

SINOSSI PROTOCOLLO PREDEX

Il trattamento prenatale con Desametazone è stato introdotto per la prima volta nel 1979 dalla Prof. Maguelone Foret in Francia (David M & Forest MG, *J Pediatr*, 105: 799-803, 1984; Forest MG et al, *J Steroid Biochem Mol Biol*, 45:75-82, 1993) e dal 1986 dalla Prof. Maria New in USA (Speiser PW et al, *JCEM*, 70:838-848, 1990). Gli sperimentatori dimostrarono la possibilità di prevenire la virilizzazione dei genitali dei neonati di sesso femminile affetti da Iperplasia Surrenale Congenita (ISC). Tale prevenzione si basa sulla somministrazione materna di desametazone, un glicocorticoide che attraversa la placenta, da attuare fin dalle prime settimane di gravidanza (dopo la quinta e prima della nona settimana). La soppressione della steroidogenesi fetale porta ad una concomitante riduzione della secrezione di androgeni e al miglioramento della virilizzazione dei genitali delle femmine affette.

Il fine di tale trattamento è mirato alla sola prevenzione della virilizzazione genitale dei feti affetti di sesso femminile. Poiché finora è stato possibile conoscere il sesso del feto e la sua condizione di malattia solo dopo la villo centesi (EG 10-11a settimana) o la amniocentesi (EG 15-16a settimana), 7 feti su 8 (maschi affetti e non affetti, femmine non affette) assumono per un breve periodo di tempo (mediamente 4-6 settimane), un trattamento non necessario.

Dopo le prime dimostrazioni di efficacia di questa pratica nel raggiungere l'obiettivo primario (riduzione della virilizzazione dei genitali in feti di sesso femminile affetti da ISC classica) e l'apparente innocuità sullo sviluppo morfologico del feto, affermata dagli studi che per primi l'avevano attuata (Forest MG et al, *J Steroid Biochem Mol Biol*, 45:75-82, 1993), numerosi Centri di Endocrinologia Pediatrica e Ginecologia nel mondo hanno attuato questo trattamento nelle famiglie a rischio (New et al 2001; M. Mercè Fernandez-Balsells 2010).

Dagli anni '90 anche il Centro di Endocrinologia Pediatrica di Bologna, diretto all'epoca dal Prof. E. Cacciari, ha iniziato il trattamento secondo criteri internazionalmente accettati come routinari ed aderendo, dal 2005 in poi, al protocollo Internazionale Predex (Karolinka Institute, Stockholm) che prevedeva un preciso programma di terapia e follow-up [vedi Booklet e allegati (Balsamo et al. 2006)]. E' necessario, tuttavia, rilevare che all'epoca non è stato richiesto uno specifico parere per l'adozione di questo protocollo al Comitato Etico. A parziale giustificazione di ciò vi è il fatto che la terapia prenatale con successiva diagnosi, era ritenuta una pratica "routinaria" efficace e priva di effetti collaterali significativi a breve termine. L'adozione del protocollo Predex costituiva una razionalizzazione e sistematizzazione soprattutto per quanto atteneva l'aspetto del follow-up dei bambini trattati. In ogni caso per l'adesione al protocollo all'epoca fu fatto firmare un consenso informato ai genitori che si allega per completezza (allegato 2). Si chiede ora di poter continuare il follow up previsto dal protocollo Predex ai pazienti che lo hanno adottato fin dall'inizio, e di estendere a tutti gli altri pazienti già trattati negli anni addietro e che hanno già raggiunto età anche superiori ai 18 anni previsti dal protocollo.

Nel 2007, allorché sono diventati disponibili i primi dati di follow-up a medio termine sui bambini precedentemente trattati, alcune segnalazioni, seppur in numeri limitati di casi, di lievi alterazioni nella memoria a breve termine e nel comportamento dei bambini trattati, anche se per un breve periodo della gravidanza (Hirkowski et al 2007), è stato stabilito che per tale pratica non vi sono ancora sufficienti dimostrazioni di innocuità negli effetti a lungo termine e di un ben definito rapporto rischio/beneficio.

Inoltre, nell'ultima decade, alcune ipotesi riguardanti l'effetto in utero e il contesto ambientale neonatale sullo sviluppo di malattie in età adulta hanno acquisito maggiore consistenza. Aree di interesse, oltre l'impatto che i glucocorticoidi potrebbero avere sullo sviluppo psicosociale potrebbero riguardare il loro effetto sulla funzione renale, la mineralizzazione ossea, la glicoregolazione e lo sviluppo di ipertensione (Miller et al 2012).

Secondo linee guida Internazionali pubblicate recentemente (Speiser et al 2011), pertanto, la terapia prenatale in utero con Desametazone nei pazienti a rischio per ISC classica, è da considerare ancora

sperimentale e dovrebbe essere attuata solo in Centri Specializzati all'interno di Progetti Coordinati a livello internazionale. Tale coordinazione è necessaria per raccogliere un numero quanto più elevato possibile di casi (l'ISC con forma virilizzante classica è una malattia rara che ha una incidenza di circa 1:10,000-1:15.000 neonati vivi/anno) e dare una dimostrazione sufficientemente chiara della sua sicurezza.

In seguito a quanto riportato nel paragrafo precedente, dal 2012 il Centro di Endocrinologia Pediatrica di Bologna ha sospeso il trattamento prenatale con Desametazone, continuando ad attuare solo la diagnosi genetica prenatale mirata al consiglio genetico familiare.

Vi sono indicazioni che il trattamento prenatale con Desametazone potrebbe non essere completamente sicuro per quei bambini che effettivamente non necessitano del trattamento (maschi affetti e non affetti, femmine non affette). Le principali obiezioni che possono essere mosse nei riguardi di questi studi retrospettivi, è quello di avere a disposizione un campione limitato di bambini esaminati.

L'obiettivo generale del progetto, promosso dagli stessi ricercatori che hanno riportato i primi risultati su possibili problemi cognitivi nei bambini trattati (Hirvikowski et al 2007, 2008), è quello di raccogliere il maggior numero di dati possibili rispetto al limitato campione originale basato solo su pazienti trattati in Svezia.

Nel Centro di Endocrinologia Pediatrica di Bologna esiste un numero relativamente consistente di bambini trattati in età prenatale dal 1990 fino al 2012. I dati di questi bambini sono stati solo parzialmente registrati in accordo al protocollo Predex partito nel 2006. La proposta di studio specifica che riguarda il Centro di Bologna è quella di destinare un finanziamento ad hoc da parte del Centro promotore per:

- Fare una ricognizione dei bambini trattati durante il periodo 1990-2012;
- Raccogliere retrospettivamente dalle cartelle cliniche i dati specificati nel piano di ricerca;
- Reclutare i soggetti e le famiglie trattati in passato per rilevare:
 - dati auxologici attuali,
 - valutazione cognitiva mediante questionari ed interviste specificamente predisposte.
- immissione dei dati raccolti in una cartella informatizzata predisposta ad hoc dal centro promotore.

Obiettivi primari

Studio retrospettivo (dati rilevabili da cartelle pazienti)

- Valutazione degli effetti della somministrazione materna/prenatale di desametazone nel prevenire/ridurre la virilizzazione dei genitali esterni nei feti di sesso femminile affetti da forme severe di deficit di 21-idrossilasi
- Valutare l'impatto del desametazone in relazione a:
 - Benessere materno durante il trattamento
 - Tolleranza al glucosio durante la gravidanza
 - Pressione arteriosa durante la gravidanza
 - Crescita fetale e durata della gravidanza
 - Accrescimento staturale e pressione arteriosa dei bambini trattati e non fino all'età di 18 anni
 - Sviluppo psicosociale e cognitivo nei soggetti trattati e nei controlli.

Studio prospettico (famiglie da ricontattare per inserimento o prosecuzione follow-up)

- Accrescimento staturale, pressione arteriosa e parametri laboratoristici (emocromo, piastrine, glicemia, emoglobina glicata, c-peptide, insulina, sodio, potassio, creatinina, cistatina-c, trigliceridi, colesterolo totale, HDL, LDL dosati su siero e albumina e creatinina dosate su urina) dei bambini trattati e non fino all'età di 18 anni.
- Sviluppo psicosociale e cognitivo nei soggetti trattati e nei controlli .

L'Iperplasia Surrenale Congenita è un insieme di patologie genetiche accomunate dalla carente produzione di *CORTISOLO*, un ormone fondamentale per moltissime funzioni del nostro organismo. Nella via di sintesi del cortisolo sono peraltro coinvolte anche le vie di produzione degli *ormoni sessuali* e dei *mineralcorticoidi* (aldosterone tra i più noti), poiché tutti hanno un “antenato” – più scientificamente noto come “precursore” – comune: il colesterolo.

A seconda dell'enzima coinvolto nel difetto genetico si hanno differenti quadri clinici, di cui descriveremo con la massima semplicità possibile le caratteristiche fondamentali. Il difetto più diffuso e ad oggi per questo più studiato e meglio corretto dal punto di vista medico è il **Deficit di 21-Idrossilasi**, seguito dal **Deficit di 11-Idrossilasi**; mancano all'appello tuttavia difetti più rari, che però causano quadri clinici talora anche molto severi e che meriterebbero altrettanto studio, allo scopo di ottenere adeguate prospettive future di cura e prevenzione, alla stregua dei primi.

Ecco un breve excursus dei difetti più rari cui il progetto di ricerca genetica si propone di dedicarsi:

- a) **Deficit di 17-alfa-Idrossilasi/17,20-Liasi** (cromosoma 10): l'enzima “difettoso” è uno solo, ma svolge due diverse funzioni, pertanto i quadri patologici che ne derivano sono dovuti sia alla carenza di cortisolo che di ormoni sessuali:
- ipertensione (quando viene bloccata una via il “traffico” delle molecole che dovrebbero essere trasformate dall'enzima, che nel nostro caso non funziona, si “intasa” e tali molecole, non ancora perfezionate nel prodotto che dovrebbe servire al nostro organismo - l'ormone, appunto - si accumulano, causando ritenzione di liquidi e conseguente aumento della pressione arteriosa);
 - sottovirilizzazione nei neonati maschi;
 - mancata comparsa di mestruazioni (amenorrea) nelle femmine
 - assente sviluppo puberale in entrambi i sessi
- b) **Deficit di 3-beta-idrossi-Steroido-deidrogenasi tipo 2** (cromosoma 1): a causa di un blocco della via di sintesi molto “a monte”, si ha carente sintesi di tutte e tre le vie “a valle”, quindi scarsa produzione sia di cortisolo che di ormoni sessuali che di mineralcorticoidi, con conseguenti possibili quadri patologici:

- severa perdita di sali, pubertà precoce, virilizzazione alla nascita delle femmine
- pubertà precoce e virilizzazione delle neonate femmine senza perdita di sali
- varianti ad esordio tardivo manifeste soprattutto nelle femmine a causa di comparsa di irregolarità mestruali ed irsutismo

c) **Deficit di P₄₅₀-Ossidoreduttasi (POR, cromosoma 7):** difetto complesso che conduce potenzialmente ad ambiguità genitale in entrambi i sessi e, nello specifico:

- virilizzazione delle femmine (a livello dei soli genitali esterni, senza progressione dopo la nascita – dunque non comparsa, per esempio, del sovracitato irsutismo)
- sottovirilizzazione dei maschi, che persiste anche con conseguenze nello sviluppo puberale
- anomalie scheletriche, spesso facciali

Da sottolineare che le anomalie dei genitali esterni in entrambi i sessi sono spesso gravi e richiedono intervento chirurgico.

Attraverso la ricerca genetica -e questo progetto in particolare- ci si propone di raggiungere i seguenti obiettivi:

- analisi delle mutazioni genetiche specifiche
- analisi dei meccanismi che conducono a tali mutazioni
- analisi del DNA in campioni di popolazioni per valutare/confrontare/rapportare i casi di mutazioni con i casi “sani”
- stesura di un protocollo di analisi applicabile in fase diagnostica, anche a scopo preventivo (diagnosi pre-natale)
-

Costo del progetto (borsa di studio): 10.000 euro

Durata del progetto: 6 mesi (2 mesi per ogni gene, cioè per ogni “difetto”)

PROTOCOLLO INTERNAZIONALE DI RICERCA PREDEX

Il protocollo internazionale di ricerca **PREDEX (1)** si propone di valutare, mediante studi retrospettivi adeguati (analizzando direttamente le cartelle cliniche dei pazienti), gli effetti della somministrazione materna prenatale di *desametazone*, avente scopo di prevenire/ridurre la virilizzazione dei genitali esterni dei feti femmine affetti dalle forme più severe di Insufficienza Surrenale Congenita da **Deficit di 21-Idrossilasi** (enzima "incriminato" nel 90% dei casi con tale sindrome).

Il contributo Italiano allo studio, coordinato dal Professor Antonio Balsamo nella sua qualità di Sperimentatore Principale, viene assicurato dal Centro di Sperimentazione individuato nell'Unità Operativa/ S.S.D/ Dipartimento dell'Università degli Studi di Bologna diretta dal Professor Andrea Pession.

Ad oggi non sono mai stati realizzati sufficienti studi riguardo le possibili conseguenze della somministrazione in utero di tale ormone, né tuttavia, nei centri dove tale pratica è stata più volte applicata (non ultimo il Centro di Endocrinologia Pediatrica di Bologna), sono mai emersi casi di problemi a lungo termine, insorti nei bambini nati da madri trattate. Conoscendo però la fisiologia – e dunque la possibile fisiopatologia – della somministrazione di corticosteroidi, alcuni dubbi e molte ipotesi sono state formulate a riguardo, e talora anche svariati "timori" sono stati espressi.

Tra gli effetti a lungo termine "ipotetici/temuti" si considerano i seguenti:

- compromissione del benessere materno generale
- sviluppo di intolleranza glucidica in gravidanza / diabete gestazionale
- sviluppo di ipertensione in gestazione
- compromissione della crescita fetale
- scarso accrescimento staturale dei bambini trattati in utero, considerando anche il grado di mineralizzazione ossea fino alla maggiore età
- aumento della pressione arteriosa nei bambini trattati in utero fino ai 18 anni
- sviluppo psicosociale e cognitivo generale

All'interno dello studio sarà compreso anche un confronto tra i bambini trattati in utero con desametazone e quelli non trattati, valutando ogni aspetto del loro sviluppo dalla nascita fino ai 18 anni di età (accrescimento, pubertà, integrità dell'apparato scheletrico e di quello cardiovascolare, assetto metabolico, specialmente glucidico e lipidico, e funzionalità renale).

Ci si propone di sfatare ogni dubbio e provare realmente di che entità sia il rapporto rischio/beneficio della somministrazione di desametazone alla madre, tra la 5° e la 9° settimana di gestazione, così da stilare un possibile protocollo di prevenzione valido e approvato dal Comitato Etico medico-scientifico.

La conduzione dello studio non ostacolerà la pratica assistenziale;

garantirà la pubblicazione dei risultati nella loro interezza, ivi compresi gli esiti negativi.

Ai soggetti, che parteciperanno allo studio, al fine di una consapevole espressione del consenso, verranno fornite tutte le informazioni necessarie, inclusi i potenziali rischi correlati alla sperimentazione

Lo studio comporterà costi aggiuntivi a copertura dei quali saranno utilizzati:

- a) fondi a disposizione dello Sperimentatore (*fondi Aziendali o Universitari*);
- b) fondi messi a disposizione da Soggetti terzi (Karolinska University Hospital/Karolinska Institutet);
- c) **contributo liberale all'ufficio competente (2) di Euro 4.618,00 della Associazione ArfSAG Emilia Romagna Onlus a copertura dei costi che, ai sensi dell'art. 2 del Decreto 17 dicembre 2004, non possono essere previsti a carico del Servizio Sanitario Nazionale.**

Note:

- (1). Prenatal assessment and treatment of congenital adrenal hyperplasia with dexamethasone- a longitudinal study of outcome measures for mother and child. Internazionale (Svezia e Italia)
2. Ufficio Sperimentazioni Cliniche, Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna, Policlinico S. Orsola-Malpighi, Via Albertoni n.15, 40138 Bologna;