

## **DISTROFIA MIOTONICA TIPO 2 (DM2)**

**Frequenza:** si ritiene vi sia circa 1 caso su 100.000 persone. Purtroppo il valore reale della sua prevalenza è difficile da valutare essendo una malattia scoperta recentemente.

### **Definizione**

E' una malattia genetica, autosomica dominante caratterizzata da una perdita di forza progressiva causata da degenerazione delle cellule muscolari (distrofia) associata ad una rigidità muscolare con difficoltà nel rilasciamento muscolare (miotonia).

La malattia è detta multisistemica per l'interessamento di diversi organi (cuore, apparato digerente, sistema endocrino ecc).

### **Da cosa è causata?**

La distrofia miotonica tipo 2 è causata da una anomalia genetica presente nel gene ZNF9 (zinc finger 9) sul cromosoma 3.

Normalmente in questo gene è presente una sequenza di quattro nucleotidi CCTG (tetrapletta) che si ripete fino a 75 volte.

Nella distrofia miotonica di tipo 2 vi è un aumento del numero di ripetizioni che vanno da 75 a 11.000. Questo comporta una alterazione a cascata di diverse proteine importanti per il corretto funzionamento cellulare

Nella DM2 pare non ci sia una correlazione tra il numero di tetraplette e la severità della malattia.

### **Patogenesi: come l'espansione di tetrapletta causa la malattia.**

La distrofia miotonica è una malattia genetica causata da una alterazione del DNA.

Quando la cellula deve sintetizzare nuove proteine trasferisce l'informazione presente nel DNA in un filamento chiamato RNA messaggero. Questo esce dal nucleo cellulare e viene usato come stampo per la produzione della proteina.

Nella distrofia miotonica si ha una alterazione molto particolare, in quanto si ha un aumento delle tetraplette presenti in una regione del gene ZNF9 sul cromosoma 3.

L'RNA messaggero che si forma nei pazienti con DM2 è quindi un RNA alterato, troppo lungo che non riesce ad uscire dal nucleo e vi forma degli aggregati. Questo RNA anomalo lega alcune proteine coinvolte nello splicing alterandone la funzione (si parla di spliceopatia).

Lo splicing è un meccanismo cellulare importante per la sintesi proteica; una alterazione di questo meccanismo altera diverse proteine presenti in tutto l'organismo.

Per esempio l'alterazione delle proteine che costituiscono il canale del cloro può essere responsabile

della miotonia, quelle del recettore dell'insulina causa l'insensibilità all'insulina.

### **Come si manifesta:**

La gravità delle manifestazioni cliniche è molto variabile da individuo a individuo così come l'interessamento dei diversi organi. Le manifestazioni cliniche di seguito descritte possono essere presenti tutte o solo in parte nei pazienti.

**Muscolo scheletrico:** il coinvolgimento del muscolo è quasi sempre presente e si manifesta con due sintomi principali. La debolezza muscolare e la miotonia.

#### *Debolezza muscolare*

La debolezza di certi muscoli è dovuta alla degenerazione delle fibre muscolari.

I muscoli più frequentemente colpiti nella DM2 sono quelli delle cosce e delle anche con difficoltà a camminare, salire le scale e rialzarsi dalla posizione seduta.

#### *Miotonia*

E' una delle caratteristiche cliniche della malattia. E' causata da un alterato rilasciamento muscolare. Tipicamente dopo una contrazione (per esempio stringere i pugni) il muscolo ha difficoltà a rilassarsi e ritornare allo stato iniziale. Viene riferita dai pazienti come una sensazione di rigidità muscolare (“non riesco ad aprire le mani”) con conseguente difficoltà ad eseguire alcuni gesti come per esempio aprire un barattolo. I muscoli più colpiti nella DM2 sono quelli delle mani e delle cosce (per esempio il paziente riferisce “rigidità alle gambe” quando inizia a fare le scale).

Il freddo peggiora questa rigidità mentre la ripetizione dell'esercizio rende il movimento più fluido (fenomeno del riscaldamento, in inglese “warm up”).

### **Dolore muscolare**

Il dolore muscolare è un sintomo spesso lamentato dai pazienti con DM2 ed è presente indipendentemente dall'esercizio.

### **Cuore**

Il coinvolgimento cardiaco è frequente e può talvolta causare un decesso precoce; è quindi importante che i pazienti siano seguiti regolarmente con una valutazione cardiologica. La gravità del quadro muscolare non è relazionata al rischio cardiaco.

I problemi cardiologici nei pazienti con distrofia miotonica di tipo 2 sono di due tipi.

*Problemi del ritmo cardiaco:* il cuore è dotato di cellule specializzate che generano e trasmettono

l'impulso elettrico a tutte le cellule cardiache permettendo una contrazione regolare del cuore.

Queste cellule specializzate (tessuto di conduzione) possono essere colpite dalla malattia con conseguente alterazione del ritmo cardiaco che può esprimersi in modo diverso, dai cosiddetti blocchi di conduzione fino a quadri molto gravi, anche mortali, come la tachicardia e la fibrillazione ventricolare. Le alterazioni del ritmo cardiaco possono manifestarsi clinicamente come perdite di coscienza (sincope) o palpitazioni (percezione del battito cardiaco da parte del paziente).

*Cardiomiopatia:* le cellule che compongono il cuore possono andare incontro ad una graduale degenerazione che comporta una compromissione della funzione cardiaca fino ad un quadro di vera e propria insufficienza cardiaca in cui il cuore non è più in grado di svolgere a pieno la sua funzione di pompa sanguigna.

Nella distrofia miotonica di tipo 2 le complicanze cardiache sono meno frequenti di quella di tipo 1, ciò nonostante è importante che i pazienti siano seguiti regolarmente con una valutazione cardiologica annuale.

### **Sistema nervoso**

Le alterazioni cognitive e comportamentali se presenti sono molto più leggere di quelle presenti nella distrofia miotonica di tipo 1 ed in genere rilevabili con test neuropsicologici.

### **Respirazione**

I problemi respiratori sono rari nella DM2 e possono essere causati da diversi fattori.

I problemi respiratori possono essere causati da diversi fattori tra cui la debolezza muscolare che può coinvolgere i muscoli respiratori e la compromissione dei centri respiratori. Questi sono particolari aree del sistema nervoso presenti a livello del tronco cerebrale deputate alla regolazione della respirazione. Una loro alterazione può comportare delle apnee notturne con conseguente abbassamento del livello di ossigeno nel sangue durante la notte ed eccessiva sonnolenza notturna.

### **Occhio**

La cataratta, opacizzazione progressiva del cristallino, è frequente nei pazienti con distrofia miotonica di tipo 2 e tipicamente la sua insorgenza è precoce (verso i 40 anni) rispetto alla popolazione generale in cui si sviluppa verso i 65 anni. La diagnosi viene fatta grazie ad una visita oculistica tramite lampada a fessura. Clinicamente si manifesta con una riduzione dell'acuità visiva che compare nelle fasi avanzate mentre inizialmente la cataratta può non dare alcun disturbo e pertanto è importante eseguire in questi pazienti controlli oculistici regolari.

## **Sistema endocrino**

Il sistema endocrino è costituito da diverse ghiandole presenti nel nostro corpo in grado di produrre ormoni importanti per diverse funzioni dell'organismo. Nella distrofia miotonica di tipo 2 una compromissione del sistema endocrino può comportare:

- alterazione del metabolismo degli zuccheri (glucidico) con resistenza all'azione dell'insulina o diabete.
- alterazione della funzione della tiroide.
- alterazione della produzione di ormoni sessuali ( ipogonadismo) con conseguente ridotta fertilità.

## **Evoluzione**

Nella maggior parte dei casi la prognosi di distrofia miotonica di tipo 2 è buona.

L'esordio della malattia avviene in genere nell'età adulta (40-50 anni) e la progressione è lenta con una aspettativa di vita pari a quella della popolazione generale se il paziente viene seguito nel tempo. Il problema principale per il paziente rimane la difficoltà nella marcia.

## **Diagnosi**

La diagnosi di DM2 è molto difficile ed in genere viene effettuata in centri specializzati.

Per la diagnosi è indispensabile in primo luogo una visita neurologica. Una volta che il medico sospetta la distrofia miotonica è importante approfondire la valutazione del paziente tramite diversi esami:

### *L'elettromiografia*

E' un esame che valuta l'attività elettrica del muscolo tramite aghi-elettrodi. Nel caso della distrofia miotonica è in grado di mostrare segni caratteristici: le scariche miotoniche.

### *Test genetico*

Permette la diagnosi di distrofia miotonica di tipo 2.

Il test si esegue da prelievo di sangue, andando ad analizzare il DNA presente all'interno dei globuli bianchi e valutando il grado di espansione della tetrapletta CCTG nel gene ZFN sul cromosoma 3.

Nelle persone con una espansione maggiore di 75 tetraplette si conferma la diagnosi di DM2.

Il test genetico per la DM2 viene eseguito solo in alcuni centri e richiede diversi mesi. Inoltre si è visto che l'espansione delle tetraplette non è stabile e può avere valori diversi nei diversi tessuti ed aumenta con l'età (rendendo difficile l'interpretazione dei risultati).

## *Biopsia muscolare*

La biopsia di muscolo assume un ruolo molto importante nella diagnosi di distrofia miotonica di tipo 2 grazie alla tecnica FISH (vedi sotto).

Le principali alterazioni rilevabili con l'esame istologico standard sono a carico delle fibre muscolari di tipo 2 (le "fibre bianche"). Si possono riscontrare atrofia delle fibre di tipo 2, ammassi nucleari (nuclear clump in inglese) ed un aumento di nuclei in posizione centrale (Fig.1).

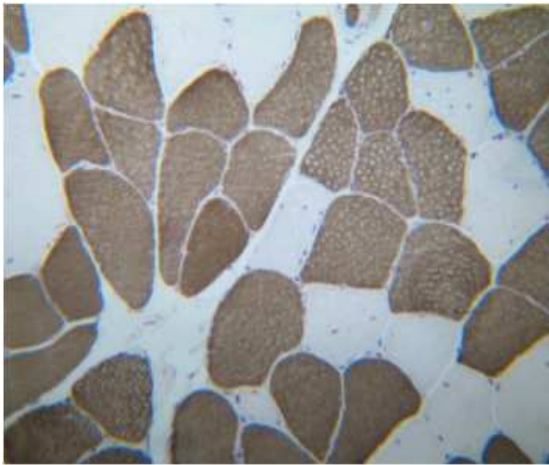


Fig.1: La sezione di muscolo è colorata con la tecnica della ATPasi 4.3 in grado di distinguere le fibre di tipo 1 (scuri) da quelle di tipo 2 (chiari). Le fibre al microscopio appaiono con questa forma poligonale perché le fettine di muscolo vengono tagliate trasversalmente. Il muscolo dell'uomo è formato da un insieme di entrambi i tipi di fibre. Le fibre di tipo 1 sono quelle che un tempo venivano chiamate "fibre rosse" per il colore. Sono fibre che effettuano una contrazione lenta, sostenuta, contengono molti mitocondri e ottengono energia tramite un metabolismo ossidativo. Le fibre di tipo 2, fibre "bianche" si contraggono rapidamente ma tollerano di meno la fatica e gli sforzi sostenuti. Utilizzano un metabolismo prevalentemente anaerobico (non richiede ossigeno), tramite l'utilizzo degli zuccheri (glicolisi). Nella distrofia miotonica di tipo 2 vi è una atrofia delle fibre di tipo 2 che vediamo nella sezione come una riduzione di grandezza delle fibre muscolari.

Recentemente è stata sviluppata una tecnica particolare che permette di valutare la presenza di tetraplette patologiche nelle cellule muscolari prelevate confermando la diagnosi in tempi rapidi. Questa tecnica chiamata FISH (fluorescence in situ hybridization) viene eseguita dalle Dott.sse R. Cardani e L. Renna presso il Laboratorio del Dott. Mancinelli del Dipartimento di scienze biomolecolari e biotecnologie, Università di Milano.

Con il termine ibridizzazione in situ si intende una tecnica in grado di mostrare la presenza e la sede di specifiche sequenze di DNA o RNA in un tessuto. Nel caso della distrofia miotonica di tipo 2 si va a cercare la presenza dei filamenti di RNA anomalo nel nucleo. Per fare questo si usa una sonda, nello specifico un oligonucleotide antisenso (CAGG)<sub>5</sub> marcato con una sostanza fluorescente che lega le ripetizioni di tetrapletta. Le fibre muscolari dei pazienti con DM2, a causa dell'accumulo di

RNA anomalo, presentano delle aree intensamente fluorescenti nel nucleo.

Questa metodica può quindi essere usata per confermare la diagnosi di distrofia miotonica di tipo 2.

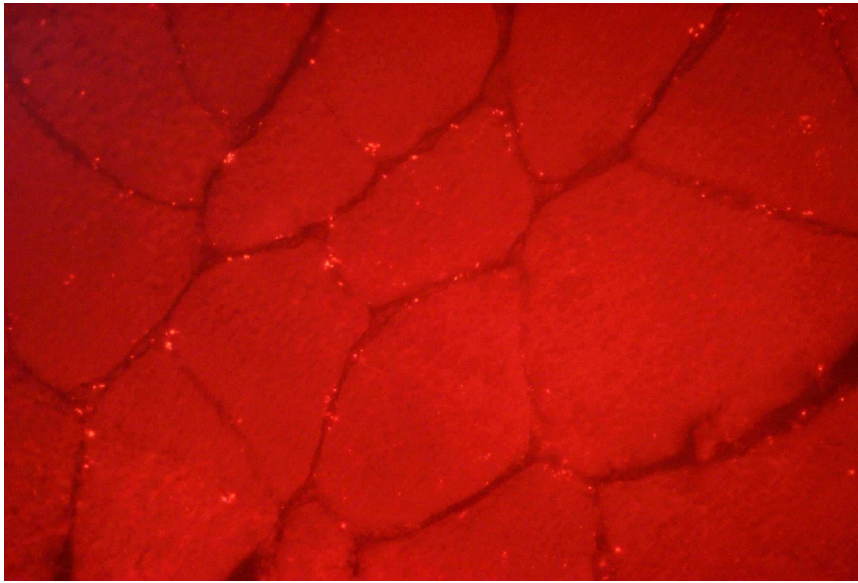


Fig.1 Tecnica FISH; sonda marcata con Texas Red (marcatore fluorescente rosso) nel tessuto muscolare si vedono dei puntini rossi più intensi che rappresentano aree di accumulo di RNA anomalo.

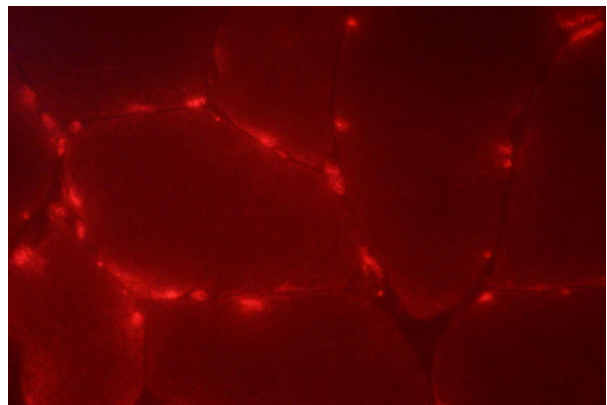
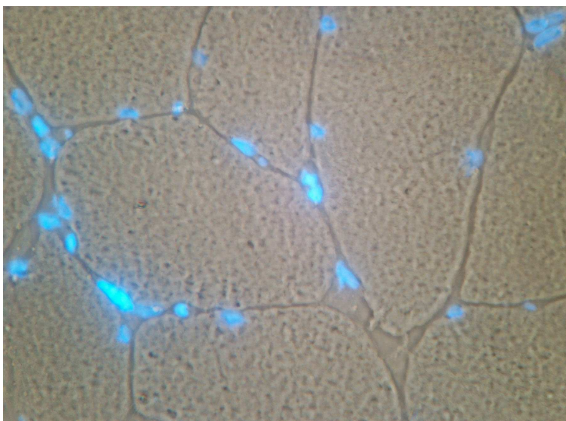


Fig 2. A sinistra è mostrata una sezione di tessuto muscolare marcata con DAPI (4,6-diamidino-2-fenilindole), sostanza fluorescente che lega il DNA. In questo modo i nuclei cellulari vengono colorati in blu.

A destra la sonda (CAGG)<sub>5</sub> marcata con Texas red rileva aree di alterato accumulo di RNA evidenziate come puntini rosso intenso.

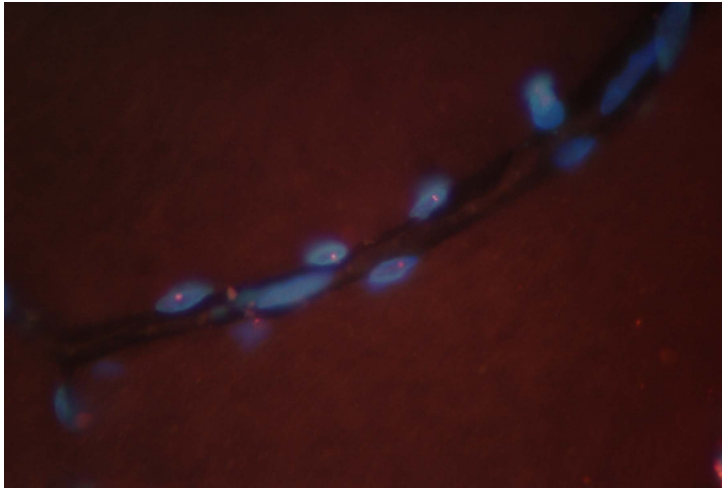


Fig.3 FISH: ingrandimento che mostra la presenza di puntini luminosi rossi (inclusioni di RNA) all'interno dei nuclei (aree blu).

### **Gravidanza e parto**

E' molto importante eseguire una consulenza genetica per valutare il rischio di trasmissione della malattia ai propri figli. In tale sede può essere anche consigliata un eventuale diagnosi prenatale tramite biopsia dei villi coriali o amniocentesi.

### **Gestione del paziente**

Attualmente non esiste una terapia in grado di guarire la malattia. E' molto importante che il paziente venga seguito periodicamente nei diversi aspetti della malattia descritti precedentemente.

#### *Debolezza muscolare*

E' importante che il paziente esegua attività fisica per cercare di preservare la forza muscolare. Allo stesso tempo deve evitare sforzi eccessivi poiché le fibre muscolari sono più fragili e vengono danneggiate più facilmente. Viene quindi consigliata una attività fisica regolare ed equilibrata.

Inoltre il paziente deve cercare di non aumentare di peso per non sovraccaricare la muscolatura.

#### *Miotonia*

Per ridurre la rigidità si utilizza principalmente un farmaco, la mexiletina. La risposta al farmaco varia da paziente a paziente, alcuni riferiscono un netto miglioramento altri no. E' importante che il medico scelga la dose più adatta per il singolo paziente ed effettui una valutazione cardiologica prima di iniziare la terapia.

### *Cuore*

La gestione dell'aspetto cardiologico è molto importante nei pazienti con distrofia miotonica di tipo 2 dato il rischio di sviluppare alterazioni del ritmo cardiaco. Devono essere quindi eseguiti controlli cardiologici annuali con esecuzione di elettrocardiogramma ed elettrocardiogramma Holter. Quest'ultimo esame consiste nella registrazione continuativa dell'attività elettrica del cuore nelle 24 ore tramite elettrodi collegati ad uno strumento portatile e consente di rilevare alterazioni del ritmo che possono sfuggire all'elettrocardiogramma standard.

Se viene riscontrata una alterazione del ritmo si può intervenire con l'impianto di un pace-maker in grado di stimolare elettricamente il cuore per assicurarne una corretta contrazione.

Anche l'ecocardiogramma può risultare utile mostrando le diverse strutture del cuore.

### *Sistema endocrino*

I disturbi endocrini vanno seguiti dallo specialista in endocrinologia che valuterà il trattamento più adatto nel singolo paziente.

**Per leggere gli ultimi aggiornamenti sulla distrofia miotonica andare sulla pagina : “Congressi IDMC” dove vi sono gli ultimi dati emersi nel VII Congresso Internazionale sulle Distrofie Miotoniche (IDMC-7) che si è tenuto dal 9 al 13 Settembre 2009 a Wurzburg in Germania.**