

UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
“VICTOR BABEȘ” DIN TIMISOARA
FACULTATEA DE MEDICINA
DEPARTAMENTUL II: MORFOLOGIE MICROSCOPICĂ

BOGDANA CAVALOIU



TEZĂ DE DOCTORAT

CORELAȚII CLINICE, GENETICE ȘI TERAPEUTICE LA
PACIENȚII CU ATROFIE MUSCULARĂ SPINALĂ DIN
ROMÂNIA

- REZUMAT -

Coordonator stiintific
PROF. UNIV. DR. MARIA PUIU

Timișoara
2024

CUPRINS

LISTA LUCRĂRILOR ȘTIINȚIFICE PUBLICATE:.....	V
LISTA CU ABREVIERI ȘI SIMBOLURI:.....	VI
LISTA FIGURILOR.....	VII
LISTA TABELELOR:	VIII
DEDICAȚIE ȘI MULȚUMIRI	IX
INTRODUCERE	XI
PARTEA GENERALĂ	1
1. CONTEXTUL ISTORIC AL ATROFIEI MUSCULARE SPINALE	1
2. DEFINIȚIE, CLASIFICARE ȘI EPIDEMIOLOGIE	5
3. FIZIOPATOGENIE ȘI MECANISME MOLECULARE	9
4. PREZENTARE CLINICĂ	15
4.1. SCALA FUNCȚIONALĂ MOTORIE EXTINSĂ HAMMERSMITH (HFMSE).....	17
4.2. MODULUL REVIZUIT PENTRU MEMBRUL SUPERIOR (RULM)	19
5. DIAGNOSTICUL POZITIV	21
5.1. TESTAREA GENETICĂ	22
5.2. SCREENING-UL NEONATAL	23
5.3. TESTAREA PURTĂTORILOR	24
6. ABORDĂRI TERAPEUTICE	25
6.1. NUSINERSEN	25
6.2. RISDIPLAM	27
6.3. ONASEMNOGENE ABEPARVOVEC-XIOI – TERAPIA GENICĂ	28
6.4. ALTE TERAPII STUDIATE.....	29
7. TERAPIA SUPORTIVĂ	31
8. ÎNȚELEGEREA MODERNĂ A ATROFIEI MUSCULARE SPINALE ȘI PERSPECTIVE DE VIITOR	33
PARTEA SPECIALĂ	35
1. INTRODUCERE	35
2. MATERIALE ȘI METODE	39
3. REZULTATE	45
4. DISCUȚII	71
CONCLUZII ȘI CONTRIBUȚII PROPRII.....	99

BIBLIOGRAFIE	103
ANEXE – ARTICOLE PUBLICATE IN EXTENSO	I

ABSTRACT

INTRODUCERE

Atrofia musculară spinală (AMS) este o afecțiune neuromusculară devastatoare care afectează predominant neuronii motori din măduva spinării, conducând la slăbiciune musculară progresivă și atrofie. Clasificarea AMS se face în funcție de vârsta de debut și severitatea simptomelor, variind de la tipul I, cea mai severă formă, până la tipul IV, care este o formă adultă cu simptome mai ușoare. În ciuda rarității sale, AMS rămâne principala cauză genetică a mortalității infantile și a morbidității semnificative printre copii, având o incidență estimată la 1 din 10,000 de nașteri. Tratamentul AMS a evoluat semnificativ în ultimul deceniu, cu introducerea terapilor genice și a modificatorilor de splicing, precum nusinersen și risdiplam, care au demonstrat capacitatea de a îmbunătăți semnificativ calitatea vieții pacienților. Aceste tratamente vizează creșterea producției de proteină SMN funcțională, esențială pentru supraviețuirea neuronilor motori. Nusinersen, de exemplu, a fost primul tratament aprobat și a demonstrat eficacitate în reducerea progresiei bolii chiar și în formele severe.

Lucrarea de față și-a propus să efectueze o examinare cuprinzătoare a 2 cohorte de pacienți diagnosticați cu AMS prin explorarea aspectelor clinice și genetice privind mobilitatea pacienților și calitatea vieții, pe perioade îndelungate de timp. Studiul desfășurat pentru această lucrare a fost structurat în două părți. Prima parte evaluează aspectele pacienților studiați privind funcția motorie după terminarea curei cu nusinersen, iar a doua parte a cercetat un lot de pacienți cărora li s-au aplicat un test de evaluare complex pentru a releva aspecte legate de calitatea vieții după aplicarea terapiei cu nusinersen.

Teza de doctorat cuprinde două studii, unul cross-sectional și unul prospectiv-longitudinal, realizate în conformitate cu Principiile Declarației de la Helsinki (1975, revizuită în 2013), și cu aprobarea comitetului de etică. Cercetarea doctorală include următoarele studii:

- Studiul 1 – Nusinersen îmbunătățește funcția motorie în tipurile 2 și 3 de SMA, de-a lungul timpului.
- Studiul 2 – evaluarea calității vieții pacienților români cu AMS sub administrarea tratamentului cu Nusinersen.

Publicată în 2024 în reviste ISI (Biomedicine și Neurology International), cercetarea oferă perspective pentru a îmbunătăți managementul pacienților cu AMS, îmbunătățind cunoștințele despre această boală și despre tratamentul ei în comunitatea științifică.

CONTRIBUȚII PERSONALE

STUDIUL I. NUSINERSEN ÎMBUNĂTĂȚEȘTE FUNCȚIA MOTORIE ÎN TIPURILE 2 ȘI 3 DE SMA, DE-A LUNGUL TIMPULUI.

Materiale și metode

Primul studiu a inclus 37 de pacienți români diagnosticați cu diverse forme de AMS, urmărindu-le progresul pe parcursul a 54 de luni, între ianuarie 2019 și iunie 2023, la departamentele de Neurologie ale Institutului Clinic Fundeni din București și Spitalului Clinic CF din Timișoara. Pacienții au fost tratați cu nusinersen, administrat intratecal, începând din 2019. Cercetarea a implicat colectarea detaliată a datelor clinice și evaluări periodice folosind Scala Motorie Funcțională Hammersmith Extinsă (HFMSE) și Modulul Revizuit pentru Membrul Superior (RULM), special validate pentru AMS. Scopul principal a fost evaluarea eficacității nusinersenului și înțelegerea evoluției clinice a bolii. Rezultatele au fost analizate pe baza unor variabile cheie, cum ar fi vârsta la debutul simptomelor, tipul specific de AMS, tipul de deleție de exon, și numărul de copii ale genei SMN2. Această cercetare își propune să ofere o perspectivă aprofundată asupra tratamentului și progresiei AMS într-un context clinic specific României.

Rezultate

Treizeci și șapte de pacienți români diagnosticați cu AMS care au urmat un regim terapeutic cu nusinersen pe o perioadă de 54 de luni arată o abordare multifactorială, incluzând anamneza detaliată, testele genetice și scorurile obținute regulat pentru activitatea motorie prin RULM și HFSME. Acest studiu longitudinal a vizat nu doar urmărirea progresiei AMS și a răspunsului la tratamentul continuu, dar și crearea unui set de date semnificativ pentru analize viitoare.

Datele colectate oferă o bază solidă pentru analize suplimentare care ar putea explora corelațiile între variabilele genetice specifice și răspunsurile individuale la tratament, facilitând astfel personalizarea și optimizarea terapiei pentru pacienți. Aceste date sunt, de asemenea, valoroase pentru evaluarea impactului factorilor demografici, cum ar fi vârsta și sexul, asupra evoluției bolii și a eficacității tratamentului. Analizele viitoare ar putea include modelarea statistică avansată și utilizarea inteligenței artificiale pentru a identifica modele predictive care să ajute la anticiparea progresiei bolii în funcție de caracteristicile inițiale ale pacienților. Aceste analize pot contribui la dezvoltarea unor strategii terapeutice mai bine direcționate, crescând astfel eficacitatea intervențiilor medicale și îmbunătățind calitatea vieții pacienților cu AMS.

Vârsta medie la care pacienții au început să prezinte simptome a fost de 36 de luni, cu un interval larg de la 12 la 72 de luni, reflectând o variabilitate semnificativă în vârsta de debut a bolii. Scorurile RULM și HFSME au arătat, de asemenea, o variație, cu un scor median RULM de 28 și un scor median HFSME de 13. Niciuna dintre variabile nu a urmat o distribuție normală, sugerând că metodele statistice non-parametrice vor fi utilizate pentru analiza ulterioară.

Distribuția pacienților pe tipurile de AMS arată o predominanță a tipului 3 (62,2%), ceea ce sugerează că o proporție mai mare de pacienți sunt afectați de o formă de AMS cu debut mai târziu și mai puțin severă. Majoritatea pacienților au prezentat deleții în ambii exoni 7 și 8, indicând că mutația genetică cea mai comună în cohortă este deleția ambilor exoni. Majoritatea pacienților au 3 copii ale genei SMN2, un factor crucial în severitatea bolii și răspunsul la tratament. Aproximativ 24,3% dintre pacienți nu au finalizat tratamentul cu nusinersen, indicând o rată semnificativă de abandon.

Pentru a înțelege mai bine ratele de abandon, s-a utilizat analiza de supraviețuire Kaplan-Meier (Figura 1), care a evidențiat diferențe semnificative în timpul până la abandon între pacienții cu AMS 2 și cei cu AMS 3. Aceste diferențe sunt esențiale pentru a identifica posibilele bariere care pot conduce la abandonul prematur al tratamentului și pentru optimizarea strategiilor de menținere a pacienților în tratament.

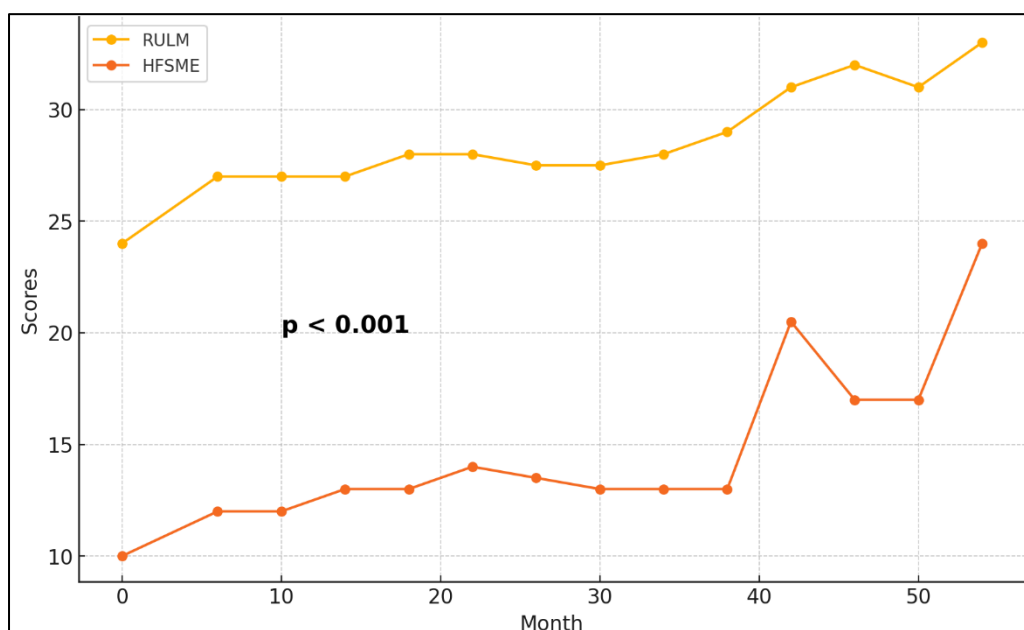


Figura 1. Reprezentarea grafică a măsurătorilor pereche ale scorurilor RULM și HFSME de-a lungul timpului studiului

Pe baza analizei variabilelor numerice și categorice, s-au obținut informații valoroase despre caracteristicile demografice și genetice ale pacienților, precum și despre răspunsul lor la tratament. Aceste informații sunt cruciale pentru personalizarea tratamentului și îmbunătățirea

managementului AMS. Monitorizarea continuă și evaluarea periodică a ratelor de abandon sunt esențiale pentru intervenții proactive și o gestionare mai eficientă a bolii pe termen lung, contribuind la îmbunătățirea standardelor de îngrijire pentru pacienții cu AMS.

STUDIUL II. EVALUAREA CALITĂȚII VIEȚII PACIENȚILOR ROMÂNI CU AMS SUB ADMINISTRAREA TRATAMENTULUI CU NUSINERSEN

Material și metodă

Al doilea studiu a investigat calitatea vieții unui grup de 43 de pacienți români diagnosticați cu AMS tip 1, 2 sau 3, utilizând un chestionar online administrat între august 2021 și ianuarie 2022. Inițial planificat ca un interviu față în față, restricțiile impuse de pandemia de COVID-19 au necesitat adaptarea la un format digital, utilizând platforma Google® Forms pentru colectarea răspunsurilor. Studiul nu a implicat colectarea datelor personale, garantând astfel anonimitatea și confidențialitatea participanților. Chestionarul SF-36 folosit măsoară opt dimensiuni ale calității vieții, de la funcționarea fizică și energia până la sănătatea generală și durerea corporală. A fost inițial validat pentru adulți și adaptat treptat pentru utilizare la tineri începând cu vârsta de 12 ani. Informațiile pentru copiii mai mici au fost furnizate de părinți sau tutori. Evaluarea a inclus, de asemenea, întrebări despre factorii demografici și specifici bolii, cum ar fi tipul de AMS și utilizarea suportului ventilator. Scorurile din SF-36 sunt calculate transformând răspunsurile în scoruri procentuale, care sunt apoi agregate pentru a produce scoruri scalare pentru fiecare dimensiune. Lipsa datelor din anumite răspunsuri este omisă din calculele finale pentru a păstra acuratețea scorurilor. Această metodologie detaliată și atenția acordată confidențialității și preciziei datelor subliniază valoarea SF-36 în evaluările clinice și studiile de cercetare în contexte variate de sănătate.

Rezultate

Cea de-a doua parte a studiului nostru a implicat administrarea unui chestionar de evaluare a calității vieții unui grup de 43 de pacienți, oferind date noi și cuprinzătoare despre îmbunătățirea performanțelor acestora în urma tratamentului cu nusinersen. Am analizat un eșantion variat de pacienți cu vârste între 3 și 72 de ani, având o distribuție vârstică înclinată spre dreapta, indicând o predominanță a tinerilor în cohorta noastră. În această grupă, 30% sunt copii sub 14 ani și 70% sunt persoane peste această vârstă, cu o vârstă medie de 22,52 ani. Acest lucru sugerează că majoritatea pacienților noștri sunt relativ tineri, confirmat și de vârsta mediană de 20 de ani.

Analiza noastră a dezvăluit o mare variabilitate în vârste, cu un interval interquartilic care arată o gamă largă de vârste între pacienți. De asemenea, deviația standard mare

subliniază diversitatea vârstei în cadrul grupului. Testul Shapiro-Wilk a confirmat că distribuția vârstei nu este normală, cu o valoare p semnificativă, indicând specificitatea distribuției vârstei în cohorta noastră (Figura 2.).

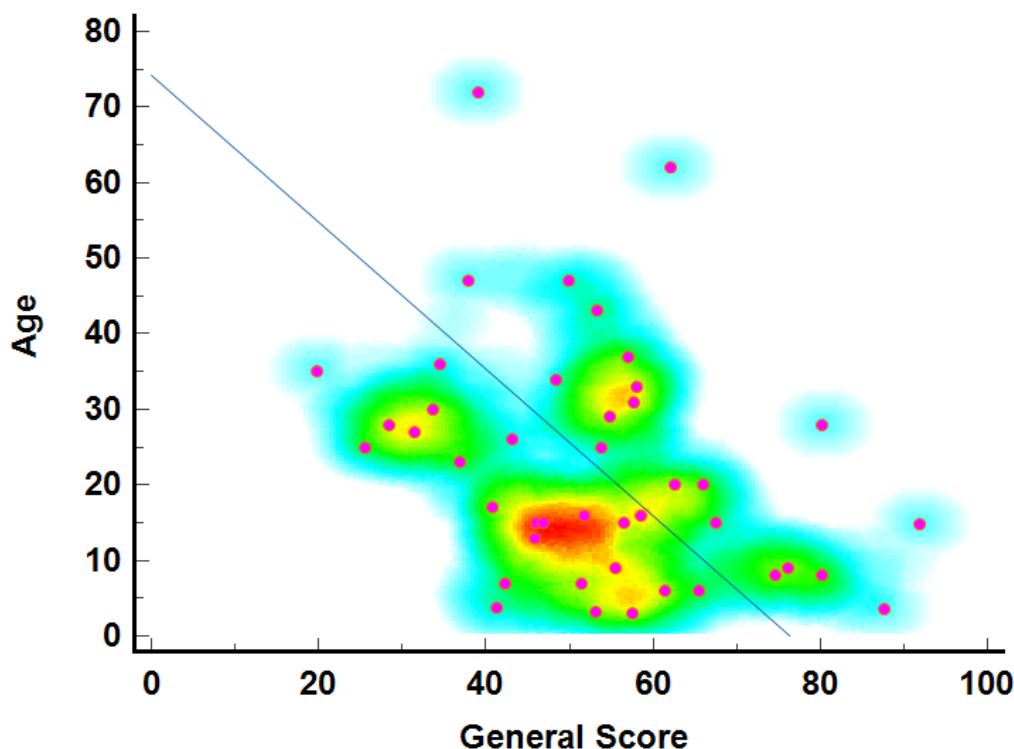


Figura 2. Heatmap-ul corelației scorului general cu vârsta

Vârsta medie la momentul diagnosticului a fost de aproximativ 2,95 ani, majoritatea diagnosticărilor având loc în jurul vârstei de 2 ani, ceea ce reflectă o concentrare a diagnosticărilor în copilăria timpurie, cu puțină variabilitate între cazuri. Rezultatele testului Shapiro-Wilk pentru diagnostic au subliniat, de asemenea, că vârsta la diagnosticare nu urmează o distribuție normală, ci una specifică pentru această cohortă, accentuând necesitatea unor abordări diferite în funcție de vârstă pentru tratamente și intervenții.

Studiul a inclus, de asemenea, evaluarea diverselor variabile categorice legate de AMS, precum tipul bolii, numărul de copii ale genei SMN2, locația geografică, mobilitatea pacienților, necesitatea nutriției enterale și dependența de ventilator. A reieșit că AMS tip 2 este cel mai comun, afectând 60,4% din pacienți, urmat de tipul 3 și tipul 1, acesta din urmă fiind cel mai sever.

Din punct de vedere geografic (Figura 3), majoritatea pacienților locuiesc în zone urbane, reflectând accesul mai bun la facilități medicale. În ceea ce privește mobilitatea, majoritatea pacienților nu pot merge, ceea ce ilustrează impactul sever al AMS asupra funcției motorii. Un procent relativ mic de pacienți necesită nutriției enterale, ceea ce indică o capacitate relativă de a gestiona alimentația în mod normal, în ciuda severității AMS. În

privața ventilării mecanice, peste jumătate dintre participanți necesită acest tip de suport, subliniind impactul bolii asupra funcției respiratorii.

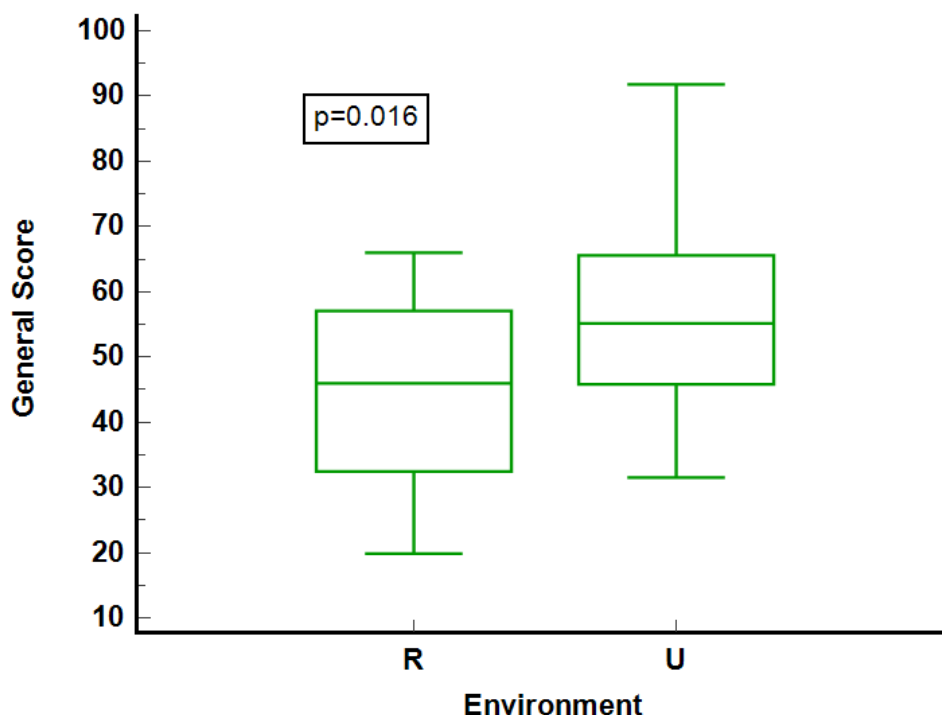


Figura 3. Scorul general stratificat după mediul de proveniență

Aceste rezultate arată complexitatea AMS și subliniază necesitatea unei abordări personalizate în gestionarea și tratamentul acestei afecțiuni, furnizând date valoroase pentru înțelegerea mai profundă a bolii și pentru îmbunătățirea strategiilor de intervenție. Aceste informații sunt esențiale pentru optimizarea rezultatelor clinice pentru pacienții afectați de această condiție debilitantă și subliniază importanța continuării cercetărilor pentru a include un spectru mai larg de populație și pentru a adresa nevoile specifice ale diferitelor subgrupuri de pacienți cu AMS.

ELEMENTE DE ORIGINALITATE ȘI CONTRIBUȚII PERSONALE

Prima contribuție majoră a acestei lucrări este aplicarea și validarea în premieră pentru România a unor metode complexe de analiză genetică și clinico-terapeutică a pacienților cu AMS, subliniind particularitățile genetice specifice acestei populații. De asemenea, teza aduce inovații prin dezvoltarea și implementarea unor noi protocoale de tratament bazate pe recente descoperiri în terapia genică și farmacologică, orientate spre personalizarea tratamentului pentru pacienți în funcție de profilul lor genetic și clinico-patologic specific.

Un alt aspect inovator este introducerea și adaptarea unei scale de evaluare funcțională pentru pacienții cu AMS, ajustată la contextul medical și socio-cultural din România, care permite o monitorizare mai precisă și mai eficientă a evoluției bolii și a răspunsului la tratament. Aceste contribuții reflectă un angajament profund față de îmbunătățirea îngrijirii pacienților cu AMS și oferă o bază solidă pentru cercetările viitoare, precum și pentru dezvoltarea politicilor de sănătate publică în acest domeniu.

LIMITELE ACESTEI TEZE DE DOCTORAT

Această teză de doctorat oferă perspective importante asupra managementului AMS, dar are câteva limitări. În primul rând, dimensiunea mică a eșantionului, specifică studiilor privind boli rare, poate afecta generalizabilitatea rezultatelor, deoarece nu reprezintă întreaga populație de pacienți cu atrofie musculară spinală din România. Acest lucru poate limita aplicabilitatea descoperirilor în alte contexte sau subpopulații. În al doilea rând, concentrarea geografică pe centrele urbane poate omite particularitățile și nevoile pacienților din zonele rurale, care pot avea acces diferit la tratamente și servicii medicale. Aceasta introduce un bias potențial în interpretarea datelor și în formularea recomandărilor de politică sănătate. În plus, absența unui grup de control poate duce la interpretarea greșită a eficacității intervențiilor terapeutice, deoarece nu permite compararea evoluției bolii cu un grup care nu primește tratamentul experimental. În cele din urmă, studiul recunoaște necesitatea unor cercetări suplimentare pentru a rafina abordările terapeutice, sugerând că actualul nivel de înțelegere a bolii și a opțiunilor de tratament este incomplet. Aceste limitări subliniază importanța extinderii cercetării pentru a include eșantioane mai mari și mai diverse, precum și pentru a implementa design-uri de studiu care să permită evaluări mai robuste ale intervențiilor clinice.

CONCLUZII GENERALE

În concluzie, studiile cuprinse în această teză de doctorat care acoperă cinci ani de cercetare au oferit perspective cruciale în gestionarea atrofiei musculare spinale și aspectele conexe:

Studiul prezentat în lucrare este împărțit în două faze esențiale, vizând efectele tratamentului cu nusinersen pe funcția motorie și calitatea vieții pentru pacienți cu AMS de tip 2 și 3.

Primul studiu, desfășurată pe 37 de pacienți adulți pe o perioadă de 54 de luni, s-a concentrat pe evaluarea impactului nusinersenului asupra funcției motorii, utilizând scale validate cum ar fi RULM și HFSME.

Al doilea studiu a analizat efectele tratamentului asupra calității vieții pacienților pediatrici și adulți, folosind chestionarul SF-36 la inițierea tratamentului și la 6 luni după. Această cercetare a oferit perspective valoroase asupra avantajelor tratamentului, dar și asupra limitărilor metodologice, incluzând mărimea eșantionului și ratele de abandon.

Ambele studii subliniază îmbunătățirile semnificative aduse de nusinersen în funcția motorie și calitatea vieții, evidențiind, de asemenea, influența factorilor demografici și genetici asupra rezultatelor tratamentului. Aceste constatări demonstrează concordanța cu literatura de specialitate și necesitatea continuării cercetărilor pentru a rafina și extinde aplicațiile terapeutice ale nusinersenului, cu un focus special pe adaptarea tratamentelor la particularitățile genetice și demografice ale pacienților.

Pe scurt, această teză de doctorat contribuie în mod semnificativ la dezvoltarea domeniului prin abordarea aspectelor critice ale managementului AMS. Aceste constatări oferă o bază pentru dezvoltarea strategiilor de terapie personalizată și îmbunătățirea rezultatelor pentru persoanele care trăiesc cu AMS.

STUDII VIITOARE

În viitor, intenționez să avansez cercetarea în acesta boala rare – atrofia musculară spinală. Cercetarea mea să exploreze terapii personalizate și strategii de tratament inovative, având în vedere variațiile genetice dintre pacienți. E necesară extinderea eșantioanelor la diverse populații și grupuri de vârstă pentru a evalua eficacitatea tratamentelor pe termen lung (inclusiv prin testarea neurofilamentelor) și a înțelege mai bine impactul intervențiilor timpurii precum un program national de screening neonatal AMS. De asemenea, cercetarea ar beneficia de colaborări internaționale pentru a îmbunătăți protocoalele de tratament și a integra noi descoperiri genetice și moleculare în practica clinică. Aceasta va contribui semnificativ la personalizarea îngrijirii și la optimizarea rezultatelor pentru pacienții cu AMS.