

**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI NAPOLI "FEDERICO II"**  
**DOTTORATO DI RICERCA IN NEUROSCIENZE E**  
**PATOLOGIA DELL'INVECCHIAMENTO CEREBRALE**

**XVII CICLO**

**TESI**

**Correlazioni genotipo-fenotipo nella distrofia  
muscolare facio scapolo omerale: uno studio  
clinico, neurofisiologico, neuroradiologico e  
neuropsicologico**

**Coordinatore del corso**

**Prof Lucio Annunziato**

**Relatore**

**Prof Lucio Santoro**

**Candidata**

**Dott.ssa Roberta Lanzillo**

## Introduzione

La distrofia muscolare Facio-Scapolo-Omerale (FSHD) è la seconda forma più frequente di miopatia a trasmissione autosomica dominante, dopo la distrofia miotonica di Steinert, con una prevalenza di 1/20000 nati vivi (1). Mutazioni de novo si individuano nel 10% dei casi diagnosticati mediante analisi molecolare (2). L'età d'esordio è variabile, in media intorno alla seconda-terza decade di vita. Segni clinici sono presenti nel 95% degli affetti di età superiore ai 20 anni (3). La FSHD è caratterizzata da un classico pattern di coinvolgimento muscolare e da associati disturbi extramuscolari.

### *Coinvolgimento muscolare:*

L'ipostenia dei muscoli del volto è, in genere, il segno più precoce della malattia e conferisce al paziente una particolare facies miopatica: il deficit dei muscoli orbicolari delle palpebre impedisce la completa chiusura della rima palpebrale; fischiare, gonfiare le guance, bere da una cannuccia diventano atti pressoché impossibili a causa dell'ipostenia dei muscoli orbicolari delle labbra e dei muscoli zigomatici; il sorriso è piatto e trasversale per il deficit del muscolo risorio ed il risparmio del muscolo platisma, le labbra hanno particolare flaccidità e tendenza a sporgere e vengono paragonate a quelle di un tapiro. E' però solo quando compare l'ipostenia dei muscoli del cingolo scapolare che il paziente generalmente riferisce i primi sintomi della malattia. La debolezza dei muscoli fissatori della scapola (muscolo dentato anteriore, muscolo trapezio inferiore,

muscolo romboide) impedisce la completa elevazione delle braccia e promuove la comparsa delle scapole alate. Tale fenomeno è a volte visibile a braccia pendenti, più nettamente a braccia orizzontali in anteropulsione (manovra del serrato anteriore). Il deficit muscolare interessa in progressione anche i muscoli sovraspinoso e sottospinoso, il grande dorsale e il grande pettorale. L'interessamento del capo sternale di quest'ultimo si traduce in una piega, asimmetrica, che dall'ascella si dirige verso l'articolazione sterno-clavicolare. Negli stadi più avanzati, il processo distrofico si estende ai muscoli bicipite e tricipite brachiale, con relativo risparmio dei muscoli dell'avambraccio, il che conferisce all'arto superiore l'aspetto detto "di Popeye". In molti casi, inoltre, un movimento verso l'alto dell'ombelico alla semplice flessione del collo (segno di Beevor), dovuto al deficit dei muscoli retti dell'addome, ci permette di evidenziare il coinvolgimento dei muscoli addominali (4). Il quadro clinico si completa, nelle forme classiche di FSHD, con l'ipostenia dei muscoli della loggia antero-laterale delle gambe (muscolo tibiale anteriore, muscoli peronieri) e comparsa di piede cadente (5). Successivamente, l'ipostenia tende ad estendersi ai muscoli del cingolo pelvico, il che contribuisce, in associazione al deficit dei muscoli addominali, alla comparsa di iperlordosi lombare. Nel 20% dei casi l'ipostenia dei muscoli del cingolo pelvico diventa particolarmente grave e talora è richiesto il ricorso alla sedia a rotelle (6). Il coinvolgimento muscolare è spesso asimmetrico, con più frequente interessamento del lato dominante e la progressione della malattia è estremamente variabile. I livelli sierici di CPK, in questa

forma di miopatia, sono di poco aumentati e talora normali. L'EMG mostra un reperto di miopatia primitiva (potenziali polifasici di ampiezza ridotta e di breve durata). La biopsia del muscolo mostra, oltre le caratteristiche alterazioni distrofiche, quali variabilità di calibro delle fibre, necrosi, rigenerazione e fibrosi, la presenza di piccole fibre angolate, come da denervazione. Inizialmente queste furono interpretate come un possibile segno di associata sofferenza muscolare neurogena, recentemente è stato dimostrato che queste piccole fibre contengono miosina, suggerendo la possibilità che si tratti di fibre in rigenerazione. Inoltre è frequente il riscontro di fibre tarlate (7). Infiltrati cellulari mononucleati possono essere osservati in più del 30 % delle biopsie e possono far incorrere erroneamente nella diagnosi di polimiosite.

*Coinvolgimento extramuscolare:*

Vasculopatia retinica con quadro simile alla sindrome di Coats ed ipoacusia neurosensoriale per le alte frequenze sono state osservate nei casi ad esordio precoce (8-10). Un ritardo mentale si osserva raramente (meno del 2% dei casi) (11). Anomalie cardiache di lieve entità sono state osservate solo nel 5% della popolazione con FSHD (12,13). Sono stati effettuati anche studi neurofisiologici dei potenziali evocati (PE) in pazienti FSHD, che hanno mostrato un'alterazione della conduzione del potenziale acustico, con localizzazione a livello pontino (14), e del potenziale motorio, con riduzione dell'inibizione cortico-corticale (15).

*Diagnosi molecolare:*

Il locus della FSHD è stato mappato nella regione subtelomerica del

braccio lungo del cromosoma 4 , regione 4q35, attraverso analisi di linkage (16). La sonda p13-11 ha rilevato in questa regione la presenza di frammenti polimorfici mediante restrizione con l'enzima EcoRI. Tali frammenti sono costituiti da unità identiche di DNA (KpnI) disposte in tandem della lunghezza di 3.3 Kb ciascuna (17), che formano un'unità chiamata D4Z4. Nei soggetti normali queste sequenze sono ripetute dalle 12 alle 96 volte e danno origine ad un frammento di restrizione con EcoRI di 50 – 320 Kb. I soggetti affetti FSHD presentano, invece, frammenti di lunghezza inferiore ai 35-38Kb, a causa della delezione di un numero variabile di sequenze ripetute (17, 18). Le sequenze D4Z4 sono presenti anche sul cromosoma 10, 10q26 (19), oltre che sul 4q35 e questo complica l'interpretazione dell' analisi di Southern Blot nei soggetti normali e negli affetti, poiché i frammento EcoRI dei cromosomi 10 e 4 sono sovrapponibili in lunghezza. Inoltre i due loci hanno un'alta frequenza di omologie e pochi siti di restrizione che li distinguono l'uno dall'altro, in particolare il sito BlnI, che è presente nelle unità ripetute derivate dal cromosoma 10 ma non dal cromosoma 4. La doppia digestione del DNA genomico con gli enzimi di restrizione EcoRI e BlnI permette, quindi, di differenziare il frammento derivante da 4q35 dal frammento che origina da 10q26 (20, 21). Nella regione 4q35 nessun gene è ancora stato isolato. Studi recenti hanno dimostrato, però, che le sequenze D4Z4 contengono un particolare sito al quale si ancora un complesso multiproteico necessario a regolare la trascrizione di geni

localizzati a monte della regione 4q35. In questa regione sono localizzati i geni “candidati” come responsabili della FSHD, iper-espressi nelle colture di mioblasti di pazienti FSHD. In particolare, il più plausibilmente coinvolto è FRG2, il cui tradotto proteico non è ancora noto (22). Nei soggetti FSHD la delezione delle sequenze D4Z4 impedisce il legame del complesso multiproteico e pertanto i geni a monte della regione 4q35 possono essere sovraespressi (23). Il numero di sequenze D4Z4 delete è stato correlato all’età d’insorgenza e alla severità clinica della malattia (24) e il più alto numero di sequenze conservate è stato associato ad una ridotta penetranza. Recentemente, Tonini e collaboratori (25) hanno descritto la presenza di una correlazione inversa tra le dimensioni del frammento Eco RI e la severità della FSHD nella loro popolazione globale, ma, dividendola in generi, tale correlazione si osservava solo nella popolazione femminile. Inoltre, è stato dimostrato che nel genere femminile la penetranza e l’espressività, dal punto di vista del coinvolgimento muscolare, sono minori che nel genere maschile (25,26).

## **Obiettivi**

Scopo del nostro studio è valutare il grado di coinvolgimento muscolare in un largo numero di pazienti con FSHD, verificare la correlazione esistente tra la gravità della malattia e la lunghezza del frammento di doppia digestione (EcoRI, BlnI) e stabilire se il numero di sequenze delete influenzi il fenotipo clinico e la penetranza della malattia. Inoltre ci siamo riproposti di valutare il coinvolgimento extramuscolare, in particolare visivo ed acustico e del Sistema Nervoso Centrale (SNC), anche attraverso lo studio dei potenziali evocati, la Risonanza Magnetica (RMN) cerebrale e test neuropsicologici. Infine abbiamo verificato se esistesse una correlazione tra il coinvolgimento extramuscolare e la lunghezza del frammento EcoRI e se il sesso del paziente influenzasse il fenotipo clinico.

## **Pazienti e metodi.**

Abbiamo studiato 44 individui con fenotipo FSHD e 90 parenti a rischio di trasmissione per un totale di 134 soggetti, suddivisi in 25 famiglie con più membri affetti clinicamente e 19 casi isolati.

*Valutazione clinica:*

I pazienti ed i parenti a rischio sono stati valutati clinicamente e classificati in base ad una scala clinica di 10 gradi (27). Il punteggio più alto è assegnato ai pazienti con coinvolgimento dei muscoli del cingolo pelvico e dei muscoli prossimali degli arti inferiori (tabella 1). L'età di esordio è stata determinata retrospettivamente nei pazienti sintomatici, mentre negli asintomatici è stata assegnata arbitrariamente al momento della prima valutazione neurologica che mostrasse segni clinici della malattia. La durata di malattia è stata calcolata dall'esordio clinico nei sintomatici e dal primo riscontro di segni clinici alla valutazione neurologica negli asintomatici.

*Indagine genetico-molecolare:*

Analisi di Southern blot, su DNA genomico estratto da leucociti di sangue periferico e digerito con due enzimi di restrizione (EcoRI e BlnI). I frammenti ottenuti sono stati ibridati con la sonda p13E-11 (D4F104S1), necessaria ad identificare la delezione a carico della regione 4q35.

*Valutazione del sistema uditivo:*

Di 36 pazienti (18 femmine, 18 maschi) risultati portatori del frammento patogenetico EcoRI abbiamo valutato il coinvolgimento uditivo attraverso:

- Esame audiometrico tonale necessario a ricercare alterazioni della soglia uditiva sia per via aerea che per via ossea con l'impiego di toni puri emessi da un audiometro, la cui intensità è graduata di 5 in 5 decibel (dB) ed il cui valore di soglia è espresso da un numero che indica il valore in dB del deficit uditivo rispetto ad un orecchio normale
- Impedenzometria, che, attraverso un tono definito "tono sonda" di bassa frequenza (220-660 Hz) e di intensità costante (65 dB) inviato da una sonda a perfetta tenuta inserita nel meato acustico esterno, consente di ottenere informazioni sul funzionamento del sistema timpano- ossiculare (orecchio medio).

Cinquantanove pazienti (29 femmine e 30 maschi) sono stati sottoposti allo studio dei potenziali acustici del tronco (BAEP), che, mediante stimolazione monoauricolare bilaterale con clicks non filtrati di frequenza pari a 2000 Hz, della durata di 100 ms e cadenza di 10/sec, consentono di registrare con elettrodo attivo alla mastoide, elettrodo di terra alla fronte ed elettrodo di riferimento al vertice, la progressione del potenziale d'azione dal punto in cui esso è generato (onda I) sino al momento in cui esso raggiunge i tubercoli quadrigemini inferiori (onda V) o talora il corpo genicolato laterale (onda VI) e le radiazioni acustiche talamo-corticali. L'ampiezza, la latenza e la morfologia di tali onde offrono utili criteri topodiagnostici sulla sede della lesione. I BAEP sono stati eseguiti in una stanza insonorizzata click a 60 dB (SL) al di sopra della soglia uditiva del click. Sono stati acquisiti due set consecutivi di 2000 risposte in due canali separati dal vertice con riferimento omo e controlaterale

alla mastoide. Abbiamo misurato le latenze assolute dei primi 5 picchi positivi e gli intervalli degli interpicchi I-III, III-V e I-V.

*Valutazione del sistema visivo:*

Trentasei pazienti sono stati sottoposti ad esame retinografico e fluorangiografico mediante fluorangiografo Canon CF-60 Uvi. La fluorangiografia consiste in una sequenza fotografica del fondo oculare a tempi variabili dalla somministrazione endovenosa di 2,5-5 ml di fluoresceina sodica al 20%, colorante vegetale in grado di fissarsi alle proteine del plasma e agli elementi figurati del sangue. Utilizzando principi di fluorescenza, l'esame consente una approfondita valutazione di tutte le alterazioni inerenti la barriera emato-retinica. Nel nostro studio i pazienti sono stati sottoposti a sequenza fotografica del polo posteriore e della periferia della retina con fotogrammi realizzati a circa 20, 40, 60, 120 e 350 secondi dalla somministrazione endovenosa di fluoresceina.

In 62 pazienti sono stati studiati l'acuità visiva, il fondo oculare e i potenziali evocati visivi (PEV). I PEV sono stati eseguiti attraverso la stimolazione bi-oculare mediante checkboard reversal pattern (ogni scacco con un angolo visivo di 30') e registrazione in regione occipitale con valutazione della morfologia, della latenza e dell'ampiezza di tre onde denominate in base alla loro polarità (negativa o positiva). Di queste onde, in condizioni normali, la prima è negativa di bassa ampiezza con latenza media di 75 ms (N75), la seconda positiva, ampia, con latenza di 100 ms (P100), l'ultima è negativa e ha una latenza media di 145 ms (N45). I pazienti che hanno presentato ai PEV un significativo aumento della latenza della P100

sono stati studiati anche attraverso i potenziali oscillatori (PO) che mediante stimolo flash a luce bianca, di intensità pari a 10 J, consente la registrazione mediante elettrodi di superficie, localizzati al canto laterale-palpebra inferiore destra e canto laterale palpebra inferiore sinistra di 4-5 onde la cui morfologia ampiezza e latenza permettono di identificare le possibili alterazioni a carico delle cellule dello strato intermedio della retina (cellule bipolari, cellule interplexiformi e cellule amacrine). Gli stessi pazienti sono stati sottoposti anche ad elettroretinogramma da pattern (PERG) che, mediante stimolazione binoculare, con stimolo luminoso da flash (5Hz) in condizione scotopica e mesopica, consente la registrazione, dalla derivazione canto laterale-palpebra inferiore destra e canto laterale-palpebra inferiore sinistra delle onde la cui morfologia, latenza ed ampiezza valuta lo stato delle cellule ganglionari che si trovano nella parte finale della retina.

*Risonanza magnetica nucleare dell'encefalo:*

Nei pazienti con aumento della latenza della P100 ai PEV è stata eseguita la risonanza magnetica nucleare (RMN) dell'encefalo per identificare possibili alterazioni a carico della sostanza bianca, responsabili del rallentamento della conduzione centrale. Altri 19 pazienti (3 con ridotta ampiezza della P100 e 16 con PEV normali) sono stati sottoposti alla risonanza magnetica come caso-controllo, per un totale di 30 pazienti FSHD (11F/19M). Il protocollo di RMN includeva due set intersecanti di 16 sezioni ognuno, che ricoprivano l'intero encefalo, ottenuti a 1.5 Tesla (Intera, Philips Medical Systems, The Netherland), per un totale di 32 sezioni contigue. Ognuno dei due

set includeva sequenze convenzionali spin-echo realizzanti immagini assiali pesate in T1 (520/15) e DP/T2 (1800/15-90) (24cm FOV, matrice di acquisizione 256x256 ). Tutte le immagini sono state acquisite sullo stesso apparecchio di RMN e nessun hardware o software è stato rimosso durante lo studio. Si è inoltre proceduto alla quantizzazione dei tessuti cerebrali mediante segmentazione delle immagini di RMN, con un metodo completamente automatico (28), basato sui tassi di rilassamento dei voxel per la classificazione dei tessuti ( materia grigia, GM, bianca, WM, e liquor, CSF). I volumi sono stati comparati, tenendo conto delle dimensioni del cranio, dell'età e del sesso, sia globalmente (mediante analisi di regressione multipla) che regionalmente (attraverso la voxel-based morphometry, VBM) con quelli ottenuti in 39 soggetti normali (18 femmine).

*Valutazione neuropsicologica:*

Diciassette pazienti (6 F) e 13 controlli (6 F), di cui 5 affetti da CMT e altri 8 affetti da patologie acquisite a carico del sistema neuromuscolare (miastenia gravis, chronic idiopathic demyelinating peripheral neuropathy, CIDP, ed altre neuropatie acquisite), con impedimento motorio simile, appaiati per sesso, età e scolarità, sono stati valutati mediante una batteria di test neuropsicologici, somministrata da un neuropsicologo esperto in disordini disesecutivi, mirata ad evidenziare eventuali deficit cognitivi di tipo frontale.

I pazienti e i controlli sono stati sottoposti alla seguente batteria:

- Mini Mental State Examination (MMSE)
- Test di span spaziale (Corsi)
- Test di span verbale

- Apprendimento della lista di parole di Rey ( immediato e differito)
- Test di memoria di prosa
- Matrici di Raven
- Aprassia costruttiva
- Fluenza verbale semantica e fonemica
- Test della figura di Rey
- Test di Stroop
- Giudizi Verbali
- Test Wisconsin
- Trial Making Test
- Test delle stime cognitive (CET)

I punteggi grezzi ottenuti sono stati corretti per età e scolarità secondo i dati normativi italiani ( 29), ottenendo i punteggi equivalenti: lo score 0, corrispondente a punteggi al di sotto del 5° percentile della performance dei controlli normali, quindi è patologico, e lo score 1, tra il 5° e il 10° percentile, è considerato borderline. Il test della figura di Rey è stato valutato corretto o patologico soggettivamente dal neuropsicologo. Lo score del test Stroop è stato calcolato secondo la formula  $T = T3 - (T1 + T2)/2$ , dove T1, T2 e T3 sono i tempi di performance delle tre parti del test stesso (30).

*Analisi statistica:*

Per valutare le correlazioni tra score clinico, età, età di esordio, durata della malattia e lunghezza del frammento EcoRI abbiamo utilizzato il test di Spearman. Abbiamo escluso dall'analisi in questione I soggetti

con diagnosi molecolare, clinicamente indenni, più giovani di 28 anni (l'età media di esordio nella nostra popolazione), perché considerati probabili pre-sintomatici. Inoltre, sugli stessi dati, è stata applicata un'analisi di regressione multipla lineare: lo score clinico considerato come variabile dipendente e la durata di malattia e la lunghezza del frammento EcoRI come variabili predittive. Il T test per campioni non appaiati è stato utilizzato per valutare le differenze tra soggetti clinicamente affetti e indenni tra maschi e femmine, e tra soggetti con e senza coinvolgimento extra-muscolare, riguardo i parametri età, età di esordio, durata di malattia, score clinico e lunghezza del frammento EcoRI. L'analisi di regressione multipla lineare mediante SPSS (SPSS Inc., Chicago, Il, USA), è stata applicata per testare l'effetto della malattia sui volumi cerebrali (GM, WM e CSF) separatamente. Il volume intracranico totale (ICV), l'età ed il sesso sono state inserite nel modello per escluderne il possibile effetto. I soggetti erano suddivisi in FSHD e controlli per verificare l'effetto della malattia. Inoltre, la durata di malattia, l'età di esordio e lo score clinico sono stati testati per valutarne l'effetto sui volumi cerebrali. Il livello di significatività è stato stabilito a 0.05, corretto per comparazioni multiple secondo Bonferroni. Per valutare la significatività del risultato ai test NPS è stato applicato il test  $X^2$ .

## **Risultati**

### *Analisi clinica e molecolare:*

I 44 probandi e 41 (45.5%) dei 90 parenti a rischio di ereditarietà presentavano un fenotipo clinico suggestivo di FSHD. L'età di esordio media tra gli 85 pazienti clinicamente affetti era 28 anni (range 1-61). La durata media di malattia era 13 anni (0-59). Lo score clinico andava da 0.5 a 5, con una mediana di 1.5.

Sono stati sottoposti ad analisi molecolare 134 soggetti (78 femmine, 56 maschi), di età media pari a 38.9 anni (range 18-80). In 100, 44 propositi e 56 (62%) dei parenti a rischio, è stata individuata la delezione sul cromosoma 4q, con una lunghezza media del frammento EcoRI di 27.9 Kb (range 11-38). Dei 19 casi isolati, 4 erano sporadici (genitori sani, senza la delezione del 4q35) mentre gli altri 15 erano da considerarsi incerti, non essendo disponibili dati molecolari relativi ai genitori. Tra i 56 parenti con frammento EcoRI patologico, 15 erano completamente asintomatici (7 maschi e 8 femmine) e senza segni di malattia (punteggio 0). Sette dei soggetti clinicamente indenni, ma portatori del frammento patogeno, erano più giovani di 28 anni (l'età media di esordio nella nostra popolazione) e pertanto li abbiamo considerati "pre-sintomatici". Gli altri otto soggetti (4 maschi e 4 femmine) clinicamente sani, più anziani di 28 anni, sono stati considerati portatori "non-penetranti" della mutazione. Questi non erano significativamente più giovani dei pazienti sintomatici (34.6 vs 43.4 anni, n.s.) ma la lunghezza media del frammento EcoRI era significativamente maggiore (33.3 kb vs 27.1 kb,  $p < 0.01$ ) rispetto a

quella dei soggetti clinicamente affetti. I dati anagrafici e molecolari dei 44 propositi e dei 41 parenti clinicamente affetti erano molto simili tra loro, con un'età media di 43.2 e 44.5 anni rispettivamente e questi due gruppi differivano solo per la severità clinica, che era maggiore nei probandi (score 2.6 vs 1.7,  $p < 0.001$ ) e per l'età di esordio della malattia (23.5 anni vs 32 anni,  $p < 0.05$ ), minore nei propositi. L'analisi statistica sulla popolazione globale di pazienti con FSHD geneticamente confermata, escludendo i soggetti pre-sintomatici, mostra che lo score clinico non correlava con la lunghezza del frammento EcoRI, viceversa, la severità di malattia correlava fortemente con l'età di esordio e la durata di malattia ( $r = -0.39$ ,  $p < 0.0001$  and  $r = 0.77$ ,  $p < 0.001$  rispettivamente) (tabella 2). Comunque, l'età di esordio correlava direttamente con la lunghezza del frammento EcoRI. Dividendo la popolazione in soggetti asintomatici e pazienti clinicamente affetti, abbiamo trovato una significativa differenza nella dimensione del frammento nei due gruppi, più lungo negli individui asintomatici. L'analisi di regressione multipla lineare ha confermato che la durata di malattia è la variabile che influenza maggiormente lo score clinico (Figura 1), (beta 0.67,  $p < 0.001$ ) e ha mostrato che la lunghezza del frammento ha un ruolo meno consistente (beta 0.2,  $p < 0.01$ ), con  $r^2 = 0.42$ . Dividendo invece la popolazione (sia i soggetti clinicamente affetti che in portatori "non-penetranti") in generi (43 maschi e 50 femmine) abbiamo riscontrato una correlazione inversa tra la severità della malattia e la lunghezza del frammento EcoRI nei maschi ( $p < 0.05$ ), mentre nelle femmine e nella popolazione globale tale correlazione era assente. Esaminando le differenze tra i due generi,

abbiamo osservato un'età media maggiore nel gruppo delle femmine (45.5 vs 39.3 anni,  $p < 0.01$ ), mentre non vi erano differenze significative nell'età di esordio (29.8 vs 26.3 anni, n.s.) e nella durata di malattia (15.2 vs 12.5 anni, n.s.). Inoltre lo score medio di gravità era lo stesso nei due gruppi. Considerando la popolazione totale di pazienti mutati, abbiamo osservato che la penetranza della malattia era del 100% nei soggetti con un frammento minore di 27 kb e diminuiva al 80 % in quelli con un frammento di 27 o più kb, anche se l'età media e l'esordio di malattia nei due gruppi non differivano (età media 41.3 vs 41 anni, n.s.; età d'esordio 28.1 vs 29.2 anni, n.s.) (figura 2).

#### *Sistema uditivo*

L'esame audiometrico ha mostrato un'ipoacusia sub-clinica solo in 3 pazienti (8.3%) (2 femmine e 1 maschio): un paziente aveva un dip a destra per toni alti ( $>8000\text{Hz}$ ), uno aveva un deficit trasmissivo con un dip per i toni bassi ( $<2000\text{Hz}$ ) a destra ed il terzo aveva un deficit cocleare bilaterale con un declino stabile oltre i 2000 Hz. La lunghezza del frammento EcoRI, l'età, l'età di esordio e la durata di malattia non differivano tra pazienti normoudenti e pazienti con deficit uditivi sub-clinici .

I risultati dei BAEPs hanno mostrato latenze ed intervalli interpacco anomali in 15 pazienti (25.4%), con netta prevalenza nei maschi (2 femmine/13 maschi,  $p < 0.001$ ) (tabella 3). La lunghezza del frammento EcoRI, l'età, l'età di esordio e la durata di malattia non differivano tra pazienti con BAEPs normali e alterati. Nessuna

correlazione è stata trovata tra le alterazioni audiologiche e le anomalie ai BAEP.

*Sistema visivo:*

La fluorangiografia ha mostrato in 8 pazienti (3 femmine e 5 maschi) su 36 (22%) anomalie retiniche, tra cui un quadro simil-Coats in una paziente (2.7%) (Figura 3) e atrofia dell'epitelio pigmentato in 7 pazienti (19%) (3 femmine e 4 maschi) (Figura 4). In 9 pazienti (25%) si sono evidenziate tortuosità vasali aspecifiche. Le anomalie della retina non correlavano con la lunghezza del frammento EcoRI, con l'età d'esordio e con la durata della malattia; inoltre i pazienti con alterazioni dei vasi della retina erano più giovani di quelli con vasi della retina normali (32,4 anni vs 43,5 anni,  $p < 0.05$ ), il che suggerisce la possibilità che questo fenomeno non sia correlato all'età, ma alla malattia in se. Un significativo ritardo di conduzione centrale ai PEV è stato osservato in 11 pazienti (17.7%), ancora con netta prevalenza maschile (1 femmina/10 maschi,  $p < 0.001$ ), con una media della P100 di 123 ms (valori normali  $98.9 \pm 5.8$ ) Gli stessi pazienti sono poi stati sottoposti ai PO e ai PERG che sono risultati normali. L'ampiezza del picco N75-P100 era ridotta in 5 pazienti (8%) (1 femmina e 4 maschi), (media 3.48 mV, n.v.  $10.4 \pm 5.2$ ) L'aumento della latenze ai PEV non correlava con gli altri dati clinici.

*RMN dell'encefalo:*

Alla ispezione visiva, in due pazienti con ampiezza ridotta del picco N75-P100 e in due con normali reperti ai PEV, per un totale di 4 pazienti su 30, si sono riscontrate iperintensità della sostanza bianca in T2. Le lesioni erano lievi in tre casi, periventricolari e associate solo a

modica ipointensità in T1. Nel quarto caso invece il reperto era più grave, con iperintensità tondeggianti marcate corrispondenti ad aree di ipointensità in DP e T1, localizzate nei centri semiovali ed in sede periventricolare (simili ai “buchi neri” tipici della SM, caratterizzati da perdita assonale) (Figura 5). Il numero esiguo di pazienti con tali anomalie ha precluso un’elaborazione statistica, ad ogni modo non sembra che vi sia una distribuzione preferenziale riguardo l’età, il sesso, l’età di esordio e la durata di malattia dei pazienti , così come per i volumi tissutali cerebrali.

#### *Volumi globali:*

Un’analisi di regressione multipla, dopo correzione per ICV, ha mostrato una correlazione inversa tra il volume di GM e l’età (-1.5ml per anno,  $P < 10^{-5}$ ), con un parallelo aumento di CSF volume (+2.1ml per anno  $P < 10^{-7}$ ). Si è anche riscontrato un effetto borderline dell’età sui volumi di WM corretti per l’ ICV (-0.6ml per anno,  $P < 0.05$ ).

La presenza della FSHD influenzava significativamente la GM (-33.9ml in pazienti FSHD,  $P < 10^{-4}$ ) e il CSF (+40.5ml,  $P < 10^{-4}$ ) mentre la WM totale era preservata. Non si sono osservate differenze tra i due sessi in termini di perdita di sostanza grigia.

Nella figura 6, GM, WM e CSF, normalizzati per l’ ICV, sono distribuiti verso l’età dei soggetti sani e dei pazienti. I cambiamenti in GM e CSF legati all’età si possono apprezzare, così come la riduzione di GM e l’aumento di CSF nella FSHD. Analizzando i volumi cerebrali in funzione dei dati clinici, la perdita di GM mostrava una correlazione borderline con la severità clinica valutata mediante lo

Score R ( $P < 0.05$ ). Nessuna correlazione è stata invece apprezzata tra i volumi cerebrali, l'età di esordio, durata di malattia, lunghezza della sequenza ripetuta D4Z4, e presenza di iperintensità della WM.

#### *Voxel-based morphometry (VBM)*

Si sono riscontrati tre cluster di perdita significativa di GM (figura 7), con localizzazione massima al livello della corteccia prefrontale senso-motoria e dorso-laterale sinistra, con estensione caudale verso la parte opercolare dell'area di Broca (aree di Brodmann 6, 2 e 44), nella corteccia limbica con massimo al giro cingolato anteriore (aree di Brodmann 33 a destra e 24 a sinistra) con estensione anteriore verso il giro orbitale destro (area di Brodmann) e nelle regioni fronto-polari dei giri superiore e medio frontali destri. La ricerca di contrasti inversi (incrementi di GM nei FSHD) non ha mostrato regioni significative.

#### *Valutazione neuropsicologica:*

I pazienti ed il gruppo di controllo erano sovrapponibile per età media (42.8 vs 42.2 anni), scolarità (9 vs 10 anni), età di esordio della malattia (24.9 vs 25.7 anni) e durata di malattia (18.2 vs 15.7 anni). In 9 pazienti (53%, 5F) sottoposti alla batteria di test neuropsicologici si è osservato un deficit selettivo delle funzioni frontali. In particolare 7 pazienti (5F) fallivano al test di Wisconsin e 2 pazienti maschi fallivano anche in diversi altri test delle funzioni esecutive. In altri tre pazienti vi era una tendenza al deficit cognitivo frontale: non fallivano al Wisconsin test, ma ottenevano punteggi patologici al test della fluenza fonemica, allo Stroop o al test delle stime cognitive. Una paziente ha mostrato un deficit cognitivo globale. L'analisi statistica ha mostrato una

significativa differenza tra pazienti e controlli nel risultato ottenuto al Wisconsin test, con prevalenza dei punteggi patologici nei pazienti FSHD ( $X^2 = 6.7$ ,  $p < 0.05$ ), ma non per gli altri test. Il punteggio grezzo ottenuto agli altri test neuropsicologici correlava con la durata di malattia, ma non con l'età dei pazienti.

## Discussione

Abbiamo presentato i dati clinici, genetici e strumentali di una popolazione di pazienti affetti da FSHD confermati geneticamente. I probandi erano 44 e l'estensione dell'esame clinico e dell'indagine molecolare ai parenti ci ha dato un totale di 100 pazienti affetti. Quindici parenti con la delezione del 4q35 erano clinicamente indenni. Sette di questi soggetti avevano meno di 28 anni (l'età media di esordio della malattia nella nostra popolazione) e quindi li abbiamo considerati come probabili pazienti pre-sintomatici mentre gli altri otto, più anziani di 28 anni, potevano essere considerati come portatori di una mutazione "non-penetrante". Riguardo la correlazione genotipo-fenotipo, abbiamo trovato una forte correlazione tra la severità clinica e la durata della malattia, confermando la natura progressiva della malattia e l'impatto dell'età d'esordio sulla prognosi. Dall'analisi di regressione, oltre la conferma della forte influenza della durata della malattia sulla severità clinica, abbiamo riscontrato una significativa influenza della lunghezza del frammento EcoRI. Questo dato diventa più rilevante quando si divide la popolazione in portatori della mutazione "non penetranti" e in individui clinicamente affetti, con una significativa differenza nella lunghezza del frammento nei 2 gruppi, essendo questo più lungo nei soggetti asintomatici. Inoltre, la penetranza della malattia nella nostra popolazione, malgrado la stessa età attuale media e età d'esordio media nei 2 gruppi, era del 100% nei pazienti con frammento EcoRI al di sotto dei 27 Kb e decresceva fino all'80% per frammenti di 27 Kb o

più, esaltando il ruolo della lunghezza della delezione nell'espressione della malattia. I nostri risultati confermano la presenza di una correlazione genotipo-fenotipo, senza un'evidente influenza diretta del dato genetico sulla precocità della comparsa dei sintomi della malattia. La durata della malattia sembra essere il principale fattore capace di determinare incapacità fisica, conducendo il paziente ad un progressivo peggioramento e ad una maggior espressione della malattia. Noi non confermiamo l'osservazione di Tonini e collaboratori (25) di un minor coinvolgimento muscolare nelle femmine, forse per una differenza razziale tra le popolazioni in esame. Comunque abbiamo osservato che, nonostante un'età media maggiore nelle femmine, queste avevano lo stesso score clinico medio dei maschi, forse a rispecchiare un'evoluzione clinica più lenta. Infine abbiamo osservato una correlazione inversa tra lunghezza del frammento EcoRI e la severità clinica nei maschi, ma non nelle femmine, il che suggerirebbe la presenza di fattori aggiuntivi nel sesso femminile che influenzano il fenotipo. Questi dati suggeriscono che il genere femminile sia in qualche modo protetto, attraverso qualche fattore ignoto (ormonale, ambientale?). Riguardo il coinvolgimento extramuscolare nella FSHD, abbiamo analizzato la presenza di anomalie delle vie acustiche e visive in un sottogruppo di pazienti, che non riferivano problemi uditivi o visivi, mediante indagini strumentali. L'esame audiometrico ha mostrato una minor incidenza di deficit uditivo rispetto a quella riportata precedentemente in studi svolti su popolazioni nord europee (8,10), in accordo con le recenti osservazioni di Rogers e collaboratori (31). Comunque, le anomalie

riscontrate nella nostra popolazione non erano correlate al dato molecolare, e nemmeno all'età dei pazienti. Questi dati suggeriscono che il deficit uditivo possa ancora essere legato alla malattia di base, ma sottolineiamo la scarsa incidenza di tale riscontro in soggetti altrimenti asintomatici dal punto di vista uditivo in corso di FSHD. La fluorangiografia retinica ha mostrato, nella nostra popolazione, delle anomalie della retina in 8 pazienti (20%), indipendenti dall'età, pertanto considerabili un fenomeno correlato alla malattia di base. Abbiamo comunque individuato solo un caso di sindrome simil-Coats (2.7%), mentre più frequentemente si sono riscontrate tortuosità vascolari, considerate dagli oftalmologi come anomalie aspecifiche. Questi risultati non hanno escluso che la retina possa essere coinvolta nel corso della malattia, ma ad ogni modo noi non abbiamo trovato alcuna correlazione con la lunghezza del frammento EcoRI, con l'età di esordio e la durata della malattia. Il meccanismo patogenetico che determina le anomalie della retina resta ancora da chiarire. Molto interessante è la presenza di PEV e BAEP alterati, in termini di incremento delle latenze centrali non età-correlate. Questi riscontri non hanno correlazioni cliniche (né visive né acustiche), ma sono risultati significativamente più frequenti nei maschi che nella femmine. Un coinvolgimento muscolare meno severo nelle femmine è già stato descritto in corso di FSHD (25), ma non erano mai state ricercate differenze genere-correlate nel coinvolgimento extra-muscolare. Non abbiamo trovato correlazioni tra le anomalie ai dati strumentali e le severità clinica della malattia o la lunghezza del frammento EcoRI.

Alla RMN dell'encefalo non abbiamo riscontrato alterazioni della WM imputabili del ritardo di conduzione centrale nei pazienti con latenze aumentate ai PEV. D'altra parte abbiamo osservato un quadro tipo SM in 4 pazienti, di cui due con ampiezza ridotta ai PEV, ma questa sembra essere un'associazione casuale, essendo stata osservata anche in due pazienti con PEV normali e non potendo attribuire un deficit di conduzione la isolata riduzione di ampiezza del segnale registrato. Da sottolineare che nessuno dei nostri pazienti aveva segni clinici di malattia demielinizzante né fattori di rischio per malattie cerebrovascolari. In letteratura è stato descritto un quadro tipo SM in pazienti FSHD sia alla RM da Fierro e collaboratori (14), che in un esame post mortem (32), ma non è mai stato dimostrato che tale associazione non fosse casuale. Di Lazzaro e collaboratori (15), riscontrando una riduzione dell'inibizione cortico-corticale alla stimolazione magnetica trans-cranica, hanno ipotizzato che, anche in pazienti senza alcun segno a carico del SNC vi sia un coinvolgimento corticale nella FSHD, che, nei casi più severi si manifesta attraverso l'epilessia o il ritardo mentale. I nostri risultati ai PE confermano un coinvolgimento del SNC, probabilmente a livello molecolare e non macroscopico, specialmente in pazienti maschi. Inoltre abbiamo dimostrato, per la prima volta, una perdita di GM nella FSHD. Tale risultato è stato ottenuto mediante un sistema automatico, che esclude l'errore legato all'operatore. La VBM ha mostrato che l'atrofia riscontrata è prevalentemente a carico di strutture corticali frontali. Tale selettività suggerisce che l'atrofia sia frutto di un coinvolgimento di specifiche strutture del SNC in corso di FSHD, e

non un fenomeno aspecifico. I nostri risultati possono fornire una controparte strutturale al riscontro di alterazioni funzionali mediante la TMS (15), che sembrerebbero rappresentare un'espressione diretta della malattia piuttosto che cambiamenti adattativi non specifici al deficit motorio, ma per escludere quest'ipotesi è necessario analizzare anche altre forme di malattie muscolari. A conferma del dato di RMN, abbiamo osservato un sottile deficit cognitivo di tipo frontale, come atteso in soggetti con atrofia localizzata nelle sedi evidenziate nei nostri pazienti. E' stato ipotizzato che le manifestazioni della FSHD a carico del SNC, specialmente l'epilessia, fossero la conseguenza di una disfunzione regolatoria dovuta ad una iper-espressione del gene codificante per il diazepam binding inhibitor (DBI) (15). Mentre nel cervello umano le più alte concentrazioni DBI si trovano nel cervelletto, mesencefalo e corteccia temporale mediale (33), la localizzazione elettiva delle alterazioni riscontrate mediante la RMN nel lobo frontale suggerisce che siano coinvolti altri meccanismi in questo processo. Infine, le alterazioni della WM riscontrate in soli 4 pazienti non correlavano con la più ingente perdita di GM, pertanto una degenerazione assonale retrograda promossa da un danno assonale a distanza non è ipotizzabile.

I nostri risultati, riguardo la correlazione genotipo fenotipo muscolare nella FSHD, confermano che la diagnosi di FSHD rimane una diagnosi clinica. L'analisi genetica, infatti, conferma solo se un fenotipo FSHD è dovuto alla mutazione su 4q35 e stabilisce quindi un rischio di trasmissione al 50% della progenie. L'indagine molecolare non può essere pertanto condotta in assenza di una profonda

conoscenza del fenotipo del paziente e della sua famiglia. Circa un terzo dei parenti asintomatici a rischio di trasmissione risulta, infatti, portatore della mutazione: ciò suggerisce di estendere quanto più possibile l'analisi ai membri a rischio della famiglia, malgrado l'assenza di segni clinici. La prognosi, inoltre, non sembra essere prevedibile sulle semplici basi del genotipo, ma solo l'età d'esordio ci può permettere di predire con relativo margine di sicurezza il grado di progressione della malattia. Ancora più cautela nell'esprimere un giudizio prognostico va usata nel genere femminile, in cui fattori differenti possono avere ruoli addizionali. Noi perciò suggeriamo di praticare un follow-up in maniera tale da individuare quanto più precocemente possibile i primi segni nei portatori asintomatici, così da stabilire più precisamente l'età d'esordio, a cui generalmente oggi si risale attraverso la storia del paziente. Riguardo il coinvolgimento extra-muscolare, la compromissione del SNC è il dato più originale, con rallentamento della conduzione centrale visiva ed acustica, significativamente prevalenti nel sesso maschile, ed atrofia della GM, senza prevalenze genere-correlate, con localizzazioni preferenziali frontali. Tali dati espandono la minore espressione della malattia nel genere femminile anche al coinvolgimento extra-muscolare, almeno per quanto riguarda il deficit funzionale osservato mediante i PE. I risultati della RMN ed il correlato deficit neuropsicologici restano però ancora privi di una chiara interpretazione. Pertanto, uno studio longitudinale e un ampliamento del campione sottoposto a RMN e test NPS, con un gruppo di controllo affetto da altre patologie neuromuscolari, appaiono auspicabili, per definire meglio la severità e

l'incidenza del coinvolgimento extramuscolare, la specificità dei risultati ottenuti alla RMN e le differenze genere-correlate nella FSHD.

## Bibliografia

1. FSH-Dy group. A prospective, quantitative study of natural history of facioscapulohumeral muscular dystrophy ( FSHD ) implications for therapeutic trials. *Neurology* 1997; 48:38-46
2. Lunt PW. Report of 44<sup>th</sup> ENMC international workshop: facioscapulohumeral muscular dystrophy: molecular studies, July 19-21, 1996, Naarden, The Netherlands. *Neuromusc. Disord* 1998; 8:126-130
3. Orrell RW, Tawil R, Forrester J, Kissel J.T, Mendell J.R, and Fliglewicz D.A. Definitive molecular diagnosis of facioscapulohumeral dystrophy. *Neurology* 1999; 52:1822-1826
4. Awerbuch G.I, Nigro M.A, Wishnow R : Beevor's sign and facioscapulohumeral dystrophy. *Arch Neurol* 1990; 47: 1208
5. Padberg,G.W. (1982 ) Facioscapulohumeral disease. Thesis, Leiden University
6. Griggs RC, Tawil R, Storvick D, Mendell JR, Altherr MR. Genetics of facioscapulohumeral muscular dystrophy: new mutation in sporadic cases. *Neurology* 1993; 43:2369-2372
7. Van Wijngaarden G.K., and Bethlem J., The facioscapulohumeral syndrome. In *clinical studies in myology* (ed. B.A. Kakulas), pp.498-501. Excerpta Medica. Amsterdam
8. Padberg G.W., Brouwer, O.F., de Keizeret et. Al.( 1995) . On the significance of retinal vascular disease and hearing loss in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Muscle Nerve* ,2, 73-80

9. Brouwer O.F., Padberg G.W., Ruys C.J., et al. (1991 ) Hearing loss in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neurology*, 41, 1878-1881
10. Fitzsimons RB, Gurwin EB and Bird A.C, (1987) Retinal vascular abnormalities in facioscapulohumeral dystrophy. A general association with genetic and therapeutic implications. *Brain*, 110, 631-648
11. Masanori Funakoshi, Kanako Goto, Kiichi Arahata (1998) Epilepsy and mental retardation in a subset of early onset 4q35\_Facioscapulohumeral Dystrophy. *Neurology* 1791-1794
12. de Visser M, de Voogt W.G. and La Riviere G.V.(1992) The heart in Becker muscular dystrophy, facioscapulohumeral muscular dystrophy, and Bethlem myopathy *Muscle nerve*, 15,591-596
13. Stevenson W.G. , Perloff, J.K., Weiss J.N., and Anderson T.L., (1990 ). Facioscapulohumeral muscular Dystrophy: evidence for selective, genetic electrophysiological cardiac involvement. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 15, 292-299
14. Fierro B., Daniele O., Aloisio A., Buffa D. Evoked potential study in facio-scapulo-humeral muscular dystrophy. *Acta Neurol Scand* 1997; 95: 346-350
15. Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali PA, Felicetti L, De Marco MBP, Saturno E, Pilato F, Pescatori M, Dileone M, Pasqualetti P, Ricci E. Changes in motor cortex excitability in facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromusc Disord* 2004; 14: 39-45

16. Sarfarazi M., Wijmenga C., Upadhyaya M., et al. (1992 )  
Regional mapping of facioscapulohumeral muscular dystrophy gene on 4q35: combined analysis of an international consortium. *Am J. Hum. Genet.*, 51, 396-403
17. Wijmenga C, Hewitt JE, Sandkuijl LA et al.  
(1992). Chromosome 4q DNA rearrangements associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Nat. Genet.*, 2, 26-30.
18. Passos-Bueno MR, et al. No evidence of genetic heterogeneity in Brazilian facioscapulohumeral muscular dystrophy families (FSHD) with 4q markers. *Hum Mol Genet.* 1993 May; 2(5): 557-562
19. Winokur ST, Bengtsson U, Feddersen J et al: The DNA rearrangement associated with facioscapulohumeral muscular dystrophy involves a heterochromatin-associated repetitive element: implications for a role of chromatin structure in the pathogenesis of disease *Chromosome Res.* 1994 may; 2(3): 225-234
20. Deidda G., Cacurri S., Piazzo N and Felicetti L. (1996) Direct detection of 4q35 rearrangements implicated in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *J. Med. Genet.* 33. 361-365
21. Weiffenbach B, Dubois J, Storvick D et al. Mapping the facioscapulohumeral muscular dystrophy gene is complicated by chromosome 4q35 recombination events. *Nat. Genet.* 1993; 4:165-169

22. Rijkers T, Deidda G, van Koningsbruggen S, van Geel M, Lemmers RJ, van Deutekom JC, Figlewicz D, Hewitt JE, Padberg GW, Frants RR, van der Maarel SM. FRG2, an FSHD candidate gene, is transcriptionally upregulated in differentiating primary myoblast cultures of FSHD patients. *J Med Genet.* 2004;41: (11): 826-36.
23. Gabellini D, Green M., Tupler R. (2002) Inappropriate Gene Activation in FSHD: A Repressor Complex Binds a Chromosomal Repeat deleted in Dystrophic Muscle. *Cell: Vol 110, 339-348.*
24. Goto K, Lee JH, Matsuda et al. (1995) DNA rearrangements in Japanese facioscapulohumeral muscular dystrophy patients: clinical correlations. *Neuromusc. Disord.*, 5, 201-208
25. Tonini MMO, Passos-Bueno MR, Cerqueira A, Matioli SR, Ravello R, Zatz M. Asymptomatic carriers and gender differences in facioscapulohumeral muscular dystrophy (FSHD). *Neuromusc Disord* 14 (2004), 33-38.
26. Zatz M, Marie SK, Passos Bueno MR et al (1995). High proportion of new mutations and possible anticipation in Brazilian facioscapulohumeral muscular dystrophy families. *Am.J.Hum.Genet.*, 56, 99-105
27. Ricci E., Galluzzi G., Deidda G., Cacurri S., Colantoni L., Merico B., Progress in the molecular diagnosis of facioscapulohumeral muscular Dystrophy and correlation between the number of KpnI repeats at the 4q35 locus and clinical phenotype. *Ann Neurol* 1999; 45: 751-757

28. Alfano B, Brunetti A, Covelli EM, Quarantelli M, Panico MR, Ciarmiello A, Salvatore M. (1997): Unsupervised, automated segmentation of the normal brain using a multispectral relaxometric magnetic resonance approach. *Magn Reson Med* 37(1):84-93
29. Spinnler H, Tognoni G. Standardizzazione e taratura italiana di test neuropsicologici. *It J Neurol Sci* 1987, 6 (S8): 21-120
30. Barbarotto R, Laiacona M, Frosio R, Vecchio M, Farinato A, Capitani E. A normative study on visual reaction times and two Stroop colour-word tests. *Ital J Neurol Sci* 1998; 19: 161-170
31. Rogers MT, Zhao F, Harper PS, Stephens D . Absence of hearing impairment in adult onset facioscapulohumeral muscular dystrophy. *Neuromusc Disorders* 2002, 12: 358
32. Mishra SK, Currier RD, Smith EE, Malhotra C, Bebin J, Hudson JM. Facioscapulohumeral dystrophy associated with multiple sclerosis. *Arch Neurol* 1984;41(5):570-571.
33. Ball JA, Ghatei MA, Sekiya K, Krausz T, Bloom SR. Diazepam binding inhibitor-like immunoreactivity (51-70): distribution in human brain, spinal cord and peripheral tissues. *Brain Res* 1989;479(2):300-305.

## Tabella 1

---

Scala di severità clinica
---------------------------

la forza muscolare è valutata secondo la Manual Muscle Testing Scale

---

- 0.5 Deficit isolato dei muscoli mimici
  - 1 Lieve ipostenia del cingolo scapolare con possibile assenza di sintomi soggettivi
  - 1.5 Moderato coinvolgimento scapolo-omerale
  - 2 Severo deficit muscoli scapolari
  - 2.5 Ipostenia dei muscoli distali dell'arto inferiore
  - 3 Lieve ipostenia del cingolo pelvico
  - 3.5 Moderata ipostenia del cingolo pelvico
  - 4 Grave ipostenia del cingolo pelvico
  - 4.5 Necessità di sostegno o ausilio per la deambulazione
  - 5 Confinamento in sedia a rotelle
-

## Tabella 2

Correlazioni genetico-cliniche

<b>Score clinico</b>	$r = -.18, p = 0.06$	<b>Lunghezza EcoRI</b>
<b>Score clinico</b>	$r = -.39, p < 0.0001$	<b>Età d'esordio</b>
<b>Score clinico</b>	$r = .77, p < 0.0000$	<b>Durata malattia</b>
<b>Score clinico</b>	$r = .30, p < 0.005$	<b>Età</b>
<b>Età d'esordio</b>	n.s.	<b>Lunghezza EcoRI</b>

### Tabella 3

Anormalità riscontrate ai BAEP

<b>Latenza anormale</b>	<b>N° pazienti</b>	<b>Orecchio</b>	<b>Media</b>	<b>v.n.</b>
I picco	3	D	2.35	1.7±0.18
II picco	5	D	3.25	2.7±0.13
III picco	4	D	4.34	3.7±0.18
IV picco	1	D	6.41	4.9±0.24
V picco	5	D	6.4	5.6±0.21
Intervallo I-III	4	D	2.65	2±0.14
Intervallo I-V	4	D	4.59	3.9±0.21
Intervallo III-V	5	D	2.53	1.9±0.12
I picco	1	S	-	1.7±0.19
II picco	2	S	3.36	2.7±0.19
III picco	5	S	4.29	3.7±0.14
IV picco	2	S	5.63	4.9±0.18
V picco	6	S	6.39	5.5±0.18
Intervallo I-III	5	S	2.62	2±0.16
Intervallo I-V	4	S	4.77	3.8±0.23
Intervallo III-V	3	S	2.37	1.7±0.15

Figura 1

Regressione multipla lineare (variabile dipendente score clinico, variabili indipendenti durata di malattia e lunghezza del frammento EcoRI, R 0.70 e R2 0.49 rispettivamente)

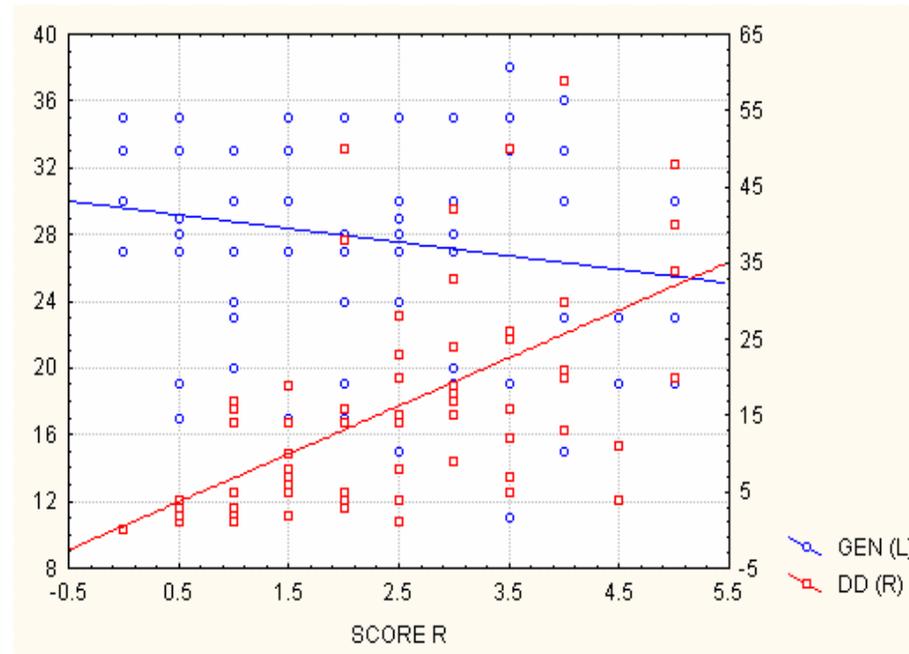


Figura 2

La penetranza della malattia era del 100% nei soggetti con un frammento EcoRI minore di 27 kb e diminuiva all'80 % in quelli con un frammento di 27 kb o più.

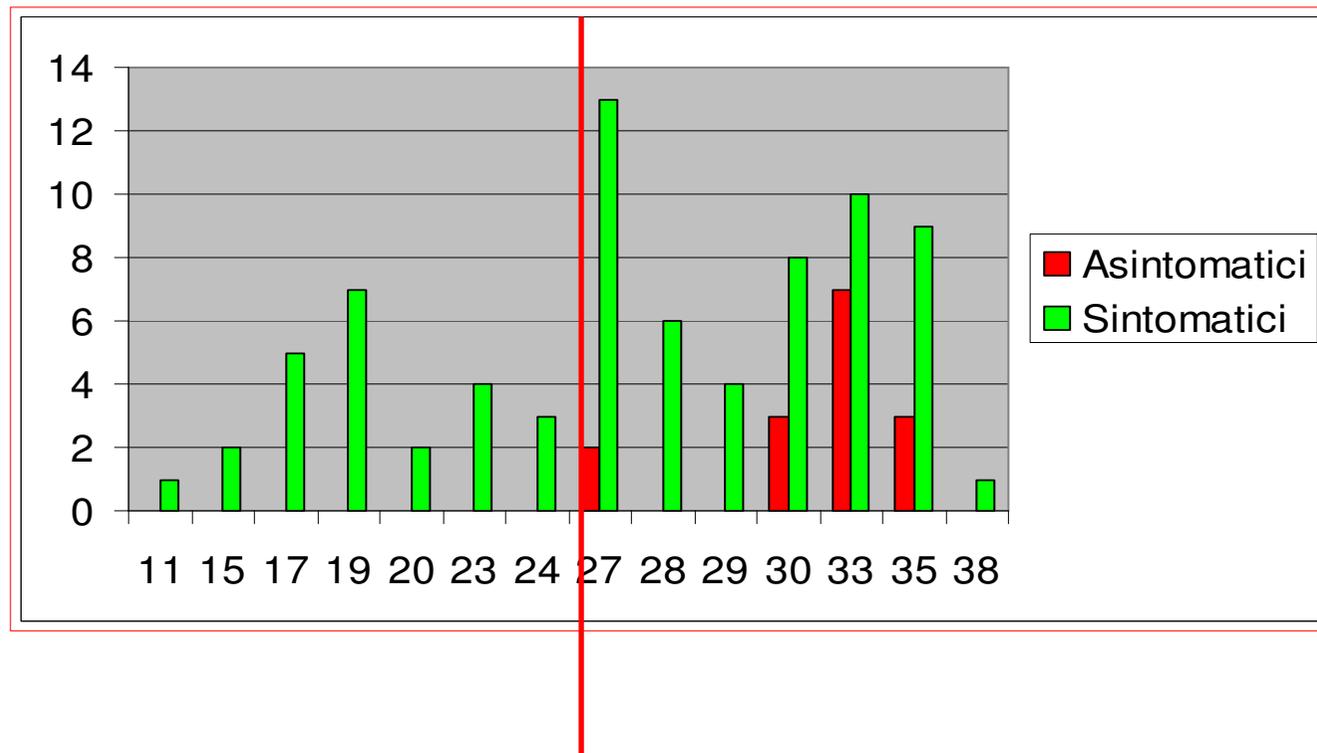


Figura 3

Immagine fluorangiografica di un paziente con  
sindrome simil-Coats

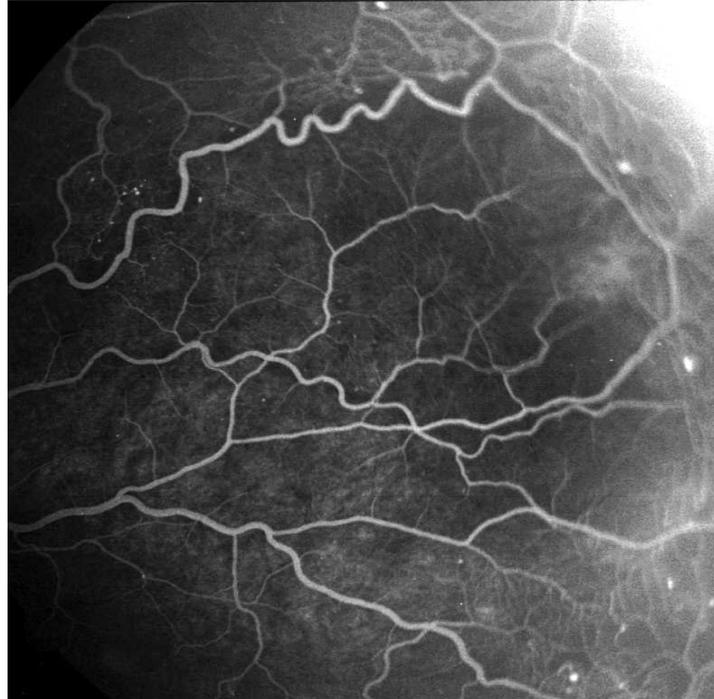


Figura 4

Immagine fluorangiografica di un paziente con  
atrofia dell'epitelio del polo posteriore

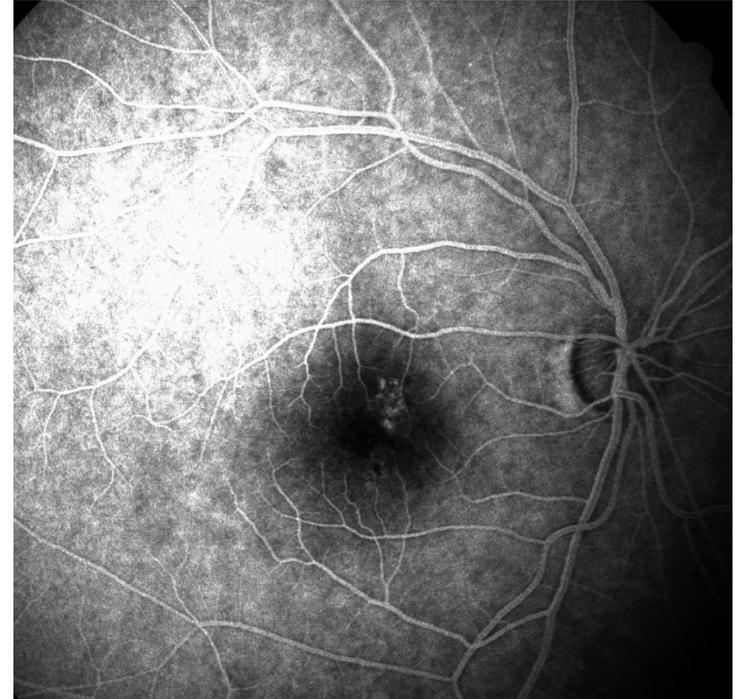
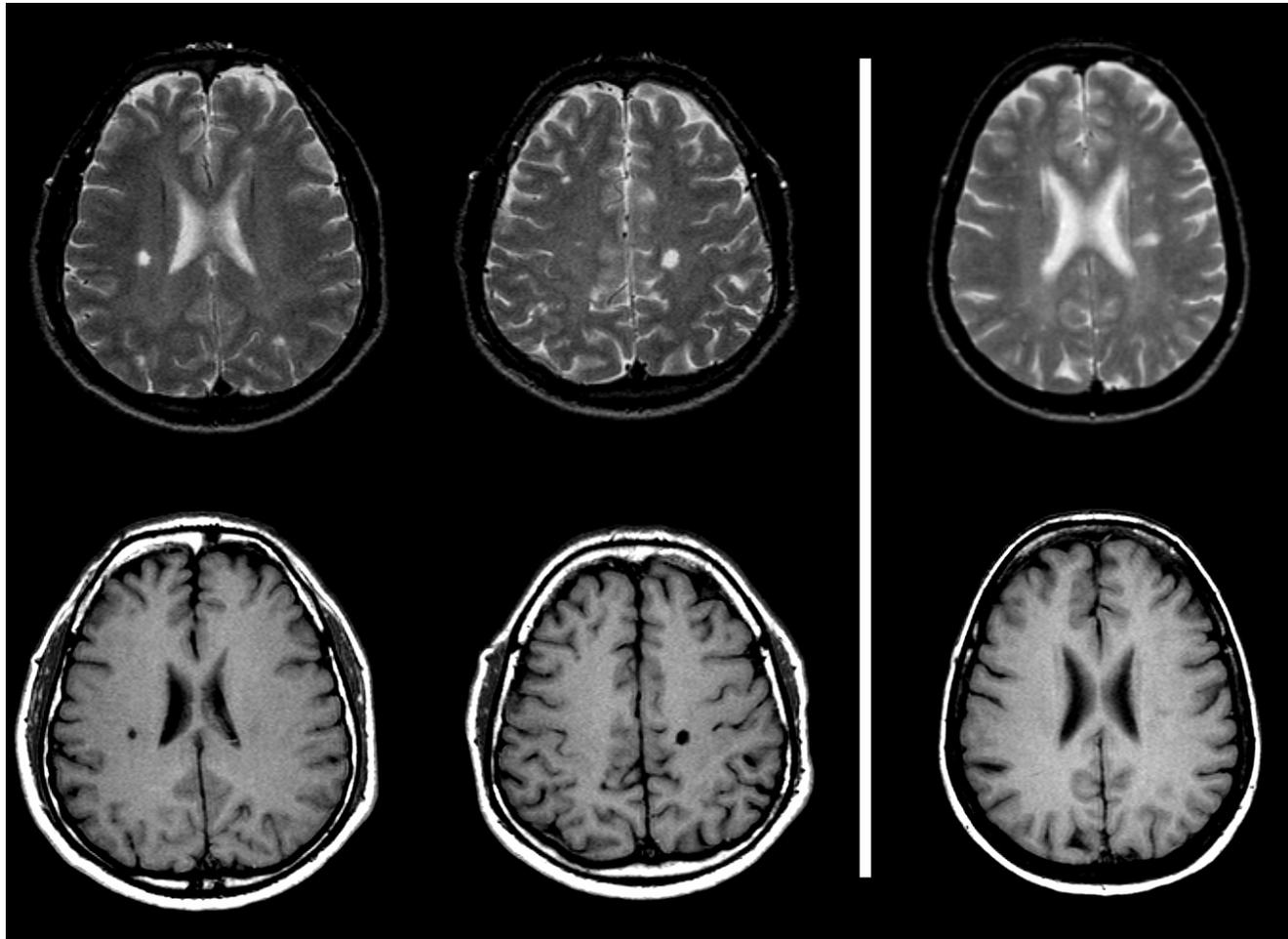
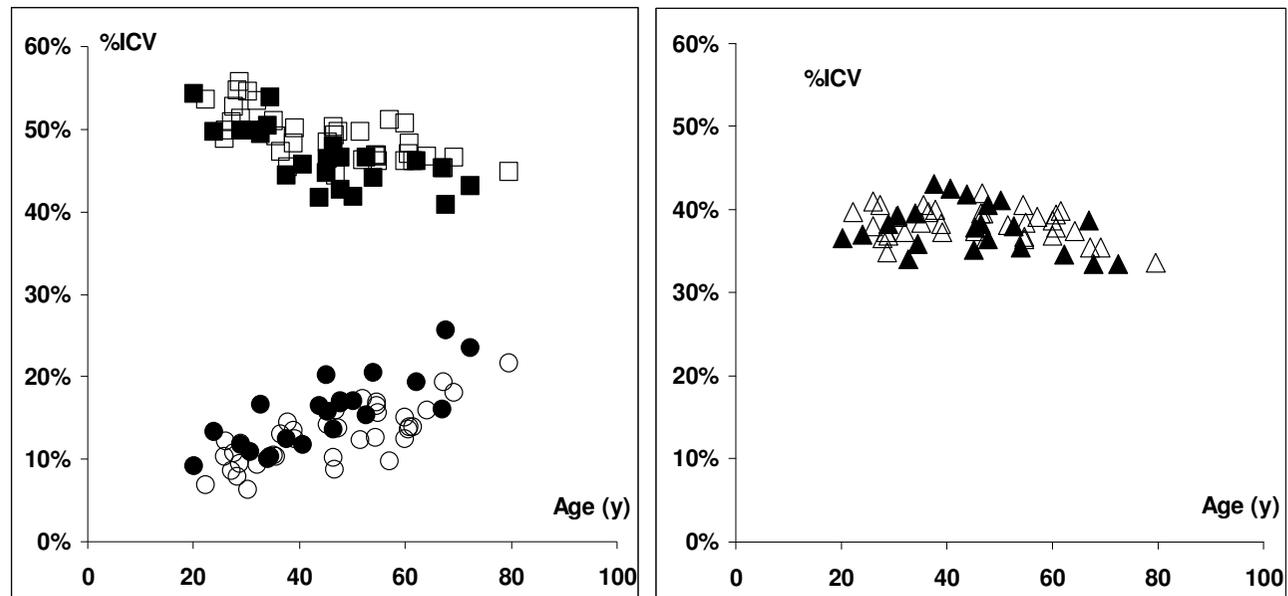


Figura 5



Immagini selezionate da due pazienti FSHD con lesioni della WM, in T2 ( sopra) e T1 (sotto). A sinistra un paziente con lesioni piccole e ben definite, ipointense in T1 ( “buchi neri”). A destra un paziente con lesioni scarsamente definite, solo poco ipointense in T1

Figura 6



Distribuzione dei volumi di GM (quadrati, pannello sinistro), CSF (cerchi, pannello sinistro) e WM (triangoli, pannello destro), dopo normalizzazione per ICV, in soggetti normali (segni vuoti) e pazienti FSHD (segni pieni), verso l'età. Si apprezzano i cambiamenti età-correlati di GM e CSF, come anche la riduzione di volume della GM e l'aumento del CSF nella FSHD.

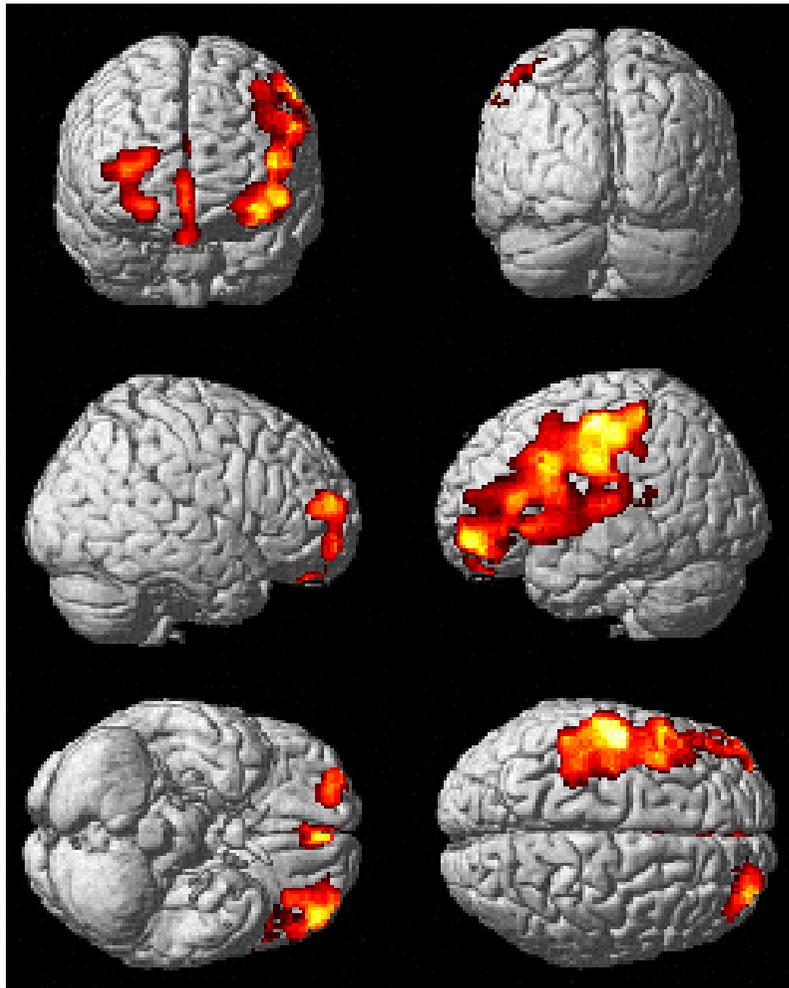


Figura 7

Aree di significativa riduzione della GM all'analisi VBM nei pazienti FSHD ( $p < 0.05$ ). Significativi clusters di perdita di GM sono presenti nelle aree corticali perirolandica e frontale dorso-laterale sinistra, nella regione fronto-polare destra e nel giro cingolato anteriore.