

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI PARMA

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

Dipartimento di Scienze Cliniche

Sezione di Clinica Pneumologica

DOTTORATO DI RICERCA IN FISIOPATOLOGIA

RESPIRATORIA SPERIMENTALE

XXIII CICLO

**Litio e funzionalità polmonare nei pazienti
affetti da Sclerosi Laterale Amiotrofica(SLA)**

Coordinatore: Chiar.mo Prof. Emilio Marangio

Tutor: Chiar.mo. Prof.ssa. Marina Aiello

Dottoranda: Dott.ssa. Patricia Carolina Guller

INDICE

Riassunto.....	Pag. 4
Introduzione.....	Pag. 10
• Definizione	Pag. 11
• Anatomia patologica	Pag. 11
• Manifestazioni cliniche	Pag. 12
• Epidemiologia	Pag. 14
• Diagnosi differenziale	Pag. 15
• Patogenesi	Pag. 17
• Fisiopatologia dei muscoli respiratori	Pag. 18
• Terapia	Pag. 21

Contributo sperimentale

Ruolo del litio.....Pag.23

Scopo dello studio.....Pag.26

Materiali e metodi.....Pag.28

- **Soggetti** **Pag.29**

- **Misurazioni** **Pag.32**

- **Analisi statistica** **Pag.33**

Risultati.....Pag.35

Discussione.....Pag.39

Conclusioni.....Pag.42

Tabelle.....Pag.44

Grafici.....Pag.46

Bibliografia.....Pag.50

RIASSUNTO

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è la forma più comune di malattia progressiva del motoneurone. Rappresenta un esempio paradigmatico di malattia neurodegenerativa e può essere considerata la più devastante di tali patologie.

Le manifestazioni cliniche della SLA sono variabili, essendo correlate al premiante interessamento del primo o secondo motoneurone. Un precoce interessamento dei muscoli respiratori può condurre alla morte prima che la malattia sia avanzata in altri distretti. La malattia è inesorabilmente progressiva e porta alla morte per paralisi respiratoria. La sopravvivenza media varia dai 3 ai 5 anni. Nelle maggior parte delle popolazione la malattia ha un'incidenza di 1-3 casi per 100 000/anno, con una prevalenza di 3-5 casi per 100 000. Alcuni focolai endemici con alta prevalenza sono stati descritti nel Pacifico occidentale (es., in specifiche regioni di Guam e della Papua Nuova Guinea). Negli Stati Uniti e in Europa i maschi sono più colpiti rispetto alle femmine. Anche se la SLA è nella stragrande maggioranza una malattia sporadica, nel 5-10% dei casi si può osservare una forma familiare con trasmissione autosomica dominante.

Il presente lavoro è stato realizzato secondo le modalità di uno studio prospettico, controllato, condotto per gruppi paralleli in cieco semplice.

Sono stati arruolati 21 pazienti affetti da SLA divisi in due gruppi, 11 pazienti affetti da SLA trattati con Litio e 10 pazienti SLA di controllo.

Tutti i pazienti sono stati seguiti per un periodo di 15 mesi e valutati ad intervalli di 3 mesi (tempo 0 e a 3, 6, 9, 12 e 15 mesi).

Ad ogni controllo sono stati misurati:

- Capacità Vitale (VC, % pred), in clinostatismo e in ortostatismo;
- Massima Pressione Inspiratoria (MIP, cmH₂O);
- Massima Pressione Espiratoria (MEP, cmH₂O);
- Picco di flusso durante la tosse (Cough Peak Flow , L/sec).

Ad ogni controllo venivano anche monitorizzati la litiemia, gli ormoni tiroidei e la funzionalità epatica.

Il presente lavoro è stato uno studio ancillare, parte di uno studio multicentrico nazionale eseguito in 22 centri, e finalizzato in particolare alla valutazione della funzione respiratoria. Tutti i pazienti partecipanti alla sperimentazione hanno fornito un consenso informato e sottoscritto, ed il protocollo è stato approvato dal locale Comitato Etico.

Tutti i pazienti sono stati selezionati presso l'U.O. di Clinica Pneumologica, Dipartimento di Scienze Cliniche, Ambulatorio dei Muscoli Respiratori, Ospedale Rasori di Parma.

Criteri di inclusione:

- a. SLA definita, probabile o probabile con supporto di laboratorio secondo i criteri di El Escorial rivisti
- b. età tra 18 e 75 anni;
- c. durata di malattia inferiore a 36 mesi;
- d. progressione di malattia documentata negli ultimi 3 mesi;
- e. pazienti in grado di comprendere e aderire a quanto richiesto dal protocollo dello studio e fornire consenso informato scritto.
- f. pazienti in trattamento con riluzolo con dose stabilizzata di 50 mg due volte al giorno da almeno due mesi.

Criteri di esclusione (la presenza di uno dei seguenti criteri è motivo di esclusione dallo studio):

- a. pregressa infezione poliomielitica;

- b. malattie del motoneurone diverse dalla SLA (paralisi bulbare progressiva, atrofia muscolare progressiva, sclerosi laterale primaria);
- c. coinvolgimento clinico di altri sistemi neurologici (sensoriale, extrapiramidale, oculomotore, cerebellare, vegetativo);
- d. gravi condizioni cliniche internistiche, come malattie cardiovascolari, ipertensione arteriosa, insufficienza renale o epatica, distiroidismo;
- e. creatininemia $>1,6$ mg/dl;
- f. pregresse malattie cardiovascolari, cerebrovascolari o pregressi disturbi circolatori periferici;
- g. neoplasie maligne;
- h. grave deterioramento mentale;
- i. scarsa compliance con pregressi trattamenti;
- j. donne in gravidanza o allattamento o che nel corso dello studio possano diventare gravide.

I valori dei risultati sono stati espressi come media \pm deviazione standard. La distribuzione delle variabili è stata valutata con il test di Kolmogorov Smirnov. Le differenze di base tra i due gruppi e tra le varie misure nello stesso gruppo sono state valutate rispettivamente con il test *t* di Student per dati non appaiati e con l'analisi della varianza per misure ripetute. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato come significativo.

Il gruppo di pazienti trattati con il litio era composto da 11 pazienti affetti da SLA (di cui quattro donne), di età media di 66 ± 8 anni e con BMI 25 ± 3 kg/m². All'interno di questo gruppo non tutti i pazienti hanno concluso lo studio. Infatti due pazienti sono deceduti, al 13° e al 14° mese ed un paziente è stato tracheostomizzato al 12° mese. Un dodicesimo paziente, assegnato al gruppo dei pazienti trattati, ha presentato, immediatamente dopo l'inizio della terapia, un'alterazione dell'assetto ormonale tiroideo (ipertiroidismo) senza manifestazioni cliniche. Tale alterazione è

regredita dopo sospensione del farmaco, ma ha comportato l'esclusione del paziente dallo studio. Tre pazienti trattati hanno accusato la comparsa di crampi muscolari, regrediti con terapia sintomatica. Il gruppo di controllo era composto da 10 pazienti affetti da SLA (di cui 6 donne), di età media di 71 ± 13 anni con BMI 22 ± 4 kg/m². Nel gruppo di controllo 5 pazienti non hanno completato lo studio. Tre di questi sono deceduti, due al 10° mese e uno al 13° mese. Gli altri due pazienti non hanno eseguito il 4° e 5° controllo ambulatoriale perché immobilizzati a letto.

Entrambi i gruppi hanno proseguito lungo tutta la durata dello studio la terapia con riluzolo. Non sono risultate differenze significative tra i due gruppi relativamente alle condizioni antropometriche e clinico-funzionali di base .

Nei pazienti trattati con Litio il valore medio di CV basale in clinostatismo è risultato del 79 ± 21 % del teorico; nell'ultimo controllo eseguito a 15 mesi tale valore si è ridotto a 60 ± 30 % del teorico. Il calo della CV è stato progressivo per tutti e 15 mesi con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo (corrispondente al 9° mese) con valore medio di CV pari a 59 ± 26 % del teorico. Il valore basale medio dello stesso parametro, considerato nel gruppo di controllo, è stato di 81 ± 10 % del teorico; all'ultimo controllo tale valore è passato a 55 ± 27 % del teorico con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo con valore medio pari a 55 ± 23 % del teorico. Il valore medio di CV in ortostatismo nei pazienti trattati con litio in condizioni basali è stato di 85 ± 21 % del teorico; all'ultimo controllo è passato a 56 ± 26 % del teorico con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,05$) al 9° mese con valori di 63 ± 23 % del teorico. Il valore medio basale dello stesso parametro considerato nei soggetti di controllo è stato di 81 ± 10 % del teorico, che all'ultimo controllo è passato a 60 ± 26 % del teorico con riduzione statisticamente significativa al 9° mese con valori di 62 ± 23 % del teorico ($p < 0,01$) .

Nei pazienti trattati con litio il valore basale medio di MIP è stato di 59 ± 29 cmH₂O; all'ultimo controllo tale valore è passato a 36 ± 29 % cmH₂O con riduzione statisticamente significativa

($p < 0,05$) al 2° controllo (corrispondente al 6° mese) con valori di 36 ± 24 cmH₂O. Lo stesso parametro considerato nel gruppo di controllo è risultato con valore basale pari a 47 ± 19 cmH₂O; all'ultimo controllo tale valore è passato a 34 ± 20 cmH₂O con riduzione statisticamente significativa al 2° controllo con valori pari a 34 ± 20 cmH₂O.

Il valore medio basale della MEP nei pazienti trattati con litio è stato di 69 ± 34 cmH₂O; all'ultimo controllo è passato a 27 ± 20 cmH₂O con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 2° controllo con valore medio di 3827 cmH₂O. Lo stesso valore medio basale valutato nei soggetti di controllo è stato di 56 ± 28 cmH₂O; nell'ultimo controllo il valore è passato a 27 ± 18 cmH₂O con riduzione statisticamente significativa al 2° controllo con valore pari a 36 ± 28 cmH₂O.

Il valore medio basale del CPF nei pazienti trattati con litio è stato di 6 ± 2 L/sec; all'ultimo controllo tale valore è passato a $4,03 \pm 3$ L/sec con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo (corrispondente al 9° mese) con valori di 4 ± 2 L/sec. Lo stesso valore medio basale considerato nel gruppo di controllo è stato pari a 6 ± 2 L/sec; all'ultimo controllo è passato a $4,42 \pm 3,1$ L/sec con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo con valori pari a 4 ± 2 L/sec .

Conclusioni:

- Lo studio dimostra che la terapia con litio nei pazienti affetti da SLA dopo 15 mesi di trattamento, non è stata efficace nel rallentare o arrestare il declino della funzionalità respiratoria, forza dei muscoli respiratori ed efficacia della tosse.
- Lo studio inoltre, dimostra che il farmaco non è stato ben tollerato

INTRODUZIONE

La sclerosi laterale amiotrofica (SLA) è la forma più comune di malattia progressiva del motoneurone. Rappresenta un esempio paradigmatico di malattia neurodegenerativa e può essere considerata la più devastante di tali patologie.

Anatomia patologica. La caratteristica anatomopatologica delle malattie degenerative del motoneurone è la morte del secondo motoneurone (ovvero la cellula della corna anteriore del midollo spinale e la sua omologa a livello del tronco encefalico che innerva i muscoli bulbari) e del primo motoneurone, il neurone della via corticospinale (che origina dal V strato della corteccia motoria e discende a contrarre sinapsi con il secondo motoneurone in modo diretto o indiretto con l'interposizione dei interneuroni). Sebbene all'esordio la SLA possa causare una perdita selettiva di funzione del solo primo o secondo motoneurone, alla fine porta inesorabilmente alla perdita progressiva di entrambe le categorie di motoneuroni. Infatti, la diagnosi di SLA è discutibile in assenza di un chiaro coinvolgimento sia del primo sia del secondo motoneurone.

Altre malattie del motoneurone coinvolgono solo particolari sottopopolazioni di motoneuroni.

Nella paralisi bulbare e nella atrofia muscolare spinale, sono più colpiti rispettivamente il secondo motoneurone del tronco e del midollo spinale. Al contrario la paralisi pseudo bulbare, la sclerosi laterale primaria (SLP) e la paraplegia spastica familiare (PSF) coinvolgono selettivamente il primo motoneurone del tronco e del midollo spinale.

In ciascuna delle suddette patologie i motoneuroni affetti subbiscono un raggrinzimento, spesso con accumulo di pigmenti lipidici (lipofuscina) che in condizioni fisiologiche si formano in queste cellule con il processo di invecchiamento. Nella SLA è tipico un coinvolgimento precoce del citoscheletro del motoneurone. È frequente il reperto di ingrandimento focale degli assoni a livello prossimale; dal punto di vista ultrastrutturale, questi "sferoidi" sono costituiti da un accumulo di neuro filamenti. È possibile riscontrare una proliferazione di astroglia e microglia, che accompagna inevitabilmente tutte le patologie degenerative del sistema nervoso centrale (SNC).

La morte del neurone periferico nel tronco encefalico e nel midollo spinale causa denervazione con conseguente atrofia delle fibre muscolari corrispondenti. I dati istochimici ed elettrofisiologici indicano che nelle fasi precoci della malattia i muscoli denervati possono essere rinervati dal processo di proliferazione da parte della porzione distale delle terminazioni nervose motorie vicine, appartenente a un motoneurone risparmiato (sprouting collaterale) sebbene il processo di reinnervazione in questa patologia sia notevolmente meno stesso che nella maggior parte delle malattie del motoneurone (es. poliomielite e le neuropatie periferiche). Con il progredire della denervazione l'atrofia muscolare diventa facilmente riconoscibile all'esame obiettivo e alle biopsie muscolari. Tale atrofia muscolare viene identificata con il termine *amiotrofia neurogena*.

La perdita dei motoneuroni corticali conduce a un assottigliamento della via corticospinale che attraversa la capsula interna e il tronco encefalico fino alle colonne anteriori e laterali del midollo spinale. La perdita delle fibre delle colonne laterali e della conseguente gliosi fibrillare conferiscono una particolare consistenza (sclerosi laterale). Una caratteristica specifica della malattia è la morte neuronale selettiva. Alla microscopia ottica si osserva un risparmio completo delle componenti sensitive, dei sistemi che controllano la coordinazione dei movimenti delle componenti cerebrali necessarie alle funzioni cognitive.

Tuttavia impiegando tecniche di immunoistochimica, si è rivelato che i neuroni contenenti ubiquitina, un indicatore di degenerazione neuronale, sono presenti nei sistemi anche non motori. Inoltre studi sul metabolismo del glucosio hanno dimostrato che nella malattia vi è una disfunzione anche al di fuori del sistema motorio. Anche l'interessamento all'interno del sistema motorio risponde a criteri di selettività. I motoneuroni che controllano la motilità oculare non sono mai interessati, così come i neuroni parasimpatici localizzati nel midollo sacrale che innervano gli sfinteri intestinale e vescicale.

Manifestazioni cliniche. Le manifestazioni cliniche della SLA sono variabili, essendo correlate al premiale interessamento del primo o secondo motoneurone. In seguito all'interessamento del

secondo motoneurone e della conseguente precoce denervazione, la prima manifestazione della malattia consiste in un' insidiosa ipostenia che insorge asimmetricamente ed usualmente più evidente nella porzione distale dell'arto. Una anamnesi dettagliata può spesso rilevare una recente comparsa di crampi durante i movimenti volontari tipicamente presenti nelle prime ore del mattino(mentre ci si stira nel letto). La debolezza muscolare causata dalla denervazione si associa a una progressiva atrofia muscolare, specialmente nelle fasi precoci della malattia, a contrazioni spontanee dell'unità motoria o fascicolazioni.

A livello delle mani è comune una prevalenza dell' ipostenia dei muscoli estensori rispetto ai flessori. Quando la denervazione iniziale interessa i muscoli a innervazione bulbare anziché i muscoli degli arti, i primi sintomi consistono in difficoltà nella masticazione, nella deglutizione e nei movimenti della faccia e della lingua. Un precoce interessamento dei muscoli respiratori può condurre alla morte prima che la malattia sia avanzata in altri distretti. Quando prevale l'interessamento corticospinale, si osserva iperattività dei riflessi osteotendinei (ROT), spesso con ipertono spastico alla mobilizzazione passiva degli arti interessati. I pazienti con iperattività dei riflessi presentano spesso una rigidità sproporzionata rispetto all'ipostenia. Il coinvolgimento delle proiezioni corticobulbari si manifesta con disartria e con esagerazione della risposta motoria a stimoli emotivi. Quest' ultima porta a fenomeni di pianto e riso involontari(la cosiddetta disfunzione pseudobulbare).

In teoria qualsiasi gruppo muscolare può manifestare per primo i segni della malattia, ma con il passare del tempo sempre più muscoli vengono interessati, finché la malattia raggiunge una distribuzione diffusamente simmetrica. È caratteristico della SLA che, indipendentemente dall'interessamento iniziale del primo o del secondo motoneurone, alla fine entrambi vengano interessati. Anche nelle fasi tardive della malattia, le funzioni sensitive e cognitive, così come il controllo della minzione e della defecazione, sono conservate. Nei casi in cui vi è un grave interessamento del tronco encefalico, la motilità oculare è comunque risparmiata fino alle fasi più avanzate della malattia. La demenza non rappresenta in genere una componente della SLA

sporadica. In alcune famiglie la SLA è ereditaria, in associazione con la demenza frontotemporale ed è caratterizzata da precoci disturbi del comportamento con caratteristiche di un disturbo di tipo frontale.

Una commissione della *World Federation of Neurology* ha tracciato le linee guida per la diagnosi di SLA.

Essenziale per la diagnosi è l'interessamento simultaneo del primo e del secondo motoneurone con ipostenia progressiva e l'esclusione di tutte le possibili alternative. Il disturbo è classificato come "SLA definita" quando tre delle seguenti sedi di malattia sono coinvolte: motoneuroni bulbari, cervicali, toracici e lombosacrali. Quando due delle suddette sedi sono interessate, la diagnosi è di malattia "probabile" e quando l'interessamento è ridotto a una sola sede la diagnosi di malattia è "possibile". Unica eccezione sono i casi in cui si riscontrano segni di coinvolgimento progressivo del primo e del secondo motoneurone in una sola sede e una mutazione del gene della superossido dismutasi(SOD1).

Epidemiologia. La malattia è inesorabilmente progressiva e porta alla morte per paralisi respiratoria. La sopravvivenza media varia dai 3 ai 5 anni. Tuttavia, sono stati descritti rarissimi casi di stabilizzazione o persino di regressione della SLA. Nelle maggior parte delle popolazioni la malattia ha un'incidenza di 1-3 casi per 100 000/anno, con una prevalenza di 3-5 casi per 100 000. Alcuni focolai endemici con alta prevalenza sono stati descritti nel Pacifico occidentale (es., in specifiche regioni di Guam e della Papua Nuova Guinea). Negli Stati Uniti e in Europa i maschi sono più colpiti rispetto alle femmine. Anche se la SLA è nella stragrande maggioranza una malattia sporadica, nel 5-10% dei casi si può osservare una forma familiare con trasmissione autosomica dominante. Quest'ultima è clinicamente indistinguibile dalle forme sporadiche di SLA. Studi genetici hanno dimostrato una mutazione del gene che codifica per la superossido dismutasi citosolica legante rame e zinco(SOD1) come cause di una delle forme di SLA familiare. Tuttavia questa è solo responsabile del 20% delle forme familiari di SLA. Rari mutazioni in altri geni

sembrano essere implicate in malattie simili alla SLA. Una forma di malattia familiare con prevalente interessamento bulbare del secondo motoneurone è stata correlata a mutazioni del gene della proteina cellulare dinactina. Un'altra forma familiare con esordio in età adulta che può mimare la SLA è la sindrome di Kennedy, questo disturbo deriva da diverse mutazioni nei recettori per gli androgeni. Analisi di tipo genetico stanno anche chiarendo la patogenesi di alcune forme di malattia del motoneurone a esordio infantile. Per esempio, si è scoperto che una patologia degenerativa lentamente disabilitante, che interessa prevalentemente il primo motoneurone, a insorgenza nella prima decade di vita, causa di mutazione del gene che codifica per una molecola di segnale chiamata alsina, con funzione di fattore di scambio della guanina. In altri casi sono stati identificati cromosomi ma non i geni coinvolti nella patogenesi di malattie del motoneurone. La SLA familiare tipica è stata mappata sul cromosoma 16 e sul cromosoma 20 in molte famiglie, mentre la forma a insorgenza giovanile ed ereditarietà dominante è stata mappata sul braccio lungo del cromosoma 9.

Diagnosi differenziale. Poiché la SLA è attualmente incurabile, è necessario che siano escluse cause potenzialmente curabili di malattie del motoneurone. Questo è particolarmente vero nei casi che presentano caratteristiche atipiche, tra cui: 1) interessamento solo del primo o del secondo motoneurone; 2) coinvolgimento di altri neuroni oltre ai neuroni motori; 3) presenza di un blocco di conduzione nei neuroni motori rilevabile con test elettrofisiologici. La compressione del midollo spinale cervicale o della giunzione cranio cervicale, legata alla presenza di un tumore nella regione cervicale o a livello del forame magno, oppure a spondilosi cervicale con osteofiti che protrudono nel canale vertebrale, può provocare astenia, ipostenia, fascicolazioni agli arti superiori e spasticità agli arti inferiori, quadro clinico che somiglia notevolmente alla SLA. L'assenza di interessamento dei nervi cranici può essere utile nella diagnosi differenziale, benché alcune lesioni compressive del forame magno possano interessare anche il XII paio di nervi cranici (ipoglossi), con paralisi della lingua. L'assenza di dolore o di alterazioni sensitive, il normale controllo sfinteriale, normale

aspetto radiologico della colonna e l'assenza di alterazioni liquorali suggeriscono la diagnosi di SLA. Se persistono dubbi è opportuno procedere all'esecuzione di una risonanza magnetica (RM) o di una mielografia con mezzo di contrasto al fine di visualizzare il midollo spinale cervicale.

Un'altra importante entità che deve essere differenziata dalla SLA è la neuropatia multifocale con blocchi di conduzione.

Una neuropatia assonale diffusa che simula la SLA si osserva talvolta in associazione con malattie del sistema emopoietico (per es., linfoma). In questa condizione clinica la presenza all'elettroforesi sierica di una componente M deve indurre a eseguire una biopsia del midollo. Anche la malattia di Lyme può determinare una neuropatia motoria assonale.

Altre cause trattabili che occasionalmente possono mimare la SLA sono l'intossicazione cronica da piombo e la tireotossicosi. La diagnosi di queste patologie può essere suggerita dalle informazioni anamnestiche sull'attività lavorativa del paziente o da caratteristiche cliniche insolite. Quando la storia familiare è positiva, devono essere escluse alcune malattie enzimatiche ereditarie che coinvolgono geni che codificano per la SOD1, l'esosaminidasi A e l' α -glucosidasi. Questi disturbi possono essere rapidamente identificati mediante appropriati test di laboratorio. Le fascicolazioni benigne possono costituire occasionalmente una fonte di preoccupazione e assomigliare alle contrazioni fascicolari che accompagnano la degenerazione del motoneurone. La mancanza di ipostenia, atrofia o di segni di denervazione alla valutazione elettrofisiologica consentono generalmente di escludere la presenza di SLA o di altre patologie neurologiche gravi. Pazienti con poliomielite possono andare incontro a un deterioramento postumo tardivo dei motoneuroni che si manifesta clinicamente con debolezza ingravescente, atrofia e fascicolazioni. La patogenesi non è nota, ma si ritiene correlata alla espressione tardiva della primitiva lesione sub letale dei motoneuroni da parte del polio virus.

Seppur raramente, la SLA può manifestarsi in associazione con caratteristiche cliniche indicative di una degenerazione più diffusa. Per esempio, si possono osservare pazienti con SLA tipica associata a disturbi del movimento di tipo parkinsoniano o a demenza. Non è chiaro se ciò sia dovuto alla

comparsa simultanea di due differenti patologie o a una primitiva alterazione che innesca le due forme di neuro degenerazione. La seconda ipotesi è più probabile, dal momento che alcune malattie degenerative multisistemiche possono essere ereditate. Per esempio, l'amiotrofia è stata descritta come un disturbo ereditario dominante in soggetti con disturbi del movimento suggestivi di parkinsonismo e molti di questi casi vengono oggi correlati a mutazioni che alterano l'espressione cerebrale della proteina tau. In altri casi la SLA si sviluppa contemporaneamente a una franca demenza frontotemporale. Questi disturbi possono essere coereditati con trasmissione dominante; in alcune famiglie questo tratto è correlato a un locus sul cromosoma 9q, sebbene non sia ancora chiaro il difetto genetico sottostante.

Patogenesi. L'eziologia della SLA sporadica non è stata ancora ben definita. Molti dei meccanismi che riducono la vitalità del motoneurone sono comprese mediante studi condotti su topi e ratti indotti a sviluppare una malattia del motoneurone mediante transgeni SOD1 con mutazioni SLA-associate. È evidente che neurotrasmettitori eccitatori come il glutamato svolgono un ruolo nei processi di morte dei motoneuroni nella SLA. La morte neuronale può essere conseguenza di una ridotta captazione del glutamato a livello sinaptico da parte del trasportatore del glutamato astro gliale EAAT2. È interessante notare come una difesa cellulare contro l'eccitotossina come sia l'enzima SOD1, che detossifica il radicale libero superossido. La proteina mutante è conformazionalmente instabile ed è soggetta a reazioni catalitiche aberranti. Conseguentemente, queste caratteristiche portano ad aggregazione della proteina SOD1, perdita del trasporto assonale, ridotta produzione di ATP e altre perturbazioni della funzione mitocondriale, attivazione della ciclossigenasi nel midollo dei soggetti affetti da SLA e, in definitiva, induzione della morte cellulare. Studi recenti hanno avanzato l'ipotesi che varianti genetiche del gene per il fattore di crescita vascolare endoteliale (vascular endothelial factor, VEGF) che ne riducono l'espressione, aumentino il rischio di SLA; non è ancora stabilito se ciò sia dovuto all'ipossia del midollo spinale o alla riduzione dell'influenza neurotrofica.[1]

Fisiopatologia dei muscoli respiratori. Il diaframma e gli altri muscoli respiratori costituiscono la pompa ventilatoria, dalla quale dipende l'atto della respirazione. Nelle patologie neuromuscolari (come per esempio la SLA), la debolezza muscolare coinvolge i muscoli respiratori in maniera analoga o maggiore dei muscoli agli altri muscoli scheletrici. Il grado di debolezza dei muscoli degli arti non può essere utilizzato come un indice affidabile della presenza di danno della muscolatura respiratoria, in quanto la correlazione tra le due componenti muscolari potrebbe essere scarsa[2,3].

I *muscoli respiratori* vengono generalmente suddivisi in tre gruppi: *inspiratori principali* (diaframma e muscoli intercostali esterni), *inspiratori secondari* (scaleni, sternocleidomastoideo, piccolo e grande

Il *diaframma* è un muscolo piatto cupuliforme che separa la cavità toracica da quella addominale ed è costituito da una porzione muscolare periferica con fasci che convergono verso la parte centrale aponevrotica la quale ha una forma grossolanamente a trifoglio. Ha inserzioni posteriori a livello delle prime vertebre lombari, inserzioni costali sulla faccia mediale ed i margini superiori delle ultime sei coste, una inserzione sternale sulla faccia posteriore dell'appendice xifoidea. Presenta diversi orifizi attraverso i quali passano dal torace all'addome l'esofago, strutture vascolari (aorta, vena cava inferiore, vene azygos ed emiazygos, vasi toracici interni), il dotto toracico e strutture nervose (catene del simpatico, vago, nervi grandi e piccoli splancnici). È il muscolo respiratorio principale che contraendosi durante l'inspirazione si appiattisce vincendo la pressione positiva addominale; si verifica inoltre una elevazione delle coste inferiori per accorciamento delle fibre muscolari che si inseriscono a questo livello.

I *muscoli intercostali esterni* iniziano posteriormente a livello delle articolazioni costo-trasversarie ed anteriormente arrivano in prossimità del punto di passaggio fra porzione ossea e cartilaginea delle coste con inserzioni sul bordo inferiore della costa soprastante e sul bordo superiore della sottostante. Hanno direzione obliqua dall'alto in basso e dall'indietro in avanti e determinano un innalzamento delle coste.

I *muscoli scaleni* (anteriore, medio, posteriore) si inseriscono sui processi trasversi delle vertebre cervicali ed inferiormente sulla prima e seconda costa con azione di innalzamento inspiratorio esclusivamente con la modalità a leva di pompa.

Lo *sterno-cleido-mastoideo*, con inserzioni in alto sull'apofisi mastoidea ed in basso sullo sterno e sulla clavicola, oltre ad una azione di flessione e rotazione del capo interviene come elevatore del torace nella inspirazione forzata.

Il *piccolo dentato* si inserisce in alto sull'apice dei processi spinosi dell'ultima vertebra cervicale e delle prime tre vertebre toraciche ed in basso sulla faccia esterna della II, III, IV, V costa che vengono quindi innalzate quando si contrae.

Il *grande dentato* che si inserisce sulla faccia esterna delle prime nove-dieci coste e sul margine vertebrale della scapola ha anch'esso un'azione di innalzamento delle coste.

Il *grande pettorale* è un voluminoso muscolo triangolare situato nella parte anteriore del torace dove si inserisce medialmente a varie strutture (due terzi anteriori della clavicola, faccia anteriore dello sterno, faccia anteriore delle prime sei cartilagini costali, aponeurosi del retto addominale) e lateralmente al solco bicipitale dell'omero.

Se il punto di inserzione fissa è in questa sede determina un innalzamento delle coste.

Il muscolo *piccolo pettorale*, situato al di sotto del grande pettorale, prende origine sulla faccia esterna della III, IV, V costa e sale per inserirsi sul margine mediale del processo coracoideo della scapola con azione di innalzamento delle coste.

Gli *intercostali interni* con un decorso dall'alto al basso e dall'avanti all'indietro si inseriscono sulla faccia interna e sul bordo inferiore della costa sovrastante e sul margine superiore della sottostante ed hanno un'azione di abbassamento delle coste con meccanismo a «leva di pompa» e quindi sono implicati soprattutto nella fase espiratoria quando la respirazione è di tipo costale superiore.

I *muscoli addominali* (trasverso, piccolo obliquo, grande obliquo) quando si contraggono provocano un restringimento della parete addominale con conseguente pressione sui visceri addominali, che sospingono il diaframma verso l'alto, ed abbassamento degli archi costali inferiori; hanno un'azione determinante soprattutto nell'ambito dell'antagonismo addomino-diaframmatico nella voce proiettata e nel canto. Il grande retto, invece, abbassa il torace con meccanismo a «leva di pompa» ed è flessore del tronco: interviene soprattutto nella voce di pericolo e nelle condizioni di sforzo vocale[4]

I sintomi respiratori nei pazienti affetti da SLA possono essere inizialmente minimi per la presenza di una ampia riserva intrinseca del sistema respiratorio. Il coinvolgimento respiratorio può essere spesso mascherato dal fatto che i paziente con debolezza muscolare, spontaneamente, riducono il loro grado generale di attività, riducendo quindi il carico fisiologico affrontato quotidianamente dal sistema respiratorio.

Non è raro che la pressione prodotta dai muscoli respiratori si riduca oltre il 50% prima che si verifichi una riduzione della capacità vitale (CV).

Allo stesso modo, l'ipercapnia non è presente nella maggior parte delle patologie neuromuscolari finché la pressione inspiratoria massima (MIP) alla bocca raggiunge un livello inferiore al 30% rispetto ai valori normali previsti[5]

Queste osservazioni sottolineano la grande capacità di riserva del sistema respiratorio, che potrebbe mascherare il coinvolgimento dei muscoli respiratori fino allo stadio avanzato della malattia neuromuscolare. La principale distinzione tra la semplice debolezza e l'affaticamento è che quest'ultima è reversibile con il riposo, mentre la prima non lo è. Nei soggetti normali, il diaframma è a rischio di affaticamento quando l'indice pressione-tempo (definito come il prodotto di due frazioni: tempo di inspirazione/tempo totale del ciclo respiratorio T_i/T_{tot} ; e pressione trans diaframmatica media/pressione trans diaframmatica massima P_{di}/P_{dimax}), supera il valore della "soglia critica di affaticamento" pari a 0,15[6].

Sulla base di questi calcoli, è evidente che l'esistenza di una debolezza diaframmatica di base (per esempio una ridotta P_{dimax}) favorirà l'insorgenza di affaticamento diaframmatico. I pazienti potrebbero adottare un pattern respiratorio che minimizzi il tempo inspiratorio e la pressione trasdiaframmatica (e quindi il volume corrente) in modo da evitare l'affaticamento del diaframma, ma a costo di aumentare la pressione parziale arteriosa di anidride carbonica (PCO_2)[7,8].

Terapia. Al momento non esiste una terapia in grado di arrestare la progressione della malattia. È stato approvato il riluzolo (100 mg/die), che prolunga lievemente la sopravvivenza. In uno studio a sopravvivenza media è stata di 18 mesi nei pazienti trattati con riluzolo, rispetto ai 15 mesi dei pazienti a cui veniva somministrato un placebo. Il meccanismo d'azione di questo farmaco non è noto, ma si ritiene che limiti il danno eccitotossico grazie alla riduzione del rilascio di glutamato. Il riluzolo è generalmente ben tollerato; rari effetti collaterali sono rappresentati da nausea, vertigini, calo ponderale e aumento dei livelli degli enzimi epatici. Trial clinici condotti su diversi altri agenti non hanno ottenuto buoni risultati, compresi gli studi sul fattore neurotrofico di derivazione encefalica, il fattore neurotrofico di derivazione gliale, il composto anti-glutaminergico topiramato

e la creatina. Quest'ultimo risultato è stato piuttosto sorprendente, dal momento che la creatina si era dimostrata efficace nei topi transgenici affetti da SLA, probabilmente grazie al aumento delle riserve di ATP intracellulare. Il fattore di crescita simil-insulinico 1 (insulin-like factor 1, IGF1) ha prodotto risultati incostanti in pazienti affetti da SLA, ma sono in corso ancora studi. Il riscontro che l'attività della ciclossigenasi è aumentata nel midollo spinale dei topi affetti da SLA ha portato a condurre studi preclinici sull'inibitore della COX-2 celecoxib, che in tale modello si è dimostrato efficace nel prolungare la sopravvivenza.

In assenza di una terapia definitiva per la SLA, numerosi interventi riabilitativi possono fornire un aiuto sostanziale ai pazienti. Una apparecchio protesico per la caduta del piede facilita la deambulazione, ovviando alla flaccidità del piede e evitando l'eccessiva flessione dell'anca. Una stecca per l'estensione delle dita può potenziare la presa manuale. L'assistenza respiratoria può rappresentare un mezzo di sopravvivenza. Per i pazienti che non vogliono sottoporsi alla tracheotomia, la ventilazione a pressione positiva può rappresentare un trattamento transitorio per l'ipercapnia e l'ipossia. Per alcuni pazienti è di estremo beneficio un dispositivo respiratorio che induce una tosse artificiale (cough assist), dimostratosi efficace nel liberare le vie aeree e prevenire le polmonite ab ingestis. Quando l'interessamento bulbare impedisce la masticazione e la deglutizione normali, l'unica forma di intervento utile a ristabilire una normale idratazione e nutrizione è la gastrostomia.

A differenza della SLA, numerose altre malattie del motoneurone che le assomigliano clinicamente sono suscettibili di trattamento. È quindi fondamentale un'attenta ricerca delle cause secondarie di malattia del motoneurone [1].

RUOLO DEL LITIO NELLA TERAPIA DELLA SLA

Il litio, uno ione monovalente, è l'elemento più leggero del gruppo dei metalli alcalini (Gruppo 1A della tavola periodica), scoperto da Johann Arfvedson nel 1817.

A partire dal primo studio osservazionale condotto da Cade nel 1949 e sostenuto dalle dimostrazioni scientifiche di Schou del 1951[9,10], il litio acquisì un ruolo importante nel trattamento di alcune patologie psichiatriche quali le sindromi maniacali e disturbi bipolari.

Recentemente è stato dimostrato un suo effetto neuroprotettivo in diversi modelli di malattia, come l'ischemia cerebrale e la tossicità da kainato. In questo senso è stata evidenziata la capacità del litio nel promuovere l'autofagia, attraverso l'inibizione dell' inositolo-monofosfatasi 1, associato all'effetto protettivo dell'autofagia nella neurodegenerazione. Questi elementi hanno indotto il gruppo di ricercatori pisani guidato da Fornai a intraprendere uno studio su modelli animali di topi con SLA (G93A), il quale ha fornito dati promettenti permettendo così l'inizio di un trial clinico [11]. Si è così dimostrato un aumento della sopravvivenza media e della durata della malattia nei modelli animali ed in particolare l'evidenza che il litio conduceva a un ritardo nella comparsa della paralisi muscolare. L'effetto del litio si manifestava a diversi livelli: sui motoneuroni, sulle cellule di Renshaw della lamina VII e sui mitocondri del midollo spinale. Gli effetti positivi sui motoneuroni della lamina IX consistevano nella conservazione della loro dimensione e del loro numero a livello del midollo cervicale e del nucleo ambiguo; nella diminuzione dell'astrocitosi e della gliosi reattiva ed infine nella diminuzione della formazione degli aggregati di α -sinucleina, ubiquitina e SOD1. Le cellule di Renshaw, importanti per il controllo dei motoneuroni stessi, sono coinvolte nella malattia e rappresentano talvolta il primo bersaglio; il litio si è dimostrato capace di aumentare il numero di queste cellule in certe forme di malattia (G93A). Infine il litio sarebbe in grado di diminuire la vacuolizzazione responsabile del rigonfiamento dei mitocondri e della conseguente necrosi, riuscendo a rinormalizzarne la dimensione e ad aumentare il numero di mitocondri normali. Un ulteriore contributo del litio nel meccanismo neuroprotettivo è dimostrato dall'effetto sui vacuoli autofagici, per cui esso sarebbe in grado di aumentare la sopravvivenza dei

motoneuroni attivando i meccanismi autofagici. L'importanza di quest'ultimo aspetto è stata confermata nello stesso studio da un esperimento che prevedeva l'inibizione della via autofagica e che causava un aumento del 58% della mortalità rispetto ai modelli animali G93A non trattati e del 51% rispetto agli stessi trattati con litio[11].

Il ruolo del litio si è dimostrato fondamentale nel migliorare la via dell'autofagia endosomolisosomiale bloccando l'attività dell'IP3, molecola che rappresenta un inibitore endogeno dell'autofagia. Questo effetto, in aggiunta all'aumento del numero di nuovi mitocondri indenni e del numero di neuroni della lamina VII, nonché all'aumento della sopravvivenza dei motoneuroni della lamina IX, sottolineerebbe l'efficacia neuro protettiva del litio [11].

I risultati del trial clinico hanno indicato diversi aspetti positivi: sopravvivenza del 100% dei pazienti trattati con litio, a fronte di una mortalità del 30% in quelli trattati solo con riluzolo (particolarmente significativo a 12 e 15 mesi); rallentamento della progressione della malattia dimostrato dalla misura quantitativa della forza dei muscoli respiratori e dalla preservazione della funzione respiratoria (valutata mediante la sola misura della FVC) a fronte di un aumento della velocità di progressione della malattia a partire dal terzo mese nel gruppo di controllo. In letteratura altri studi sostengono il ruolo neuroprotettore del litio sperimentato su modello animale. In particolare lo studio di Rubinsztein [12] che dimostra la capacità del litio di incrementare l'autofagia, la formazione di mitocondri intatti e il numero di neuroni della lamina VII. Inoltre un leggero effetto neuroprotettivo è stato recentemente descritto anche da Shin *et al* [13] su modello sperimentale murino, nel quale alte dosi di litio hanno prodotto un ritardo nella comparsa della malattia, ma anche una ridotta durata della stessa a causa degli effetti negativi prodotti dalle alte dosi a carico dei motoneuroni.

SCOPO DELLO STUDIO

Il trattamento a lungo termine con litio può indurre neuroprotezione, la quale potrebbe a sua volta ritardare la progressione della malattia sia in modelli animali [11] che in pazienti affetti da SLA [11]

L'obiettivo del presente studio è quello di valutare l'effetto di 15 mesi di terapia con litio sulla funzionalità polmonare, la forza dei muscoli respiratori e l'efficacia della tosse in pazienti con SLA nei confronti di pazienti di controllo, tollerabilità e sicurezza del farmaco.

MATERIALI E METODI

Soggetti

Criteri di inclusione:

- a. SLA definita, probabile o probabile con supporto di laboratorio secondo i criteri di El Escorial rivisti
- b. età tra 18 e 75 anni;
- c. durata di malattia inferiore a 36 mesi;
- d. progressione di malattia documentata negli ultimi 3 mesi;
- e. pazienti in grado di comprendere e aderire a quanto richiesto dal protocollo dello studio e fornire consenso informato scritto.
- f. pazienti in trattamento con riluzolo con dose stabilizzata di 50 mg due volte al giorno da almeno due mesi.

Criteri di esclusione (la presenza di uno dei seguenti criteri è motivo di esclusione dallo studio):

- a. pregressa infezione poliomielitica;
- b. malattie del motoneurone diverse dalla SLA (paralisi bulbare progressiva, atrofia muscolare progressiva, sclerosi laterale primaria);
- c. coinvolgimento clinico di altri sistemi neurologici (sensoriale, extrapiramidale, oculomotore, cerebellare, vegetativo);
- d. gravi condizioni cliniche internistiche, come malattie cardiovascolari, ipertensione arteriosa, insufficienza renale o epatica, distiroidismo;
- e. creatininemia >1,6 mg/dl;

- f. pregresse malattie cardiovascolari, cerebrovascolari o pregressi disturbi circolatori periferici;
neoplasie maligne;
- g. grave deterioramento mentale;
- h. scarsa compliance con pregressi trattamenti;
- i. donne in gravidanza o allattamento o che nel corso dello studio possano diventare gravide.

PROTOCOLLO DELLO STUDIO

Il presente lavoro è stato realizzato secondo le modalità di uno studio prospettico, controllato, condotto per gruppi paralleli in cieco semplice. Per mantenere la cecità della valutazione era previsto che il paziente fosse seguito da due medici. Un medico che si occupava del trattamento (treating physician) doveva seguire il livello di litiemia e modificare di conseguenza la posologia del farmaco, inoltre si occupava di annotare e comunicare gli effetti avversi. Il medico che si occupava della valutazione (evaluating physician) doveva eseguire tutte le valutazioni funzionali ed era a cieco dell'allocazione del trattamento. Tutti i pazienti sono stati seguiti per un periodo di 15 mesi e valutati ad intervalli di 3 mesi (tempo 0 e a 3, 6, 9, 12 e 15 mesi). Ad ogni controllo sono stati misurati:

- Capacità Vitale (VC, % pred), in clinostatismo e in ortostatismo;
- Massima Pressione Inspiratoria (MIP, cmH₂O);
- Massima Pressione Espiratoria (MEP, cmH₂O);
- Picco di flusso durante la tosse (Cough Peak Flow , L/sec).

Ai pazienti trattati con litio il farmaco è stato somministrato per via orale in compresse di carbonato di litio da 150 mg, in due somministrazioni giornaliere, così da raggiungere una litiemia di 0,4-0,8 mEq/L. Ad ogni controllo venivano monitorati la litiemia, gli ormoni tiroidei e la funzionalità epatica.

Il presente lavoro è stato uno studio ancillare, parte di uno studio multicentrico nazionale eseguito in 22 centri, e finalizzato in particolare alla valutazione della funzione respiratoria. Tutti i pazienti partecipanti alla sperimentazione hanno fornito un consenso informato e sottoscritto ed il protocollo è stato approvato dal locale Comitato Etico.

Metodi

La funzione polmonare è stata valutata in tutti i soggetti mediante un pneumotacografo connesso a un computer per l'analisi dei dati (VMAX 22 e 6200, Sensor Medics, Yorba Linda-US) . Lo pneumotacografo ha permesso di ottenere i valori della capacità vitale, eseguiti sia in clinostatismo che in ortostatismo, espressi come percentuale del teorico .

L'efficacia dei muscoli respiratori è stata valutata in tutti i pazienti mediante la misura della MIP e della MEP, ottenute tramite boccaglio flangiato, attaccato a un tubo metallico dotato di una valvola a due vie che permette la chiusura delle vie aeree. La MIP, consistente nella misura della pressione sviluppata durante una manovra di inspirazione forzata contro una resistenza, è stata eseguita partendo da VR; mentre la MEP, consistente nella misura della pressione sviluppata durante una manovra di espirazione forzata contro una resistenza, è stata eseguita partendo da CPT. Nello studio è stato registrato il massimo valore pressorio mantenuto per 1s ed espresso come valore assoluto (in cmH₂O).

L'efficacia della tosse è stata valutata attraverso la misura del picco di flusso durante la tosse (*cough peak flow*, CPF), ottenuto invitando il paziente ad eseguire ripetuti colpi di tosse attraverso una maschera mantenuta strettamente aderente al volto e connessa ad un pneumotacografo. Il valore è stato espresso in L/s.

Analisi statistica

I valori sono stati espressi come media \pm deviazione standard. La distribuzione delle variabili è stata valutata con il test di Kolmogorov Smirnov. Le differenze di base tra i due gruppi e tra le varie misure nello stesso gruppo sono state valutate rispettivamente con il test *t* di Student per dati non

appaiati e con l'analisi della varianza per misure ripetute. Un valore di $p < 0.05$ è stato considerato come significativo.

RISULTATI

Dati clinici

Il gruppo di pazienti trattati con il litio era composto da 11 pazienti affetti da SLA (di cui quattro donne), di età media di 66 ± 8 anni e con BMI 25 ± 3 kg/m². All'interno di questo gruppo non tutti i pazienti hanno concluso lo studio. Infatti due pazienti sono deceduti, al 13° e al 14° mese ed un paziente è stato tracheostomizzato al 12° mese. Un dodicesimo paziente, assegnato al gruppo dei pazienti trattati, ha presentato, immediatamente dopo l'inizio della terapia, un'alterazione dell'assetto ormonale tiroideo (ipertiroidismo) senza manifestazioni cliniche. Tale alterazione è regredita dopo sospensione del farmaco, ma ha comportato l'esclusione del paziente dallo studio. Tre pazienti trattati hanno accusato la comparsa di crampi muscolari, regrediti con terapia sintomatica. Il gruppo di controllo era composto da 10 pazienti affetti da SLA (di cui 6 donne), di età media di 71 ± 13 anni con BMI 22 ± 4 kg/m². Nel gruppo di controllo 5 pazienti non hanno completato lo studio. Tre di questi sono deceduti, due al 10° mese e uno al 13° mese. Gli altri due pazienti non hanno eseguito il 4° e 5° controllo ambulatoriale perché immobilizzati al letto.

Entrambi i gruppi hanno proseguito lungo tutta la durata dello studio la terapia con riluzolo. Non sono risultate differenze significative tra i due gruppi relativamente alle condizioni antropometriche (Tabella 1) e clinico-funzionali di base (tabella 2).

Volumi polmonari

Nei pazienti trattati con Litio il valore medio di CV basale in clinostatismo è risultato del 79 ± 21 % del teorico; nell'ultimo controllo eseguito a 15 mesi tale valore si è ridotto a 60 ± 30 % del teorico. Il calo della CV è stato progressivo per tutti e 15 mesi con riduzione statisticamente significativa ($p<0,01$) al 3° controllo (corrispondente al 9° mese) con valore medio di CV pari a 59 ± 26 % del teorico. Il valore basale medio dello stesso parametro, considerato nel gruppo di controllo, è stato di 81 ± 10 % del teorico; all'ultimo controllo tale valore è passato a 55 ± 27 % del teorico con riduzione

statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo con valore medio pari a 55 ± 23 % del teorico(Grafico 1). Il valore medio di CV in ortostatismo nei pazienti trattati con litio in condizioni basali è stato di 85 ± 21 % del teorico; all'ultimo controllo è passato a 56 ± 26 % del teorico con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,05$) al 9° mese con valori di 63 ± 23 % del teorico. Il valore medio basale dello stesso parametro considerato nei soggetti di controllo è stato di 81 ± 10 % del teorico, che all'ultimo controllo è passato a 60 ± 26 % del teorico con riduzione statisticamente significativa al 9° mese con valori di 62 ± 23 % del teorico ($p < 0,01$) (Grafico 2).

Forza dei muscoli respiratori

Nei pazienti trattati con litio il valore basale medio di MIP è stato di 59 ± 29 cmH₂O; all'ultimo controllo tale valore è passato a 36 ± 29 % cmH₂O con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,05$) al 2° controllo (corrispondente al 6° mese) con valori di 36 ± 24 cmH₂O. Lo stesso parametro considerato nel gruppo di controllo è risultato con valore basale pari a 47 ± 19 cmH₂O; all'ultimo controllo tale valore è passato a 34 ± 20 cmH₂O con riduzione statisticamente significativa al 2° controllo con valori pari a 34 ± 20 cmH₂O (Grafico 3).

Il valore medio basale della MEP nei pazienti trattati con litio è stato di 69 ± 34 cmH₂O; all'ultimo controllo è passato a 27 ± 20 cmH₂O con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 2° controllo con valore medio di 3827 cmH₂O. Lo stesso valore medio basale valutato nei soggetti di controllo è stato di 56 ± 28 cmH₂O; nell'ultimo controllo il valore è passato a 27 ± 18 cmH₂O con riduzione statisticamente significativa al 2° controllo con valore pari a 36 ± 28 cmH₂O (Grafico 4).

Efficacia della tosse

Il valore medio basale del CPF nei pazienti trattati con litio è stato di 6 ± 2 L/sec; all'ultimo controllo tale valore è passato a $4,03 \pm 3$ L/sec con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo (corrispondente al 9° mese) con valori di 4 ± 2 L/sec. Lo stesso valore medio basale considerato nel gruppo di controllo è stato pari a 6 ± 2 L/sec; all'ultimo controllo è passato a

4,42±3,1 L/sec con riduzione statisticamente significativa ($p < 0,01$) al 3° controllo con valori pari a 4±2 L/sec (Grafico 5).

DISCUSSIONE

Questo studio ha confermato il fatto che non esistono, ad oggi, terapie efficaci per arrestare la progressione della malattia di Sclerosi Laterale Amiotrofica. Il presente studio prospettico e controllato, condotto per gruppi paralleli in cieco semplice ha dimostrato che l'utilizzo del litio non ha arrestato il declino della capacità funzionale respiratoria dei malati affetti da SLA. In particolare, il nostro lavoro ha dimostrato come i volumi polmonari, gli indici di forza muscolare e di efficacia della tosse abbiano dato risultati sovrapponibili nei pazienti trattati con Litio e nel gruppo di controllo. Nel nostro studio abbiamo seguito l'andamento di parametri funzionali respiratori in un periodo di tempo sufficientemente lungo della durata di 15 mesi. Il quadro basale dei nostri pazienti indicava una condizione caratterizzata da valori medi di MIP e MEP al di sotto dei limiti di normalità, a fronte di valori di CV nei limiti e di un CPF ai limiti inferiori della norma. Questo divario è di usuale riscontro nei pazienti neuromuscolari e va addebitato alla maggiore sensibilità diagnostica degli indici di forza muscolare e di efficacia della tosse rispetto ai parametri spirometrici.

Il litio, sostanza da tempo conosciuta in medicina ed utilizzata a scopo terapeutico in altri campi, aveva destato particolare interesse per l'effetto neuroprotettivo dimostrato da uno studio condotto dal gruppo di ricerca pisano condotto da Fornai [11]. Tale studio dimostrava, dapprima in una sperimentazione su modello murino e poi sull'uomo, che il litio era in grado di produrre un significativo rallentamento della progressione della malattia dopo 3-6 mesi di terapia, ed un prolungamento della vita media, se confrontato con un gruppo di controllo di pazienti con condizioni basali sovrapponibili ma trattati solo con riluzolo. Lo studio prendeva in considerazione diverse scale per la valutazione dei pazienti, quali la ALSFRS-R scale (scala di previsione della sopravvivenza che comprende anche la valutazione della funzione respiratoria), la Norris scale (scala di valutazione delle funzioni bulbari e degli arti), la Medical Research Council (MRC, scala di valutazione della forza muscolare) ed il solo parametro spirometrico della capacità vitale forzata (FVC), dimostrando un rallentamento del declino della FVC e delle altre scale, ad eccezione della

sola MRC. La MRC mostrava infatti una progressione importante della compromissione della forza muscolare, seppur con una sostanziale differenza nei due gruppi, risultando peggiore nei pazienti non trattati con litio a partire dal terzo mese. Inoltre questo studio mostrava un dato incoraggiante per quanto riguarda la sopravvivenza nei due gruppi, infatti nel gruppo trattato con litio non si erano verificati decessi nel corso dell'intero periodo di sperimentazione (15 mesi), a fronte di una mortalità del 30% circa nel gruppo trattato con solo riluzolo. Lo studio di Fornai *et al.* tuttavia non ha valutato gli indici di forza dei muscoli respiratori e di efficacia della tosse ed è nota la ridotta sensibilità diagnostica della FVC rispetto a questi parametri.

Nel nostro studio invece l'attenzione rivolta alla valutazione della funzione respiratoria è stata più ampia e completa, estendendosi anche al monitoraggio di parametri quali la MIP, la MEP e il CPF, oltre che alla CV eseguita in posizione supina e in ortostatismo. Il nostro riscontro è stato quello di un'evoluzione univoca verso il declino di tutte le variabili considerate in entrambi i gruppi di pazienti, sia quelli trattati che non. Inoltre, a differenza dello studio di Fornai *et al.*, non c'è stata una differenza significativa in termini di decessi tra i due gruppi ed il litio non è stato scevro da effetti collaterali. I nostri risultati relativi alla sopravvivenza ed agli effetti collaterali sono stati peraltro in linea con quanto emerso dallo studio multicentrico nazionale, recentemente pubblicato, al quale il nostro era collegato.

CONCLUSIONI

Il nostro studio, in linea con lo studio multicentrico nazionale [14] non ha confermato i risultati incoraggianti emersi nella sperimentazione pilota di *Fornai et all.* In particolare il litio non ha dimostrato alcun effetto sui parametri di funzionalità polmonare e muscolare e sulla efficacia della tosse. La SLA resta una malattia di difficile gestione sotto molti punti di vista. Le possibilità terapeutiche restano a tutt'oggi destinate ancora ad un sostegno delle funzioni generali del paziente, più che ad un'efficace cura della malattia. Tuttavia la possibilità di una diagnosi precoce consente di organizzare una rete di collaborazione medica ed infermieristica volta a migliorare la qualità di vita dei pazienti.

Tabella 1**Caratteristiche cliniche-antropometriche dei pazienti**

Variabile	Litio	Controllo	p value
<i>Pazienti</i>	11	10	
<i>Età (anni)</i>	66±8	71±13	0,25
<i>Sesso (M/F)</i>	1,75	1,50	0,27
<i>BMI (Kg/m²)</i>	25±3	22±4	0,16
<i>Riluzolo (Si/No)</i>	1	1	1

Tabella 2**Caratteristiche funzionali basali dei pazienti**

Variabile	Litio	Controllo	p value
<i>CV orto (% teor)</i>	85±21	85±12	0,95
<i>CV clino (%teor)</i>	79±21	81±10	0,72
<i>Riduzione CV orto-clino(%)</i>	10±8	8±7	0,62
<i>MIP (cmH2O)</i>	52±29	47±19	0,62
<i>MEP (cmH2O)</i>	69±34	56±28	0,33
<i>PCEF (L/sec)</i>	7±2	6±2	0,63
<i>PaO2 (mmHg)</i>	87±10	91±14	0,67
<i>PCO2 (mmHg)</i>	41±6	37±3	0,10
<i>pH</i>	7,41	7,44	0,31
<i>SatO2 orto (%)</i>	96±1	97±2	0,08
<i>SatO2 clino (%)</i>	95±2	96±2	0,20
<i>Diff SatO2 orto-clino(%)</i>	1±1	0,9±0,3	0,66

Grafico 1

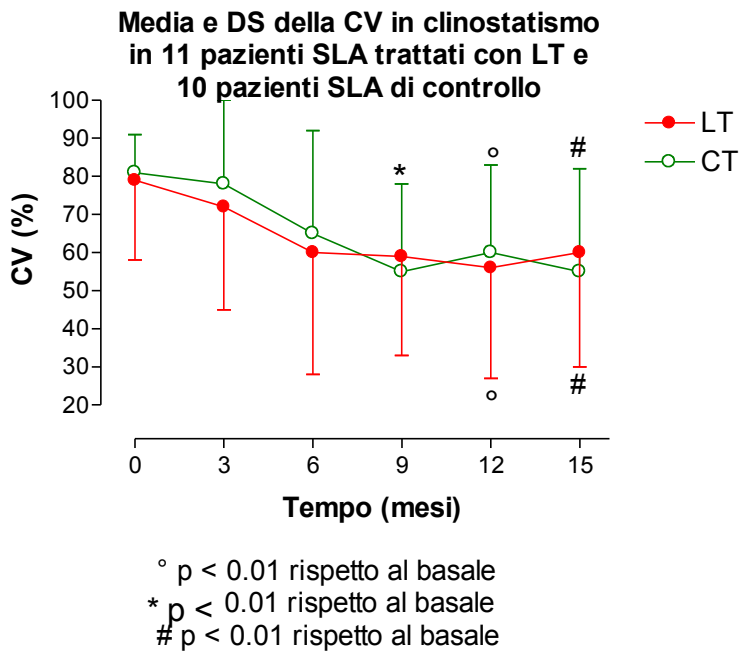


Grafico 2

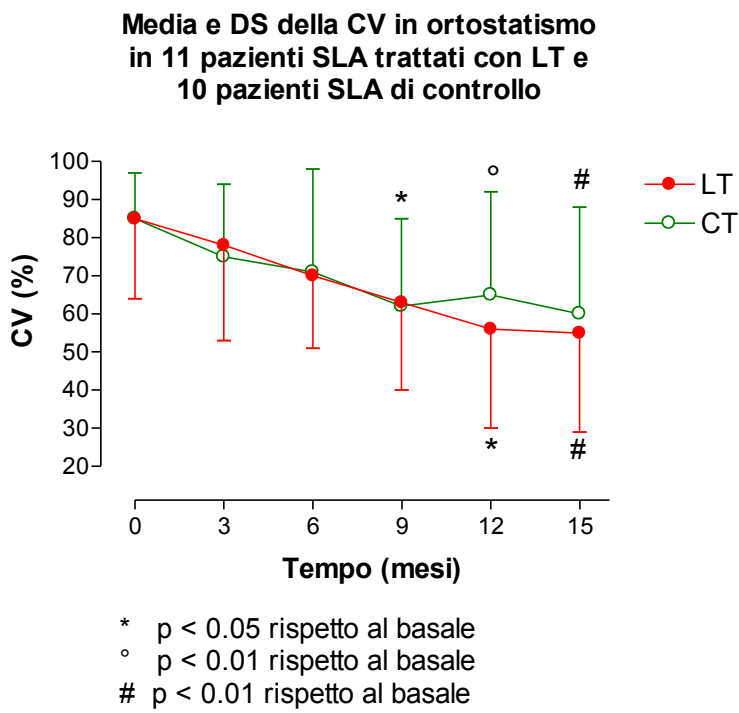
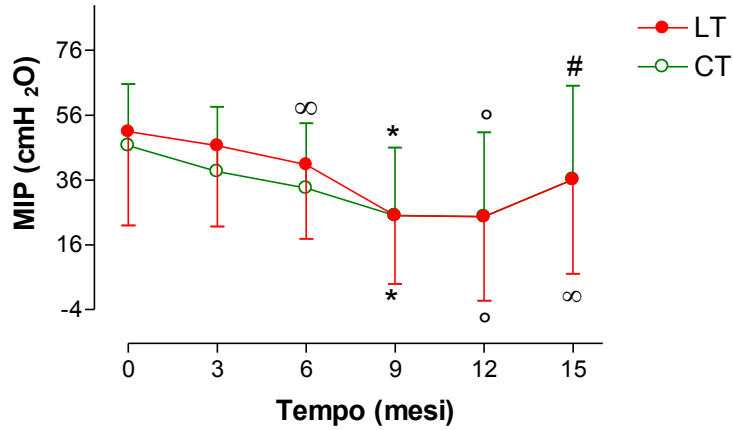


Grafico 3

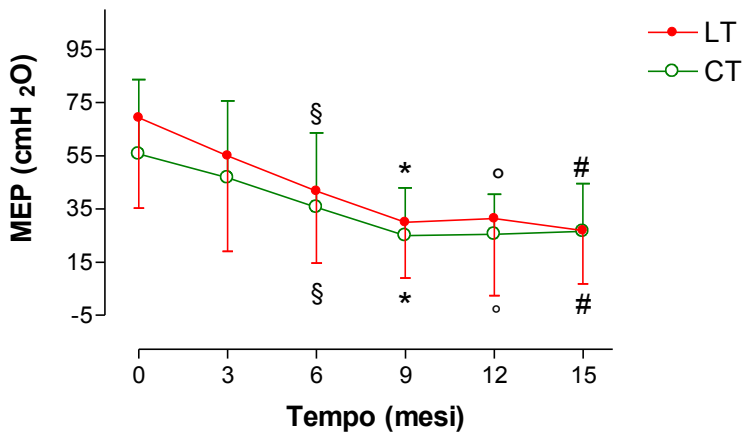
Media e DS della MIP in 11 pazienti SLA trattati con LT e 10 pazienti SLA di controllo



∞ p < 0.05 rispetto al basale
 * p < 0.01 rispetto al basale
 ° p < 0.01 rispetto al basale
 # p < 0.01 rispetto al basale

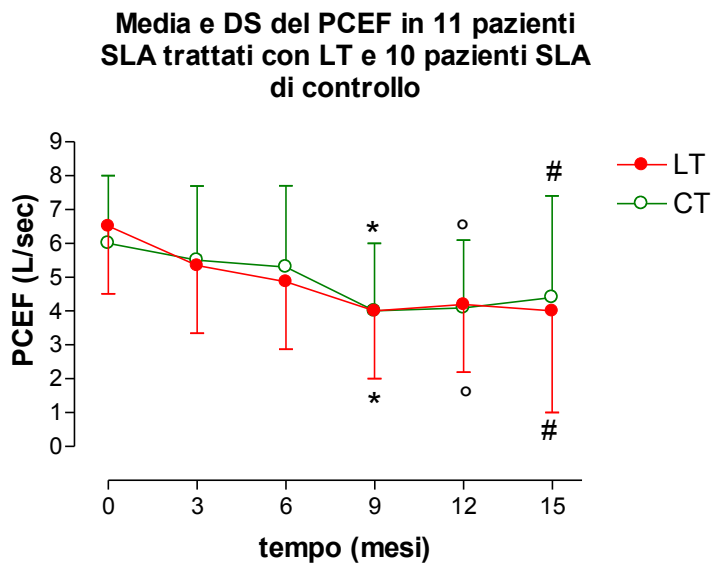
Grafico 4

Media e DS della MEP in 11 pazienti SLA trattati con LT e 10 pazienti SLA di controllo



§ p < 0.01 rispetto al basale
 * p < 0.01 rispetto al basale
 ° p < 0.01 rispetto al basale
 # p < 0.01 rispetto al basale

Grafico 5



* $p < 0.01$ rispetto al basale

° $p < 0.01$ rispetto al basale

$p < 0.01$ rispetto al basale

BIBLIOGRAFIA

- 1-Harrison. Principi di Medicina Interna, capitolo 353 pag 2738-2741; volume II, 16° Edizione.
- 2-Black LF, Hyatt RE. Maximal static respiratory pressures in generalized neuromuscular disease. *Am. Rev Respir Dis* 1971;103:641-50
- 3-Vincken W, Elleker MG, Cosio MG. Determinants of respiratory muscle weakness in stable chronic neuromuscular disorders. *Am J Med* 1987;82:53-8
- 4- Bergamini G et al. Anatomia-Fisiologia dell'Apparato Pneumo-Fonatorio
- 5- Braun NM, Arora NS, Rochester DF. Respiratory muscle and pulmonary function in polymyositis and other proximal myopathies. *Thorax* 1983;83:616-23
- 6- Bellemare F, Grassino A.. Effect of pressure and timing of contraction on human diaphragm fatigue. *J Appl Physiol* 1982;53:1190-5
- 7- Lanini B, Misuri G, Gigliotti F, et al. Perception of dyspnea in patients with neuromuscular disease. *Chest* 2001; 120:402-8
- 8- Misuri G, Lanini B, Gigliotti F et al. Mechanism of CO₂ retention in patients with neuromuscular disease. *Chest* 2000; 117:447-53
- 9- Cade JF. Lithium salts in the treatment of psychotic excitement. *Medical Journal of Australia* 2:349-352, 1949

- 10- Schou M .My journey with lithium. Bibliotek for Læger 2005; 3: 217–228. (& Personal communications 2000–2005.
- 11- Fornai F., Longono P., Cafaro L., et al. Lithium deays progression of amyotrophic lateral sclerosis. PNAS 2008; 105:2052-2057
- 12- Sovan Sarkar,¹ R. Andres Floto,² Zdenek Berger,^{1,3} Sara Imarisio,^{1,3} Axelle Cordenier,^{1,3} Matthieu Pasco,³ Lynnette J. Cook,¹ and David C. Rubinsztein¹ [Lithium](#) induces [autophagy](#) by inhibiting inositol monophosphatase. [J Cell Biol. 2005 September 26; 170\(7\): 1101–1111.](#)
- 13- Shin JH., Cho SI, Lim HR, Lee JK, Lee YA, Noh JS, Joo IS, Kim KW, Gwag BJ. Concurrent administration of Neu2000 and lithium produces marked improvement of motor neuron survival, motor function, and mortality in a mouse model of amyotrophic lateral sclerosis. Mol Pharmacol 2007;71:965-75
- 14- A. Chiò, G. Borghero, A. Calvo, M. Capasso, C. Caponnetto, M. Corbo, F. Giannini, G. Logroscino, J. Mandrioli, N. Marcello, L. Mazzini, C. Moglia, M.R. Monsurrò, G. Mora, F. Patti, M. Perini, F. Pisano, E. Pupillo, M. Sbatelli, F. Salvi, V. Silani, I.L. Simone, G. Sorarù, M.R. Tola, P. Volanti, E. Beghi and On behalf of the LITALS Study Group. Neurology 2010; 75;619-625.

