (0/10)	0 (0/7)
	T1	7.3 (4/55)	33.3 (2/6)	6.3 (1/16)	0 (0/13)	7.7 (1/13)	0 (0/7)
PETTO ESCAVATO	TD	6 (3/50)	0 (0/7)	16.7 (2/12)	7.7 (1/13)	0 (0/12)	0 (0/6)
	T0	5.4 (2/37)	0 (0/7)	15.4 (2/13)	-	0 (0/10)	0 (0/7)
	T1	12.7 (7/55)	14.3 (1/7)	20 (3/15)	15.4 (2/13)	7.7 (1/13)	0 (0/7)
PETTO CARENATO	TD	36 (18/50)	28.6 (2/7)	0 (0/12)	7.7 (1/13)	75 (9/12)	100 (6/6)
	T0	55.3 (21/38)	28.6 (2/7)	15.4 (2/13)	-	90.9 (10/11)	100 (7/7)
	T1	46.3 (25/54)	28.6 (2/7)	26.7 (4/15)	7.7 (1/13)	91.7 (11/12)	100 (7/7)
GIBBO	TD	51 (26/51)	42.9 (3/7)	25 (3/12)	23.1 (3/13)	83.3 (10/12)	100 (7/7)
	T0	61.5 (24/39)	42.9 (3/7)	28.6 (4/14)	-	90.9 (10/11)	100 (7/7)
	T1	53.6 (30/56)	28.6(2/7)	46.7 (7/15)	23.1 (3/13)	85.7 (12/14)	85.7 (6/7)
SCOLIOSI	TD	25.5 (13/51)	0 (0/7)	16.7 (2/12)	30.8 (4/13)	50 (6/12)	14.3 (1/7)
	T0	30.8 (12/39)	0 (0/7)	21.4 (3/14)	-	63.6 (7/11)	28.6 (2/7)
	T1	54.5 (30/55)	14.3(1/7)	60 (9/15)	61.5 (8/13)	69.2 (9/13)	42.9 (3/7)
GINOCCHIA VALGHE	TD	38 (19/50)	14.3(1/7)	25 (3/12)	15.4 (2/13)	75 (9/12)	66.7 (4/6)
	T0	63.2 (24/38)	28.6 (2/7)	46.2 (6/13)	-	90.9 (10/11)	85.7 (6/7)
	T1	69.1 (38/55)	57.1 (4/7)	73.3 (11/15)	61.5 (8/13)	76.9 (10/13)	71.4 (5/7)
RETRAZIONE TENDINE D'ACHILLE	TD	2 (1/51)	14.3 (1/7)	0 (0/12)	0 (0/13)	0 (0/12)	0 (0/7)
	T0	13.9 (5/36)	42.9 (3/7)	15.4 (2/13)	-	0 (0/9)	0 (0/7)
	T1	42.6 (23/54)	42.9 (3/7)	50 (7/14)	69.2 (9/13)	7.7 (1/13)	42.9 (3/7)

E' stato applicato il test di McNemar per valutare se vi fossero cambiamenti significativi all'interno del gruppo generale e nei diversi tipi di MPS rispetto alla presenza delle variabili di interesse. Nel campione generale emergono cambiamenti significativi per la scoliosi tra gli intervalli di tempo T0-T1 (p=.031) e TD-T1 (p=. 001), ginocchia valghe nell'intervallo TD-T1 (p=.002), retrazione del tendine d'Achille nell'intervallo T0-T1 (p=.039) e TD-T1 (p=.000). Nel sottotipo MPS III, nell'intervallo TD-T1, si evidenzia un cambiamento significativo per la variabile ginocchia valghe (p= .031). Tutte le variazioni rappresentano un peggioramento del quadro clinico.

Nella Tabella 15, Tabella 16 e Tabella 17 sono mostrate le tabelle di contingenza per le variabili: scoliosi, ginocchia valghe e retrazione del tendine d'Achille.

Tabella 15: Tabella di contingenza Scoliosi

SCOLIOSI						Test di McNemar
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N	p-value
MPS	TD-T0	8	0	2	26	>.05
	T0-T1	12	0	6	20	.031
	TD-T1	13	0	11	25	.001
MPS I	TD-T0	0	0	0	7	>.05
	T0-T1	0	0	0	6	>.05
	TD-T1	0	0	0	6	>.05
MPS II	TD-T0	2	0	0	10	>.05
	T0-T1	3	0	5	6	>.05
	TD-T1	2	0	4	6	>.05
MPS III	TD-T1	4	0	4	5	>.05
MPS IV	TD-T0	5	0	1	4	>.05
	T0-T1	7	0	0	4	>.05
	TD-T1	6	0	1	4	>.05
MPS VI	TD-T0	1	0	1	5	>.05
	T0-T1	2	0	1	4	>.05
	TD-T1	1	0	2	4	>.05

Tabella 16: Tabella di contingenza Ginocchia valghe

GINOCCHIA VALGHE						Test di McNemar
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N	p-value
MPS	TD-T0	17	0	4	14	>.05
	T0-T1	21	3	6	7	>.05
	TD-T1	17	2	15	14	.002
MPS I	TD-T0	1	0	1	5	>.05
	T0-T1	2	0	2	2	>.05
	TD-T1	1	0	3	2	>.05
MPS II	TD-T0	3	0	2	7	>.05
	T0-T1	5	1	4	3	>.05
	TD-T1	3	0	5	4	>.05
MPS III	TD-T1	2	0	6	5	.031
MPS IV	TD-T0	9	0	0	1	>.05
	T0-T1	9	1	0	1	>.05
	TD-T1	8	1	0	2	>.05
MPS VI	TD-T0	4	0	0	1	>.05
	T0-T1	5	1	0	1	>.05
	TD-T1	1	3	1	1	>.05

Tabella 17: Tabella di contingenza retrazione Tendine d'Achille

RETRAZIONE TENDINE D'ACHILLE						Test di McNemar	evoluzione positiva
		Y-Y	Y-N	N-Y	N-N	p-value	proporzione
MPS	TD-T0	1	0	3	31	>.05	0.89
	T0-T1	4	1	8	21	.039	0.65
	TD-T1	1	0	19	28	.000	0.58
MPS I	TD-T0	1	0	2	4	>.05	0.57
	T0-T1	2	1	1	2	>.05	0.50
	TD-T1	1	0	2	3	>.05	0.50
MPS II	TD-T0	0	0	11	1	>.05	0.08
	T0-T1	2	0	3	7	>.05	0.58
	TD-T1	0	0	4	7	>.05	0.64
MPS III	TD-T1	0	0	9	4	>.05	0.31
MPS IV	TD-T0	0	0	0	9	>.05	1.00
	T0-T1	0	0	1	8	>.05	0.89
	TD-T1	0	0	1	10	>.05	0.91
MPS VI	TD-T0	0	0	0	7	>.05	1.00
	T0-T1	0	0	4	3	>.05	0.43
	TD-T1	0	0	3	4	>.05	0.57

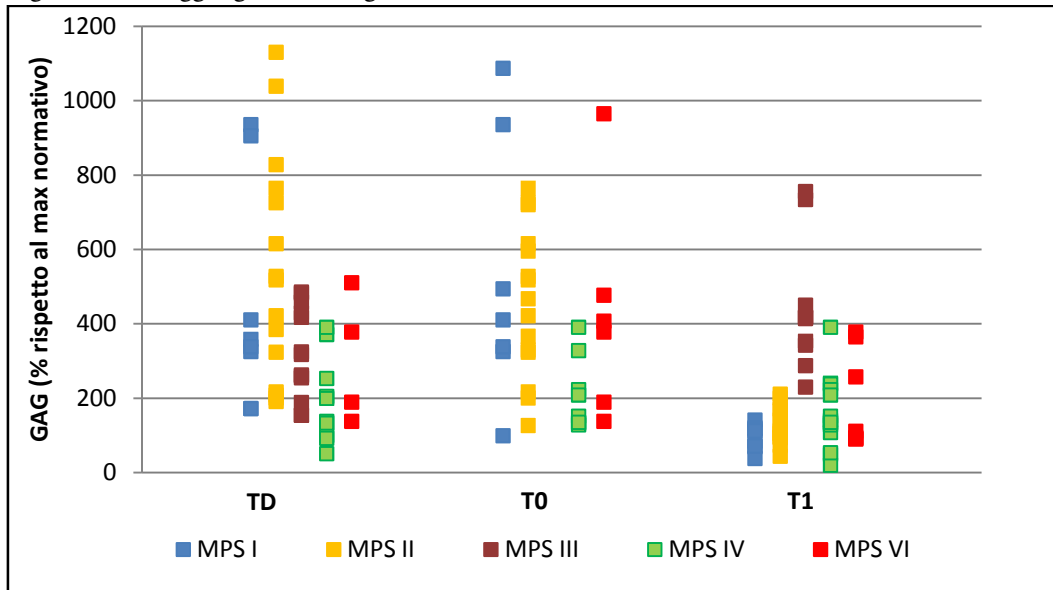
4.1.10. Dati biochimici

4.1.10.1. Glicosaminoglicani quantitativi

La concentrazione dei glicosaminoglicani (GAG) è stata valutata attraverso una percentuale rispetto al massimo normativo del range di riferimento. Questo ci ha permesso di rendere omogeneo il campione, in quanto le misurazioni effettuate nei diversi Centri presentavano unità di misura differenti.

La Figura 10 mostra l'andamento della concentrazione dei GAG nei diversi tempi.

Figura 10: Dosaggio glicosaminoglicani urinari



E' stato applicato il t test per campioni appaiati per verificare se vi fossero differenze statisticamente significative tra la percentuale dei GAG tra TD e T0, T0 e T1 e tra TD e T1 nel campione globale. Dai risultati emerge come vi sia una differenza statisticamente significativa tra T0 e T1 [$t(32) = 5.54, p = .000$] e tra TD e T1 [$t(43) = 3.54, p = .001$]. In entrambi i casi la percentuale dei GAG rilevata al T1 è inferiore rispetto ai valori medi rilevati a TD e T0.

E' stato successivamente applicato il test di Wilcoxon per verificare se vi fossero differenze statisticamente significative tra la percentuale dei GAG tra TD e T0, T0 e T1 e tra TD e T1 all'interno dei vari tipi di MPS. Per quanto riguarda la MPS I dai risultati emerge come vi siano differenze statisticamente significative rispetto alla variabile di interesse tra T0 e T1 ($Z = -2.20, p = .028$) e tra TD e T1 ($Z = -2.52, p = .012$). Nella MPS II dai risultati emerge come vi siano differenze statisticamente significative tra T0 e T1 ($Z = -2.93, p = .003$) e tra TD e T1 ($Z = -2.93, p = .003$). Nella MPS IV dai risultati emerge come vi siano differenze statisticamente significative tra TD e T1 ($Z = -2.07, p = .038$). Nello specifico si osserva come nel T1 vi sia una riduzione significativa della percentuale dei GAG in tutti i sottotipi.

4.1.10.2. Glicosaminoglicani qualitativi

Dalla Figura 11 alla Figura 15 sono riportati i valori medi dei punteggi delle singole specie di GAG. E' stato applicato il test di Wilcoxon per verificare se vi fossero differenze tra i livelli di GAG qualitativi nei diversi tempi all'interno dei vari tipi di MPS, dall'analisi non emergono differenze statisticamente significative.

Figura 11: Glicosaminoglicani qualitativi MPS I

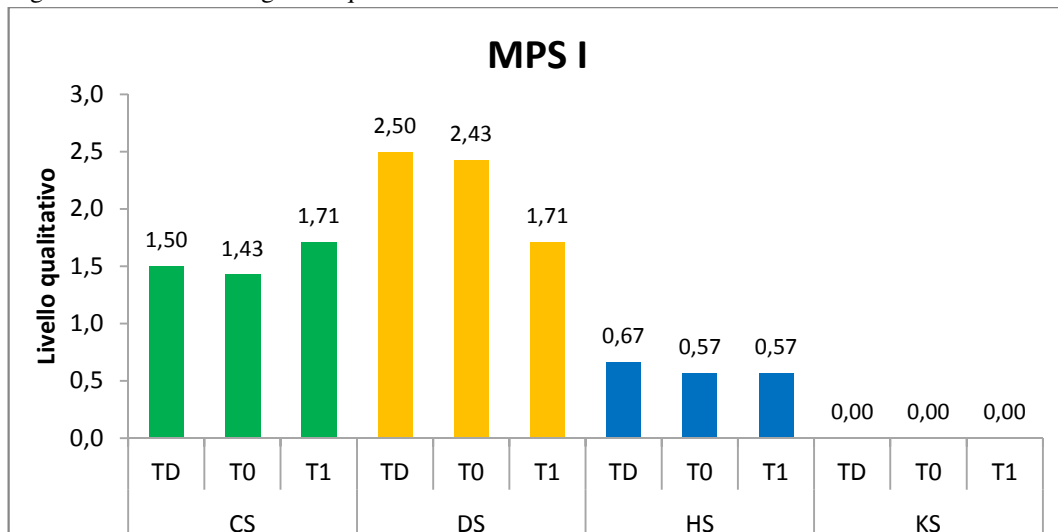


Figura 12: Glicosaminoglicani qualitativi MPSII

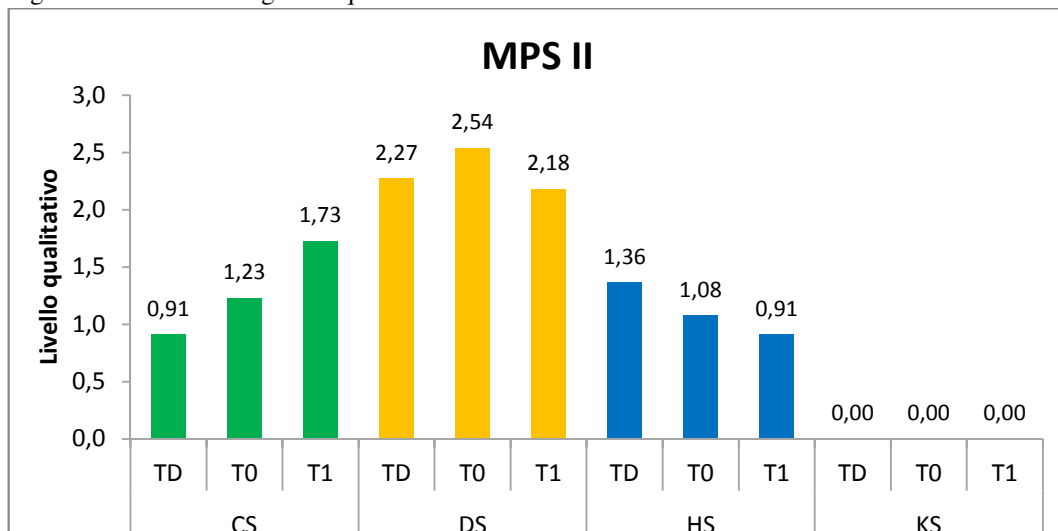


Figura 13: Glicosaminoglicani qualitativi MPS III

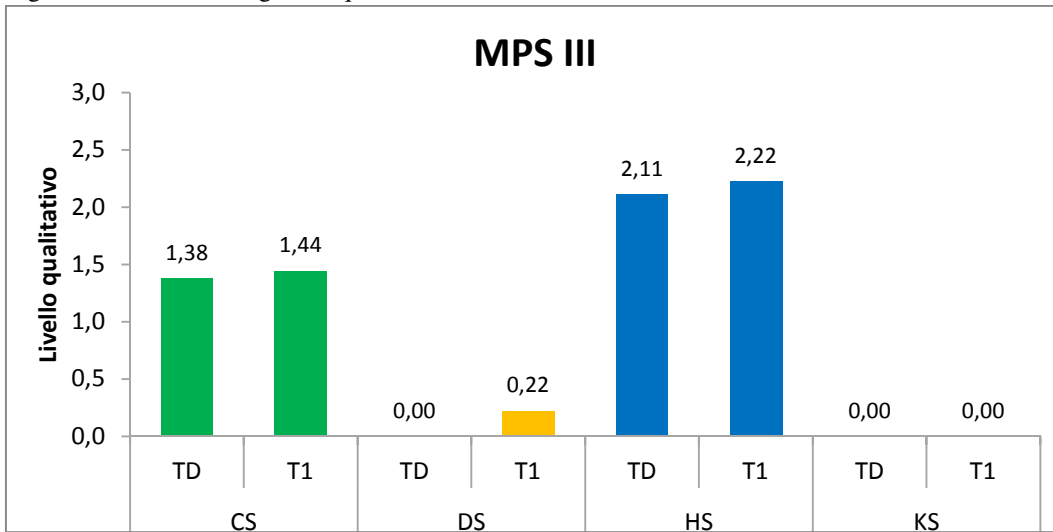


Figura 14: Glicosaminoglicani qualitativi MPS IV

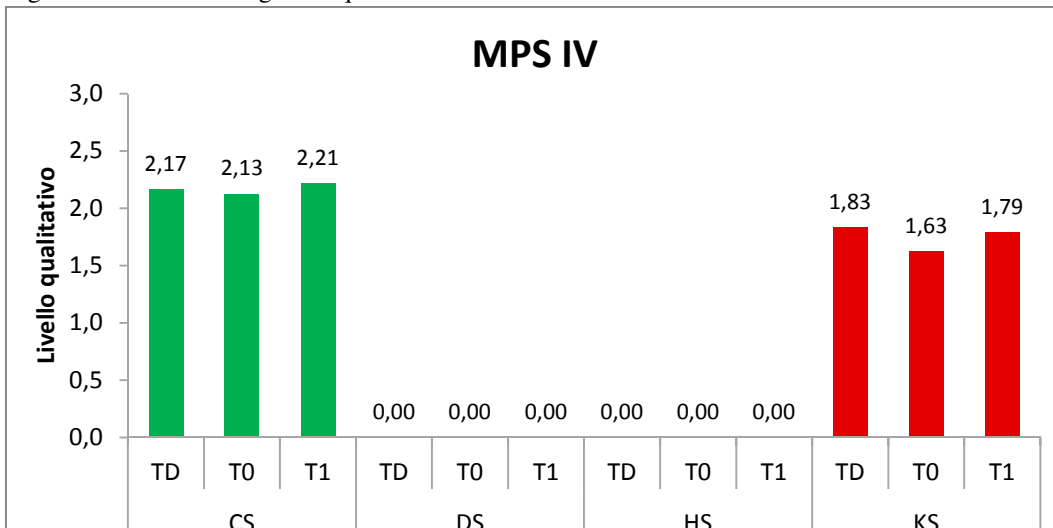
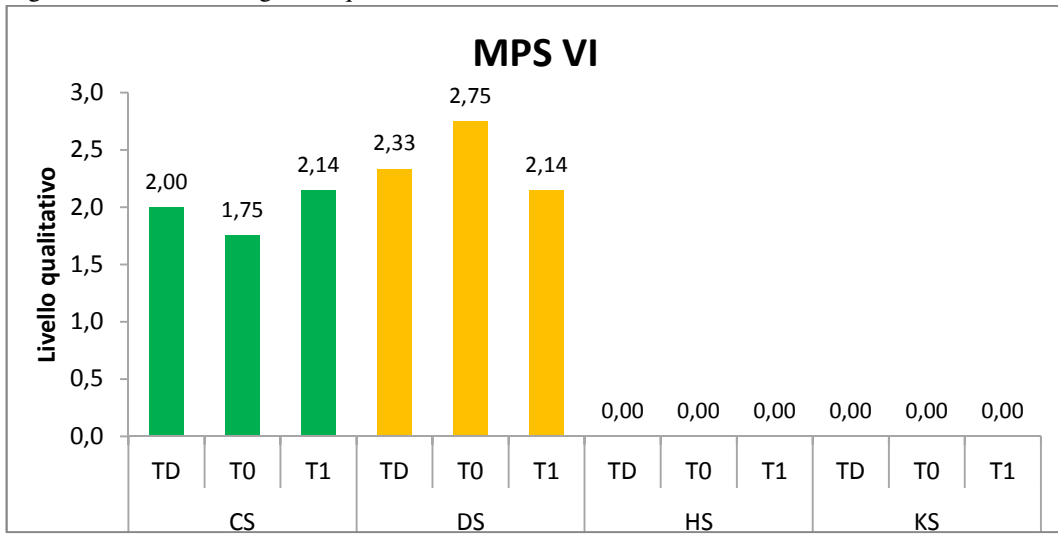


Figura 15: Glicosaminoglicani qualitativi MPS VI



4.1.11. Correlazioni tra i GAG e il coinvolgimento neuropsichiatrico

Al fine di individuare correlazioni tra i GAG e il coinvolgimento neuropsichiatrico è stato utilizzato il coefficiente di correlazione di Pearson (Tabella 18 e Tabella 19). La casistica sulla quale è stata effettuata l'analisi è sul gruppo di pazienti MPS I, II, III, nei quali gli specifici deficit enzimatici determinano un accumulo di eparan solfato.

Dai risultati emerge una correlazione statisticamente significativa tra la percentuale di dosaggio dei GAG e le problematiche cognitive (intese come la presenza di almeno uno tra disturbo del linguaggio e disabilità cognitiva) al T1 ($r = .467$, $p = .009$), al crescere dei GAG cresce la probabilità che il soggetto presenti problematiche cognitive. Si osserva una correlazione positiva anche considerando singolarmente le problematiche cognitive; nello specifico tra la percentuale dei GAG e il disturbo del linguaggio ($r = .501$, $p = .005$), la disabilità intellettiva ($r = .465$, $p = .010$) e il grado di disabilità ($r = .495$, $p = .006$) al T1.

Si evidenzia una correlazione significativa anche tra la percentuale di GAG e l'idrocefalo al TD ($r = .344$, $p = .047$) e tra la percentuale di GAG al TD e l'idrocefalo al T1 ($r = .443$, $p = .010$), quest'ultima correlazione significa che le alte concentrazioni di GAG correlano positivamente con la probabilità di sviluppare idrocefalo al T1.

Si evidenziano correlazioni statisticamente significative tra l'eparan solfato e le problematiche cognitive ($r = .414$, $p = .035$) al T1. Si osserva, come sopra, una correlazione statisticamente significativa anche considerando singolarmente le problematiche cognitive.

Tabella 18: Correlazione tra i GAG (quantitativi/qualitativi) ed il coinvolgimento neurologico

CORRELAZIONE DI PEARSON		VARIABILI BIOCHIMICHE			
		% DOSAGGIO GAG		EPARAN SOLFATO	
		TD	T1	TD	T1
PROBLEMATICHE COGNITIVE	TD	.047	-	.267	-
	T1	.022	.467**	.316	.414*
RITARDO DEL LINGUAGGIO	TD	.061	-	.296	-
	T1	-.060	.501**	.246	.500**
DISABILITA' INTELLETTIVA	TD	.064	-	.167	-
	T1	.077	.465**	.316	.414*
GRADO DI SEVERITA' DELLA DISABILITA' INTELLETTIVA	TD	-.011	-	.278	-
	T1	-.030	.495**	.302	.475*
ANOMALIE EEG	TD	-.005	-	.103	-
	T1	-.164	.220	-.136	.127
IDROCEFALO	TD	.344*	-	-.139	-
	T1	.443**	-.105	-.153	.060
INSTABILITA' CRANIO-CERVICALE	TD	-.257	-	^a	-
	T1	.011	-.348	-.365	-.072

^a Impossibile eseguire il calcolo perché almeno una delle variabili è una costante.

*. La correlazione è significativa al livello 0.05 (2-code).

**.. La correlazione è significativa al livello 0.01 (2-code).

Si evidenzia una correlazione significativa tra la percentuale di GAG quantitativi e le problematiche psichiatriche (intese come la presenza di almeno uno tra disturbo del sonno e disturbo del comportamento) ($r = .495$ $p = .006$) al T1; e tra la percentuale di GAG e il disturbo del sonno ($r = .414$ $p = .025$) al T1.

Si evidenziano correlazioni statisticamente significative tra l'eparan solfato e le problematiche psichiatriche ($r = .460$ $p = .024$) al TD, tra il disturbo del comportamento e l'eparan solfato ($r = .579$ $p = .003$) al TD. Inoltre emerge una correlazione significativa tra il disturbo del sonno e l'eparan solfato al T1 ($r = .494$ $p = .010$).

Tabella 19: Correlazione tra i GAG (quantitativi/qualitativi) ed il coinvolgimento psichiatrico

CORRELAZIONE DI PEARSON		VARIABILI BIOCHIMICHE			
		% DOSAGGIO GAG		EPARAN SOLFATO	
		TD	T1	TD	T1
PROBLEMATICHE PSICHIATRICHE	TD	.025	-	.460*	-
	T1	.151	.495**	.324	.351
DISTURBI DEL SONNO	TD	-.191	-	.361	-
	T1	-.051	.414*	.210	.494*
DISTURBO DEL COMPORAMENTO	TD	.093	-	.579**	-
	T1	.213	.157	.068	.023
ALTRI DISTURBI	TD	. ^a	-	. ^a	-
	T1	0.239	-0.042	-0.206	-0.226

.^a Impossibile eseguire il calcolo perché almeno una delle variabili è una costante.

*. La correlazione è significativa al livello 0.05 (2-code).

** . La correlazione è significativa al livello 0.01 (2-code).

Discussione

L'osservazione dei dati ottenuti dalle analisi statistiche, ha permesso di valutare la storia naturale di queste patologie, e perciò la loro insorgenza e la loro progressione nel tempo, ma anche di valutare gli effetti, sulla storia naturale, delle terapie ad oggi disponibili. Sono state ricercate, nei soggetti con MPS tipo I, II e III, possibili correlazioni tra i glicosaminoglicani urinari quantitativi e alcune variabili specifiche del coinvolgimento neuropsichiatrico che possono manifestarsi in questi soggetti; inoltre sono state indagate possibili correlazioni tra l'eparan solfato, misurato qualitativamente, e gli indicatori di interessamento del SNC. Tali analisi sono state spinte dal confermare quanto viene riportato in letteratura (Bruyère et al, 2015; Coppa et al, 2015) rispetto al ruolo dell'eparan solfato nell'andamento neurodegenerativo che può essere presente nell'MPS I, II e III; inoltre l'analisi è stata condotta al fine di comprendere se vi sia una correlazione tra il livello qualitativo dell'eparan solfato riscontrato alla diagnosi e il decorso del coinvolgimento neurologico.

Questa tesi riporta i risultati dell'analisi effettuata sui 58 pazienti MPS finora disponibili, a 3 diversi tempi di valutazione progressiva. Le età alla diagnosi e nei tempi successivi considerati sono eterogenee in tutto il campione, di queste differenze ne è stato tenuto conto nelle considerazioni fatte sui risultati ottenuti dall'elaborazione statistica.

L'analisi del campione qui valutato ha confermato come i pazienti MPS siano diagnosticati mediamente tra i 2 e i 5 anni. Si osserva come laddove gli aspetti somatici, soprattutto legati ad alterazioni muscoloscheletriche, siano più evidenti la diagnosi sia più precoce; l'età media infatti alla diagnosi negli MPS VI è di 2 anni. Mentre nei soggetti con quadri fenotipici somatici attenuati la diagnosi è molto più tardiva, nel nostro campione l'età media alla diagnosi per i pazienti affetti da MPS III è mediamente dopo i 5 anni di età; questo a fronte, nella maggior parte dei casi, di un severo coinvolgimento neuropsichiatrico. Questo ci induce a ipotizzare che non essendo le manifestazioni neurologiche, considerate singolarmente, malattia specifiche, possano indurre a non porre questa ipotesi

diagnostica in prima istanza. Tuttavia considerando tutto il corteo sintomatologico e valutandone il decorso questo dovrebbe almeno indurne il sospetto. Negli ultimi anni, anche grazie all'avvento di nuovi percorsi di cura, la conoscenza e dunque il sospetto clinico su queste patologie è sicuramente aumentato e ciò indubbiamente aiuta una diagnosi precoce.

Da un punto di vista neurologico, è risultato evidente come, indipendentemente dalle diverse forme di MPS, sia neuronopatiche che non, mediamente la metà dei pazienti presenti macrocefalia alla diagnosi, con punte del 85% nel caso della MPS tipo I.

Nelle forme neuronopatiche, diversi sono i segni e i sintomi che si presentano, in questa sede sono stati in particolare analizzati i disturbi del linguaggio e la disabilità intellettiva. Come era già noto, l'analisi effettuata in questo lavoro di tesi conferma come la disabilità intellettiva non riceva alcun giovamento dalla somministrazione della terapia enzimatica sostitutiva, in particolare per quanto riguarda i pazienti affetti dalla forma severa di MPS II, nei quali si evidenzia un aumento significativo del grado di severità neuro-cognitiva. Come atteso, anche le caratteristiche psichiatriche delle diverse MPS, come i disturbi del sonno e del comportamento, non ricevono beneficio dall'ERT. Gli aspetti evidenziati, nella nostra casistica, della storia naturale dal punto di vista neuropsichiatrico nei soggetti con MPS III, confermano quanto presente in letteratura (Bonanni et al, 2012; Bonanni et al, 2014); in particolare si può osservare come nessun soggetto sviluppi idrocefalo e come l'epilessia sia molto frequente (53.8%) e come tendenzialmente non si presenti nelle prime fasi della malattia. Al contrario i disturbi del comportamento presenti nell'MPS II e III si manifestano precocemente e nelle fasi terminali della malattia (soprattutto per la MPS III) tendono a ridursi a fronte di un importante decadimento neurocognitivo.

Alcune variabili periferiche hanno evidenziato, invece, di trarre giovamento dalla terapia sostitutiva; tuttavia, nella maggior parte dei casi si apprezza solo una tendenza a un miglioramento, mentre un miglioramento statisticamente significativo si è evidenziato solo per l'epatomegalia e i livelli quantitativi di glicosaminoglicani urinari.

Il coinvolgimento oculare è presente in tutta la nostra popolazione, si osserva come nella MPS I e VI l'opacità corneale sia diffusa già nelle fasi più precoci della malattia, determinando quadri severi di ipovisione; come atteso, il trattamento enzimatico sostitutivo non ha indotto alcun miglioramento.

Le infezioni ricorrenti a carico delle alte vie aeree sono frequenti in tutta la casistica alla diagnosi, in particolare nell'MPS II e VI. Si osserva un cambiamento statisticamente significativo con un miglioramento clinico dall'inizio del trattamento enzimatico nel campione globale e nell'MPS II, tuttavia tale evoluzione può essere ascrivibile a un insieme di fattori tra i quali l'intervento di adenotonsillectomia alla quale vanno incontro la maggior parte dei soggetti.

Il coinvolgimento cardiaco si è rilevato essere prevalente a carico delle valvole aortiche e mitraliche con quadri di insufficienza; i cambiamenti statisticamente significativi osservati negli intervalli di tempo indagati, indicano un peggioramento a carico della valvola aortica. Questi risultati confermano quanto viene riportato in letteratura (Brands et al, 2013, Giugliani et al, 2014).

In modo interessante, l'analisi qui effettuata ha messo in evidenza alcune correlazioni significative tra la concentrazione dei GAG quantitativi e il coinvolgimento neuropsichiatrico e tra i livelli urinari di eparan-solfato, identificati tramite saggio qualitativo, e le medesime problematiche. In particolare si sottolinea come si sia evidenziata una forte correlazione tra la concentrazione di eparan solfato e il grado di compromissione cognitiva e ancora tra l'eparan solfato e i disturbi psichiatrici. Tali correlazioni confermano il forte legame tra l'eparan solfato e il SNC e inducono a svolgere ulteriori studi futuri .

In queste patologie, l'identificazione di biomarcatori che aiutassero a comprendere, ancora in fase molto precoce di malattia, quale potrebbe essere la sua progressione, sarebbe di notevole importanza per la gestione del paziente e dei suoi famigliari, e anche per la valutazione di una corretta scelta terapeutica.

È auspicabile che in un prossimo futuro un'analisi critica di molti dati clinici e biochimici ricavati da un'ampia popolazione di pazienti consenta di identificare

altri biomarcatori, utili ad una diagnosi precoce e possibilmente ad una prognosi sulla severità della sua progressione.

Bibliografia

- Aliabadi, H., Reynolds, R., Powers, C.J., Grant, G., Fuchs, H. & Kurtzberg, J. 2010, "Clinical outcome of cerebrospinal fluid shunting for communicating hydrocephalus in mucopolysaccharidoses I, II, and III: a retrospective analysis of 13 patients", *Neurosurgery*, vol. 67, no. 6, pp. 1476-81; discussion 1481-2.
- Andria, G., Cotugno, G., Fecarotta, S., Gabrielli, O., Rossi, M., Scarpa, M., Rovelli, A. & Lucchini, G. , *Raccomandazioni per la diagnosi e la cura della mucopolisaccaridosi di tipo I. AIEOP-SIMMESN 25.10.2010*.
<http://www.aieop.org/web/wp-content/uploads/2017/05/racc.-mucopolisaccaridi-TMO-25.10.2010.pdf>.
- Ashworth, J.L., Biswas, S., Wraith, E. & Lloyd, I.C. 2006, "Mucopolysaccharidoses and the eye", *Survey of ophthalmology*, vol. 51, no. 1, pp. 1-17.
- Bax, M.C. & Colville, G.A. 1995, "Behaviour in mucopolysaccharide disorders", *Archives of Disease in Childhood*, vol. 73, no. 1, pp. 77-81.
- Bellettato, C.M. & Scarpa, M. 2010, "Pathophysiology of neuropathic lysosomal storage disorders", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 33, no. 4, pp. 347-362.
- Bonanni, P., Gubernale, M., Martinez, F., Randazzo, G., Milantoni, L., Martinuzzi, A., Boniver, C., Vecchi, M. & Scarpa, M. 2012, "Non-convulsive status epilepticus of frontal origin in mucopolysaccharidosis type II successfully treated with ethosuximide", *Developmental medicine and child neurology*, vol. 54, no. 10, pp. 961-964.

- Bonanni, P., Volzone, A., Randazzo, G., Antoniazzi, L., Rampazzo, A., Scarpa, M. & Nobili, L. 2014, "Nocturnal frontal lobe epilepsy in mucopolysaccharidosis", *Brain & development*, vol. 36, no. 9, pp. 826-829.
- Brands, M.M., Frohn-Mulder, I.M., Hagemans, M.L., Hop, W.C., Oussoren, E., Helbing, W.A. & van der Ploeg, A.T. 2013, "Mucopolysaccharidosis: cardiologic features and effects of enzyme-replacement therapy in 24 children with MPS I, II and VI", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 36, no. 2, pp. 227-234.
- Braunlin, E.A., Stauffer, N.R., Peters, C.H., Bass, J.L., Berry, J.M., Hopwood, J.J. & Krivit, W. 2003, "Usefulness of bone marrow transplantation in the Hurler syndrome", *The American Journal of Cardiology*, vol. 92, no. 7, pp. 882-886.
- Bruyere, J., Roy, E., Ausseil, J., Lemonnier, T., Teyre, G., Bohl, D., Etienne-Manneville, S., Lortat-Jacob, H., Heard, J.M. & Vitry, S. 2015, "Heparan sulfate saccharides modify focal adhesions: implication in mucopolysaccharidosis neuropathophysiology", *Journal of Molecular Biology*, vol. 427, no. 4, pp. 775-791.
- Burton, B.K., Whiteman, D.A. & HOS Investigators 2011, "Incidence and timing of infusion-related reactions in patients with mucopolysaccharidosis type II (Hunter syndrome) on idursulfase therapy in the real-world setting: a perspective from the Hunter Outcome Survey (HOS)", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 103, no. 2, pp. 113-120.
- Clarke, L.A. 1997, "Clinical diagnosis of lysosomal storage diseases" in *Organelle Diseases. Clinical Features, Diagnosis, Pathogenesis and Management.*, eds. D.A. Applegarth, J.E. Dimmick & J.G. Hall, Chapman and Hall Medical, London, pp. 37.

- Clarke, L.A. & Hollak, C.E. 2015, "The clinical spectrum and pathophysiology of skeletal complications in lysosomal storage disorders", *Best practice & research. Clinical endocrinology & metabolism*, vol. 29, no. 2, pp. 219-235.
- Clarke, L.A., Winchester, B., Giugliani, R., Tylki-Szymanska, A. & Amartino, H. 2012, "Biomarkers for the mucopolysaccharidoses: discovery and clinical utility", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 106, no. 4, pp. 395-402.
- Cleary, M.A. & Wraith, J.E. 1995, "The presenting features of mucopolysaccharidosis type IH (Hurler syndrome)", *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, vol. 84, no. 3, pp. 337-339.
- Cleary, M.A. & Wraith, J.E. 1993, "Management of mucopolysaccharidosis type III", *Archives of Disease in Childhood*, vol. 69, no. 3, pp. 403-406.
- Congedi, S., Di Pede, C., Scarpa, M., Rampazzo, A. & Benini, F. 2017, "The Complexity of Pain Management in Children Affected by Mucopolysaccharidoses", *Case reports in pediatrics*, vol. 2017, pp. 7257230.
- Coppa, G.V., Buzzega, D., Zampini, L., Maccari, F., Santoro, L., Galeotti, F., Galeazzi, T., Gabrielli, O. & Volpi, N. 2012, "Plasmatic and Urinary Glycosaminoglycans Characterization in Mucopolysaccharidosis II Patient Treated with Enzyme-Replacement Therapy with Idursulfase", *JIMD reports*, vol. 4, pp. 79-90.
- Coppa, G.V., Gabrielli, O., Zampini, L., Maccari, F., Mantovani, V., Galeazzi, T., Santoro, L., Padella, L., Marchesiello, R.L., Galeotti, F. & Volpi, N. 2015, "Mental retardation in mucopolysaccharidoses correlates with high molecular weight urinary heparan sulphate derived glucosamine", *Metabolic brain disease*, vol. 30, no. 6, pp. 1343-1348.
- Coppa, G.V., Galeotti, F., Zampini, L., Galeazzi, T., Padella, L., Santoro, L., Maccari, F., Gabrielli, O. & Volpi, N. 2013, "Mild mental retardation and

- low levels of urinary heparan sulfate in a patient with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type IIIA", *Clinical biochemistry*, vol. 46, no. 7-8, pp. 688-690.
- de Ru, M.H., van der Tol, L., van Vlies, N., Bigger, B.W., Hollak, C.E., Ijlst, L., Kulik, W., van Lenthe, H., Saif, M.A., Wagemans, T., van der Wal, W.M., Wanders, R.J. & Wijburg, F.A. 2013, "Plasma and urinary levels of dermatan sulfate and heparan sulfate derived disaccharides after long-term enzyme replacement therapy (ERT) in MPS I: correlation with the timing of ERT and with total urinary excretion of glycosaminoglycans", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 36, no. 2, pp. 247-255.
- de Ruijter, J., Valstar, M.J., Narajczyk, M., Wegrzyn, G., Kulik, W., Ijlst, L., Wagemans, T., van der Wal, W.M. & Wijburg, F.A. 2012, "Genistein in Sanfilippo disease: a randomized controlled crossover trial", *Annals of Neurology*, vol. 71, no. 1, pp. 110-120.
- Escolar, M.L., Jones, S.A., Shapiro, E.G., Horovitz, D.D.G., Lampe, C. & Amartino, H. 2017, "Practical management of behavioral problems in mucopolysaccharidoses disorders", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 35-40.
- Escolar, M.L., Jones, S.A., Shapiro, E.G., Horovitz, D.D.G., Lampe, C. & Amartino, H. 2017, "Practical management of behavioral problems in mucopolysaccharidoses disorders", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 35-40.
- Factor, S.M., Biempica, L. & Goldfischer, S. 1978, "Coronary intimal sclerosis in Morquio's syndrome", *Virchows Archiv.A, Pathological anatomy and histology*, vol. 379, no. 1, pp. 1-10.
- Ferla, R., O'Malley, T., Calcedo, R., O'Donnell, P., Wang, P., Cotugno, G., Claudiani, P., Wilson, J.M., Haskins, M. & Auricchio, A. 2013, "Gene

therapy for mucopolysaccharidosis type VI is effective in cats without pre-existing immunity to AAV8", *Human Gene Therapy*, vol. 24, no. 2, pp. 163-169.

Filocamo, M. & Morrone, A. 2011, "Lysosomal storage disorders: molecular basis and laboratory testing", *Human genomics*, vol. 5, no. 3, pp. 156-169.

Funderburgh, J.L. 2000, "Keratan sulfate: structure, biosynthesis, and function", *Glycobiology*, vol. 10, no. 10, pp. 951-958.

Giugliani, R., Federhen, A., Rojas, M.V., Vieira, T., Artigalás, O., Pinto, L.L., Azevedo, A.C., Acosta, A., Bonfim, C., Lourenço, C.M., Kim, C.A., Horovitz, D., Bonfim, D., Norato, D., Marinho, D., Palhares, D., Santos, E.S., Ribeiro, E., Valadares, E., Guarany, F., de Lucca, G.R., Pimentel, H., de Souza, I.N., Correa, J.S., Fraga, J.C., Goes, J.E., Cabral, J.M., Simionato, J., Llerena, J., Jr, Jardim, L., Giuliani, L., da Silva, L.C., Santos, M.L., Moreira, M.A., Kerstenetzky, M., Ribeiro, M., Ruas, N., Barrios, P., Aranda, P., Honjo, R., Boy, R., Costa, R., Souza, C., Alcantara, F.F., Avilla, S.G., Fagundes, S. & Martins, A.M. 2010, "Mucopolysaccharidosis I, II, and VI: Brief review and guidelines for treatment", *Genetics and molecular biology*, vol. 33, no. 4, pp. 589-604.

Giugliani, R., Lampe, C., Guffon, N., Ketteridge, D., Leao-Teles, E., Wraith, J.E., Jones, S.A., Piscia-Nichols, C., Lin, P., Quartel, A. & Harmatz, P. 2014, "Natural history and galsulfase treatment in mucopolysaccharidosis VI (MPS VI, Maroteaux-Lamy syndrome)--10-year follow-up of patients who previously participated in an MPS VI Survey Study", *American journal of medical genetics. Part A*, vol. 164A, no. 8, pp. 1953-1964.

Grioni, D., Contri, M., Furlan, F., Rigoldi, M., Rovelli, A. & Parini, R. 2010, "Epilepsy in mucopolysaccharidosis: clinical features and outcome." in *Lysosomal Storage Diseases: Early Diagnosis and New Treatments.*, eds. R. Parini & G. Andria, John Libbey Eurotext, Montrouge, pp. 73-80.

- Guerrero, J.M., Pozo, D., Diaz-Rodriguez, J.L., Martinez-Cruz, F. & Vela-Campos, F. 2006, "Impairment of the melatonin rhythm in children with Sanfilippo syndrome", *Journal of pineal research*, vol. 40, no. 2, pp. 192-193.
- Hendriksz, C.J. 2016, "Elosulfase alfa (BMN 110) for the treatment of mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A Syndrome)", *Expert review of clinical pharmacology*, vol. 9, no. 12, pp. 1521-1532.
- Holt, J., Poe, M.D. & Escolar, M.L. 2011, "Early clinical markers of central nervous system involvement in mucopolysaccharidosis type II", *The Journal of pediatrics*, vol. 159, no. 2, pp. 320-6.e2.
- Holt, J.B., Poe, M.D. & Escolar, M.L. 2011, "Natural progression of neurological disease in mucopolysaccharidosis type II", *Pediatrics*, vol. 127, no. 5, pp. e1258-65.
- Isbrandt, D., Arlt, G., Brooks, D.A., Hopwood, J.J., von Figura, K. & Peters, C. 1994, "Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome): six unique arylsulfatase B gene alleles causing variable disease phenotypes", *American Journal of Human Genetics*, vol. 54, no. 3, pp. 454-463.
- Khan, S.A., Peracha, H., Ballhausen, D., Wiesbauer, A., Rohrbach, M., Gautschi, M., Mason, R.W., Giugliani, R., Suzuki, Y., Orii, K.E., Orii, T. & Tomatsu, S. 2017, "Epidemiology of mucopolysaccharidoses", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 121, no. 3, pp. 227-240.
- Kuratsubo, I., Suzuki, Y., Orii, K.O., Kato, T., Orii, T. & Kondo, N. 2009, "Psychological status of patients with mucopolysaccharidosis type II and their parents", *Pediatrics international : official journal of the Japan Pediatric Society*, vol. 51, no. 1, pp. 41-47.

- Leal, G.N., de Paula, A.C., Leone, C. & Kim, C.A. 2010, "Echocardiographic study of paediatric patients with mucopolysaccharidosis", *Cardiology in the young*, vol. 20, no. 3, pp. 254-261.
- Lum, S.H., Stepien, K.M., Ghosh, A., Broomfield, A., Church, H., Mercer, J., Jones, S. & Wynn, R. 2017, "Long term survival and cardiopulmonary outcome in children with Hurler syndrome after haematopoietic stem cell transplantation", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 40, no. 3, pp. 455-460.
- Mahalingam, K., Janani, S., Priya, S., Elango, E.M. & Sundari, R.M. 2004, "Diagnosis of mucopolysaccharidoses: how to avoid false positives and false negatives", *Indian journal of pediatrics*, vol. 71, no. 1, pp. 29-32.
- Manara, R., Priante, E., Grimaldi, M., Santoro, L., Astarita, L., Barone, R., Concolino, D., Di Rocco, M., Donati, M.A., Fecarotta, S., Ficcadenti, A., Fiumara, A., Furlan, F., Giovannini, I., Lilliu, F., Mardari, R., Polonara, G., Procopio, E., Rampazzo, A., Rossi, A., Sanna, G., Parini, R. & Scarpa, M. 2011, "Brain and spine MRI features of Hunter disease: frequency, natural evolution and response to therapy", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 34, no. 3, pp. 763-780.
- McGill, J.J., Inwood, A.C., Coman, D.J., Lipke, M.L., de Lore, D., Swiedler, S.J. & Hopwood, J.J. 2010, "Enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis VI from 8 weeks of age--a sibling control study", *Clinical genetics*, vol. 77, no. 5, pp. 492-498.
- Mechtler, T.P., Stary, S., Metz, T.F., De Jesus, V.R., Greber-Platzer, S., Pollak, A., Herkner, K.R., Streubel, B. & Kasper, D.C. 2012, "Neonatal screening for lysosomal storage disorders: feasibility and incidence from a nationwide study in Austria", *Lancet (London, England)*, vol. 379, no. 9813, pp. 335-341.

- Meikle, P.J., Hopwood, J.J., Clague, A.E. & Carey, W.F. 1999, "Prevalence of lysosomal storage disorders", *JAMA*, vol. 281, no. 3, pp. 249-54.
- Mendes, C.S.C., Rand, M.H., Curiati, M.A., Feleciano, P., Aranda, C.S. & Martins, A.M. 2016, "Epileptic seizures profile in patients with mucopolysaccharidosis (MPS) types I, II and VI. SSIEM 2016 Annual Symposium", *J. Inherit. Metab. Dis.*, vol. 39, pp. S192.
- Mollmann, C., Lampe, C.G., Muller-Forell, W., Scarpa, M., Harmatz, P., Schwarz, M., Beck, M. & Lampe, C. 2013, "Development of a Scoring System to Evaluate the Severity of Craniocervical Spinal Cord Compression in Patients with Mucopolysaccharidosis IVA (Morquio A Syndrome)", *JIMD reports*, vol. 11, pp. 65-72.
- Muenzer, J. 2011, "Overview of the mucopolysaccharidoses", *Rheumatology (Oxford, England)*, vol. 50 Suppl 5, pp. v4-12.
- Muenzer, J., Beck, M., Giugliani, R., Suzuki, Y., Tylki-Szymanska, A., Valayannopoulos, V., Vellodi, A. & Wraith, J.E. 2011, "Idursulfase treatment of Hunter syndrome in children younger than 6 years: results from the Hunter Outcome Survey", *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, vol. 13, no. 2, pp. 102-109.
- Muenzer, J., Giugliani, R., Scarpa, M., Tylki-Szymanska, A., Jegu, V. & Beck, M. 2017, "Clinical outcomes in idursulfase-treated patients with mucopolysaccharidosis type II: 3-year data from the hunter outcome survey (HOS)", *Orphanet journal of rare diseases*, vol. 12, no. 1, pp. 161-017-0712-3.
- Muenzer, J., Wraith, J.E., Clarke, L.A. & International Consensus Panel on Management and Treatment of Mucopolysaccharidosis I 2009, "Mucopolysaccharidosis I: management and treatment guidelines", *Pediatrics*, vol. 123, no. 1, pp. 19-29.

- Neufeld, E.F. & Muenzer, J. 2001, "The mucopolysaccharidoses" in *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, eds. C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, et al, 8th edn, McGraw-Hill, New York (NY), pp. 3421-3452.
- Peters, C., Balthazor, M., Shapiro, E.G., King, R.J., Kollman, C., Hegland, J.D., Henslee-Downey, J., Trigg, M.E., Cowan, M.J., Sanders, J., Bunin, N., Weinstein, H., Lenarsky, C., Falk, P., Harris, R., Bowen, T., Williams, T.E., Grayson, G.H., Warkentin, P., Sender, L., Cool, V.A., Crittenden, M., Packman, S., Kaplan, P., Lockman, L.A., Anderson, J., Krivit, W., Dusenbery, K. & Wagner, J. 1996, "Outcome of unrelated donor bone marrow transplantation in 40 children with Hurler syndrome", *Blood*, vol. 87, no. 11, pp. 4894-4902.
- Pinto, L.L., Vieira, T.A., Giugliani, R. & Schwartz, I.V. 2010, "Expression of the disease on female carriers of X-linked lysosomal disorders: a brief review", *Orphanet journal of rare diseases*, vol. 5, pp. 14-1172-5-14.
- Pitt, C., Lavery, C. & Wager, N. 2009, "Psychosocial outcomes of bone marrow transplant for individuals affected by Mucopolysaccharidosis I Hurler Disease: patient social competency", *Child: care, health and development*, vol. 35, no. 2, pp. 271-280.
- Prasad, V.K. & Kurtzberg, J. 2010, "Transplant outcomes in mucopolysaccharidoses", *Seminars in hematology*, vol. 47, no. 1, pp. 59-69.
- Rapoport, D.M. & Mitchell, J.J. 2017, "Pathophysiology, evaluation, and management of sleep disorders in the mucopolysaccharidoses", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 49-54.
- Rapoport, D.M. & Mitchell, J.J. 2017, "Pathophysiology, evaluation, and management of sleep disorders in the mucopolysaccharidoses", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 49-54.

- Rigante, D., Antuzzi, D., Ricci, R. & Segni, G. 1999, "Cervical myelopathy in mucopolysaccharidosis type IV", *Clinical neuropathology*, vol. 18, no. 2, pp. 84-86.
- Scarpa, M., Almassy, Z., Beck, M., Bodamer, O., Bruce, I.A., De Meirleir, L., Guffon, N., Guillen-Navarro, E., Hensman, P., Jones, S., Kamin, W., Kampmann, C., Lampe, C., Lavery, C.A., Teles, E.L., Link, B., Lund, A.M., Malm, G., Pitz, S., Rothera, M., Stewart, C., Tylki-Szymanska, A., van der Ploeg, A., Walker, R., Zeman, J., Wraith, J.E. & Hunter Syndrome Europea Expert Council 2011, "Mucopolysaccharidosis type II: European recommendations for the diagnosis and multidisciplinary management of a rare disease", *Orphanet journal of rare diseases*, vol. 6, pp. 72-1172-6-72.
- Scarpa, M., Lourenco, C.M. & Amartino, H. 2017, "Epilepsy in mucopolysaccharidosis disorders", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 55-61.
- Scarpa, M., Orchard, P.J., Schulz, A., Dickson, P.I., Haskins, M.E., Escolar, M.L. & Giugliani, R. 2017, "Treatment of brain disease in the mucopolysaccharidoses", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 25-34.
- Schlender, M. & Beck, M. 2009, "Expensive drugs for rare disorders: to treat or not to treat? The case of enzyme replacement therapy for mucopolysaccharidosis VI", *Current medical research and opinion*, vol. 25, no. 5, pp. 1285-1293.
- Schuchman, E.H., Ge, Y., Lai, A., Borisov, Y., Faillace, M., Eliyahu, E., He, X., Iatridis, J., Vlassara, H., Striker, G. & Simonaro, C.M. 2013, "Pentosan polysulfate: a novel therapy for the mucopolysaccharidoses", *PloS one*, vol. 8, no. 1, pp. e54459.

- Schulze-Frenking, G., Jones, S.A., Roberts, J., Beck, M. & Wraith, J.E. 2011, "Effects of enzyme replacement therapy on growth in patients with mucopolysaccharidosis type II", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 34, no. 1, pp. 203-208.
- Scott, H.S., Bunge, S., Gal, A., Clarke, L.A., Morris, C.P. & Hopwood, J.J. 1995, "Molecular genetics of mucopolysaccharidosis type I: diagnostic, clinical, and biological implications", *Human mutation*, vol. 6, no. 4, pp. 288-302.
- Shapiro, E.G., Escolar, M.L., Delaney, K.A. & Mitchell, J.J. 2017a, "Assessments of neurocognitive and behavioral function in the mucopolysaccharidoses", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 8-16.
- Shapiro, E.G., Jones, S.A. & Escolar, M.L. 2017b, "Developmental and behavioral aspects of mucopolysaccharidoses with brain manifestations - Neurological signs and symptoms", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 122S, pp. 1-7.
- Shapiro, E.G., Lockman, L.A., Balthazor, M. & Krivit, W. 1995, "Neuropsychological outcomes of several storage diseases with and without bone marrow transplantation", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 18, no. 4, pp. 413-429.
- Shapiro, E.G., Nestrasil, I., Rudser, K., Delaney, K., Kovac, V., Ahmed, A., Yund, B., Orchard, P.J., Eisengart, J., Niklason, G.R., Raiman, J., Mamak, E., Cowan, M.J., Bailey-Olson, M., Harmatz, P., Shankar, S.P., Cagle, S., Ali, N., Steiner, R.D., Wozniak, J., Lim, K.O. & Whitley, C.B. 2015, "Neurocognition across the spectrum of mucopolysaccharidosis type I: Age, severity, and treatment", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 116, no. 1-2, pp. 61-68.
- Shapiro, E.G., Rudser, K., Ahmed, A., Steiner, R.D., Delaney, K.A., Yund, B., King, K., Kunin-Batson, A., Eisengart, J. & Whitley, C.B. 2016, "A

longitudinal study of emotional adjustment, quality of life and adaptive function in attenuated MPS II", *Molecular genetics and metabolism reports*, vol. 7, pp. 32-39.

Souillet, G., Guffon, N., Maire, I., Pujol, M., Taylor, P., Sevin, F., Bleyzac, N., Mulier, C., Durin, A., Kebaili, K., Galambrun, C., Bertrand, Y., Froissart, R., Dorche, C., Gebuhrer, L., Garin, C., Berard, J. & Guibaud, P. 2003, "Outcome of 27 patients with Hurler's syndrome transplanted from either related or unrelated haematopoietic stem cell sources", *Bone marrow transplantation*, vol. 31, no. 12, pp. 1105-1117.

Staba, S.L., Escolar, M.L., Poe, M., Kim, Y., Martin, P.L., Szabolcs, P., Allison-Thacker, J., Wood, S., Wenger, D.A., Rubinstein, P., Hopwood, J.J., Krivit, W. & Kurtzberg, J. 2004, "Cord-blood transplants from unrelated donors in patients with Hurler's syndrome", *The New England journal of medicine*, vol. 350, no. 19, pp. 1960-1969.

Sukegawa, K., Nakamura, H., Kato, Z., Tomatsu, S., Montano, A.M., Fukao, T., Toietta, G., Tortora, P., Orii, T. & Kondo, N. 2000, "Biochemical and structural analysis of missense mutations in N-acetylgalactosamine-6-sulfate sulfatase causing mucopolysaccharidosis IVA phenotypes", *Human molecular genetics*, vol. 9, no. 9, pp. 1283-1290.

Suppiej, A., Rampazzo, A., Cappellari, A., Traverso, A., Tormene, A.P., Pinello, L. & Scarpa, M. 2013, "The role of visual electrophysiology in mucopolysaccharidoses", *Journal of child neurology*, vol. 28, no. 10, pp. 1203-1209.

Swiedler, S.J., Beck, M., Bajbouj, M., Giugliani, R., Schwartz, I., Harmatz, P., Wraith, J.E., Roberts, J., Ketteridge, D., Hopwood, J.J., Guffon, N., Sa Miranda, M.C., Teles, E.L., Berger, K.I. & Piscià-Nichols, C. 2005, "Threshold effect of urinary glycosaminoglycans and the walk test as indicators of disease progression in a survey of subjects with

- Mucopolysaccharidosis VI (Maroteaux-Lamy syndrome)", *American journal of medical genetics.Part A*, vol. 134A, no. 2, pp. 144-150.
- Terlato, N.J. & Cox, G.F. 2003, "Can mucopolysaccharidosis type I disease severity be predicted based on a patient's genotype? A comprehensive review of the literature", *Genetics in medicine : official journal of the American College of Medical Genetics*, vol. 5, no. 4, pp. 286-294.
- Tomanin, R., Zanetti, A., D'Avanzo, F., Rampazzo, A., Gasparotto, N., Parini, R., Pascarella, A., Concolino, D., Procopio, E., Fiumara, A., Borgo, A., Frigo, A.C. & Scarpa, M. 2014, "Clinical efficacy of enzyme replacement therapy in paediatric Hunter patients, an independent study of 3.5 years", *Orphanet journal of rare diseases*, vol. 9, pp. 129-014-0129-1.
- Tomatsu, S., Montano, A.M., Oguma, T., Dung, V.C., Oikawa, H., Gutierrez, M.L., Yamaguchi, S., Suzuki, Y., Fukushi, M., Barrera, L.A., Kida, K., Kubota, M. & Orii, T. 2010, "Validation of disaccharide compositions derived from dermatan sulfate and heparan sulfate in mucopolysaccharidoses and mucopolipidoses II and III by tandem mass spectrometry", *Molecular genetics and metabolism*, vol. 99, no. 2, pp. 124-131.
- Tuschl, K., Gal, A., Paschke, E., Kircher, S. & Bodamer, O.A. 2005, "Mucopolysaccharidosis type II in females: case report and review of literature", *Pediatric neurology*, vol. 32, no. 4, pp. 270-272.
- Valayannopoulos, V., Nicely, H., Harmatz, P. & Turbeville, S. 2010, "Mucopolysaccharidosis VI", *Orphanet journal of rare diseases*, vol. 5, pp. 5-1172-5-5.
- Valstar, M.J., Neijs, S., Bruggenwirth, H.T., Olmer, R., Ruijter, G.J., Wevers, R.A., van Diggelen, O.P., Poorthuis, B.J., Halley, D.J. & Wijburg, F.A. 2010, "Mucopolysaccharidosis type IIIA: clinical spectrum and genotype-phenotype correlations", *Annals of Neurology*, vol. 68, no. 6, pp. 876-887.

- Valstar, M.J., Ruijter, G.J., van Diggelen, O.P., Poorthuis, B.J. & Wijburg, F.A. 2008, "Sanfilippo syndrome: a mini-review", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 31, no. 2, pp. 240-252.
- Vedolin, L., Schwartz, I.V., Komlos, M., Schuch, A., Puga, A.C., Pinto, L.L., Pires, A.P. & Giugliani, R. 2007, "Correlation of MR imaging and MR spectroscopy findings with cognitive impairment in mucopolysaccharidosis II", *AJNR.American journal of neuroradiology*, vol. 28, no. 6, pp. 1029-1033.
- Vellodi, A., Young, E., New, M., Pot-Mees, C. & Hugh-Jones, K. 1992, "Bone marrow transplantation for Sanfilippo disease type B", *Journal of inherited metabolic disease*, vol. 15, no. 6, pp. 911-918.
- Vijay, S. & Wraith, J.E. 2005, "Clinical presentation and follow-up of patients with the attenuated phenotype of mucopolysaccharidosis type I", *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, vol. 94, no. 7, pp. 872-877.
- Volpi, N., Maccari, F., Galeotti, F., Zampini, L., Santoro, L., Padella, L., Galeazzi, T., Gabrielli, O. & Coppa, G.V. 2013, "Plasmatic dermatan sulfate and chondroitin sulfate determination in mucopolysaccharidoses", *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, vol. 85, pp. 40-45.
- Weisstein, J.S., Delgado, E., Steinbach, L.S., Hart, K. & Packman, S. 2004, "Musculoskeletal manifestations of Hurler syndrome: long-term follow-up after bone marrow transplantation", *Journal of pediatric orthopedics*, vol. 24, no. 1, pp. 97-101.
- Wijburg, F.A., Wegrzyn, G., Burton, B.K. & Tylki-Szymanska, A. 2013, "Mucopolysaccharidosis type III (Sanfilippo syndrome) and misdiagnosis of idiopathic developmental delay, attention deficit/hyperactivity disorder or autism spectrum disorder", *Acta Paediatrica (Oslo, Norway : 1992)*, vol. 102, no. 5, pp. 462-470.

- Wolf, D.A., Banerjee, S., Hackett, P.B., Whitley, C.B., McIvor, R.S. & Low, W.C. 2015, "Gene therapy for neurologic manifestations of mucopolysaccharidoses", *Expert opinion on drug delivery*, vol. 12, no. 2, pp. 283-296.
- Wraith, J.E. 1995, "The mucopolysaccharidoses: a clinical review and guide to management", *Archives of Disease in Childhood*, vol. 72, no. 3, pp. 263-267.
- Wraith, J.E., Beck, M., Lane, R., van der Ploeg, A., Shapiro, E., Xue, Y., Kakkis, E.D. & Guffon, N. 2007, "Enzyme replacement therapy in patients who have mucopolysaccharidosis I and are younger than 5 years: results of a multinational study of recombinant human alpha-L-iduronidase (laronidase)", *Pediatrics*, vol. 120, no. 1, pp. e37-46.
- Young, I.D. & Harper, P.S. 1983, "The natural history of the severe form of Hunter's syndrome: a study based on 52 cases", *Developmental medicine and child neurology*, vol. 25, no. 4, pp. 481-489.