

UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CATANIA

FACOLTA' DI MEDICINA E CHIRURGIA

DOTTORATO DI RICERCA IN

MALATTIE GENETICHE DELL'ETA' EVOLUTIVA - XXIV CICLO

Coordinatore: Prof. ssa Teresa Mattina

Dr. Laura Di Dio

Sindrome da microduplicazione 16p13.3

espansione del fenotipo

TESI DI DOTTORATO

Tutor:

Chiar.mo Prof.ssa Teresa Mattina

ANNO ACCADEMICO 2010-2011

INDICE

| | | |
|----------------------------|------|----|
| <u>INTRODUZIONE</u> | pag. | 2 |
| CASE REPORT | pag. | 7 |
| RISULTATI E METODI | pag. | 13 |
| DISCUSSIONE | pag. | 16 |
| BIBLIOGRAFIA | pag. | 29 |

INTRODUZIONE

Le sindromi da microalterazione cromosomica sono sindromi costituzionali con ritardo mentale e anomalie fenotipiche multiple causate da sbilanci di specifiche regioni del genoma. Se il riarrangiamento cromosomico include poche megabasi viene detto “criptico” perché spesso non è diagnosticabile con un esame cromosomico convenzionale.

Il tratto di DNA genomico interessato dalla ricombinazione è, in alcuni casi, fiancheggiato da dupliconi cioè blocchi di poche sequenze ripetute (Low Copy Repeats). I dupliconi mediano una eventuale ricombinazione omologa non allelica alla meiosi e possono essere alla base, quindi, di microdelezioni o microduplicazioni. In conseguenza di ciò nelle sindromi da microalterazione cromosomica l'estensione del difetto genetico, ha spesso uguale dimensione nei diversi individui affetti, inoltre alla microdelezione di un tratto può corrispondere il suo reciproco e cioè la microduplicazione dello stesso tratto [1].

Per molti anni, tuttavia, cioè fino a quando è stata disponibile solo la tecnica tradizionale e FISH per l'analisi di cromosomi metafasici, erano conosciute soltanto le microdelezioni delle regioni fiancheggiate da dupliconi. La mancata diagnosi citogenetica-molecolare delle microduplicazioni è stata attribuita a vari possibili fattori:

- ad un evento selettivo di microdelezione mediato dai dupliconi,

- ad una mancata penetranza clinica della duplicazione, che, essendo in genere meglio tollerata sul piano fenotipico rispetto alla delezione, può sfuggire all'accertamento clinico.

In realtà l'applicazione della tecnica array-CGH nella diagnosi del ritardo mentale idiopatico, sta dimostrando come le stesse regioni interessate da microdelezione siano spesso interessate da microduplicazione, con possibile fenotipo clinico, confermando che il meccanismo di ricombinazione omologa non allelica è un frequente e specifico meccanismo di mutazione cromosomica strutturale.

Per la maggior parte delle regioni cromosomiche inizialmente associate solo a microdelezione, come la 22q11.2 della VCF, la regione 7q11.23 della sindrome di Williams, la regione 17p11.2 della SMS e 17p13 della Miller Dicker è oggi noto il corrispettivo fenotipo da microduplicazione. [8]

Bisogna precisare che le microduplicazioni sono comunque meno frequenti delle microdelezioni.

Una microdelezione può infatti originare da una più ampia gamma di meccanismi di ricombinazione: può essere intracromatidica, intercromatidica, o intracromosomica, mentre una microduplicazione origina solo da una ricombinazione intercromatidica o intracromosomica [Neri, Genuardi 2010]. Il fenotipo da microduplicazione, inoltre, ha una minore specificità di segni e sintomi, oltre che in generale una minore gravità clinica perché di norma la trisomia è meglio tollerata.

L'identificazione delle sindromi da microduplicazione è avvenuta con un processo inverso, dal genotipo al fenotipo, reso possibile dalla diffusione della tecnica array-CGH al ritardo mentale idiopatico. Con questo sistema si sono evidenziati riarrangiamenti genomici ricorrenti ed è stato possibile osservare in associazione ad essi, condizioni sindromiche ricorrenti, fino a quel momento sconosciute, con quadro fenotipico mild ma riconoscibile.

La maggior parte delle sindromi da microdelezione coinvolgono diversi geni e venivano definite *sindromi da geni contigui*, proprio per indicare che alla costituzione del fenotipo corrispondente concorrono molti geni presenti in posizione contigua sui cromosomi. Tuttavia, in alcuni casi, il fenotipo di una sindrome da microdelezione può essere caratterizzato in maniera preminente da un singolo gene della regione deleta e in questo caso anche una mutazione del gene con perdita di funzione, può determinare un fenotipo sovrapponibile determinandosi così un continuum fra sindrome cromosomica e sindrome mendeliana.

Nel genoma sono presenti CNV (copy number variation) o polimorfismi (delezioni, duplicazioni, amplificazioni) che hanno diverse dimensioni da 40kb a 2Mb e sono ampiamente distribuiti in tutto il genoma. Vista l'ampia distribuzione di CNV lo studio del DNA parentale aiuta l'interpretazione dei dati forniti dagli array-CGH.

Un'ulteriore tipologia della tecnica di array-CGH è quella definita SNP array (Single Nucleotide Polymorphism). Questa metodologia sfrutta l'elevato polimorfismo di genomi individuali relativi a

singoli nucleotidi. La tecnica SNP array è in grado di diagnosticare non solo variazioni quantitative del genoma ma anche le disomie uniparentali, l'origine parentale di uno sbilancio.

Diversi sbilanciamenti cromosomici rilevati dagli SNP-array hanno chiarito nuove correlazioni genotipo-fenotipo, contribuendo a definire svariate condizioni cliniche. Un numero sempre crescente di microduplicazioni sono rilevate da questa tecnica, e spesso riguardano le stesse regioni cromosomiche che sono alterate in sindromi da microdelezione clinicamente riconoscibili. Poiché alcune microduplicazioni sono poco conosciute, le correlazioni genotipo-fenotipo sono più difficili.

Il fenotipo nelle sindromi cromosomiche è complesso, ed è sicuramente dovuto ad una miscela di effetti tra cui: la componente genica (geni sensibili al dosaggio), l'interazione tra geni contigui, l'interazione con i geni del cromosoma omologo, l'interazione con il background genetico del paziente, l'edema prenatale, gli stimoli provenienti dall'ambiente, tutto ciò è causa di variabilità di espressione e può giustificare la percentuale di penetranza di alcune manifestazioni.

Bisogna sottolineare che solo alcuni geni sono sensibili al dosaggio e, fra questi, pochi influenzano il fenotipo sia in caso di aploinsufficienza che di duplicazione, essendo sensibili sia al dosaggio genico ridotto che a quello aumentato.

Riportiamo un caso con caratteristiche fenotipiche riconoscibili, ritardo psicomotorio e di crescita, in cui è stata rilevata dagli

SNP-array una duplicazione di 0.4 Mb nella regione cromosomica 16p13.3. Tale regione è implicata nella sindrome di Rubinstein Taybi, dovuta a microdelezione della regione o delezione del gene CREBBP o mutazione del gene CREBBP con loss of function.

CASE REPORT

Il paziente è un ragazzo di 11 anni, giunto a consulenza per note dismorfiche, bassa statura, ritardo mentale e motorio. L'anamnesi familiare è negativa per patologie degne di nota. Primogenito di genitori non consanguinei con un fratello minore in abs. La gravidanza era decorsa con oligoidramnios. La madre nega l'uso di sostanze durante la gravidanza. Nato a termine, ma piccolo per l'età gestazionale (peso 2300 g, <3° pc, altezza 46 cm, 3°pc, circonferenza cranica 31 cm, <3°pc). Distress respiratorio con APGAR 6 e 7 a 1 e 5 minuti. Intervento di ernia inguinale all'età di 1 anno.

Il ritardo psicomotorio e mentale del paziente è stato evidente sin dal primo anno di vita. A 18 mesi, non parlava e non era in grado di alzarsi, la deambulazione autonoma è stata raggiunta all'età di 2 anni. A 11 anni il suo peso è 24,2 kg (<3°pc), l'altezza 133,5 centimetri (10°pc) e la circonferenza cranica 49 cm (<3°pc).

All'esame obiettivo presenta:

Facies: microcefalia, rime palpebrali rivolte verso l'alto, fessure palpebrali strette, ptosi e epicanto, discromia dell'iride, miopia, ponte nasale ampio, labbra sottili, bocca a "V" con gli angoli rivolti in basso, orecchie piccole, auricola prominente a destra e palato stretto.

Mani: piccole e ampie con pollici corti e a basso impianto, lieve sindattilia cutanea e clinodattilia del 5 ° dito, mani serrate con incapacità all'estensione completa delle dita.

Piedi: piccoli con metatarso varo e primo dito corto e tozzo.

Voce nasale. Deformità toracica, ipercifosi dorsale, iperlordosi lombare, scoliosi, gomiti e ginocchi rigidi.

Genitali: scroto a scialle, ipospadia, per i quali aveva subito tre interventi chirurgici.

All'esame neurologico presenta ritardo nello sviluppo psicomotorio, ma mostra adattamento all'ambiente. La valutazione delle funzioni cognitive rileva ritardo mentale da moderato a grave (WISC-R: QIV 44, QIP 38, QIT 34).

Radiografie scheletriche, tra cui Rx del cranio mostrano un'età ossea normale e confermano la presenza di microcefalia e altre anomalie, tra cui: torace quadrato, prevalenza dei diametri longitudinali del bacino e schisi dell'arco posteriore della prima vertebra sacrale, femori asimmetrici con ampio angolo di inclinazione del femore a destra, falangi distali del primo e secondo dito delle mani di forma conica, deformità delle seconde falangi del quinto dito, brevità delle ossa del primo metatarso e falangi distali del primo dito dei piedi di forma conica.

L'ecocardiografia ha mostrato iperecogenità della valvola mitrale, e atrio sinistro prolassante con insufficienza lieve o moderata.

L'ecografia addominale ha mostrato reni ectopici e ipoplasici (58 x 44 x 33 mm).

RMN encefalo nella norma.









RISULTATI E METODI

L'analisi cromosomica eseguita con una risoluzione di 550 bande ha rivelato un cariotipo normale maschile 46,XY. L'analisi con SNP-array è stata eseguita utilizzando Affymetrix Genome Wide Human SNP Array 6.0 (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA), che include oltre 906.600 polimorfismi a singolo nucleotide (SNPs) e più di 946.000 sonde per la rilevazione delle copy number variations.

La mediana della distanza tra marcatori su tutti i 1,8 milioni SNPs e i marker copynumber è inferiore a 700 basi.

La preparazione del campione, l'ibridazione e la scansione sono stati effettuati utilizzando GeneChip® Instrument System hardware secondo le istruzioni del produttore. Al fine di ottenere numero di copie (CN), dai dati grezzi (.CEL file), l'analisi non appaiata è stata effettuata utilizzando Affymetrix Genotyping Console 3.0.2 (Affymetrix, Santa Clara, CA) software che utilizza 270 (HapMap) campioni raccolti come controlli.

Regioni amplificate e / o delete sono stati rilevate utilizzando il metodo del modello di Hidden Markov.

Questo risultato ha mostrato una duplicazione 16p13.3 da CN_715520 (3.713.614 bp) a SNP_A-4.300.781 (4.122.906) (Tabella supplementare), il primo e l'ultimo oligonucleotide duplicato dal telomero. Il segmento duplicato ha un'estensione di 409 kb e comprende soltanto 2 geni RefSeq (CREBBP e ADCY9), in base alla UCSC Genome Browser (<http://genome.ucsc.edu/>;

March 2006), Figura 1. Questa duplicazione era assente in entrambi i genitori, suggerendo che il riarrangiamento è patogenetico.

La microduplicazione comporta la presenza aggiuntiva di una regione cromosomica. La regione in questione è interstiziale sul braccio corto del cromosoma 16.

La trisomia presente nel paziente potrebbe essere dovuta ad una duplicazione tandem o invertita, in prossimità della sede fisiologica o essere traslocata altrove.

La duplicazione può essere de novo o può essere la conseguenza sbilanciata di una traslocazione bilanciata parentale che non è possibile evidenziare con esame array-CGH.

Neanche l'analisi effettuata con SNP array consente di evidenziare le traslocazioni inserzionali bilanciate. La duplicazione presente nel paziente potrebbe essere trasposta su un altro cromosoma in uno dei due genitori. Studi recenti hanno infatti evidenziato che in circa 1 caso ogni 300 le anomalie sbilanciate de novo sono dovute a traslocazioni inserzionali presenti in uno dei genitori.

Fig. 1. la microduplicazione 16p13.3 è mostrata tramite Genome Browser con Affymetrix Genotyping Console software v. 3.0.2. A: l'intensità di segnale di ogni sonda è espresso come log₂ratio (VERDE) mentre the copy number state è mostrato con una linea (BLU). B: sono mostrati i geni duplicati

DISCUSSIONE

La duplicazione della regione subtelomerica del cromosoma 16p13 (dup16p13) sta emergendo come un nuovo disordine da geni contigui con un fenotipo riconoscibile [10-12]. La parte subtelomerica del braccio corto del cromosoma 16 è una regione ricca di geni e comprende circa 255 geni [13], tra cui CREBBP, le cui mutazioni e microdelezioni sono responsabili della sindrome di Rubinstein-Taybi [5] .

La Rubinstein-Taybi (RTS) è una sindrome da aploinsufficienza causata da microdelezione in posizione 16p13.3 (il 10%, incluso CREBBP) o mutazioni con perdita di funzione di CREBBP (45%) [5,6]. Microduplicazioni 16p13 nella regione Rubinstein-Taybi sono state descritte recentemente, e determinano un fenotipo caratteristico [6-9].

Il fenotipo clinico della sindrome da duplicazione 16p13 è il risultato, fra l'altro, di effetti aggiuntivi dovuti ad uno squilibrio di un certo numero di geni contigui. Il contributo individuale di ciascuno di questi geni per il fenotipo dup16p13 è sconosciuto. Studi di correlazione genotipo-fenotipo in pazienti eterozigoti per duplicazioni che interessano singole sottobande aiuta a chiarirne il ruolo.

Nelle duplicazioni 16p, le seguenti caratteristiche sono osservate frequentemente: grave ritardo dello sviluppo, grave deficit di crescita pre e postnatale, problemi di alimentazione, pianto flebile, ipotonia, dolicocefalia, caratteristiche dismorfie (ipertelorismo, rime palpebrali corte e rivolte verso l'alto, sopracciglia e ciglia sparse, ponte nasale largo e piatto e narici anteverse, microretrognazia e palatoschisi, orecchie a basso impianto e malformate), pterigio del collo, pollice a basso impianto, ipoplasico o assente, clinodattilia delle dita, dita corte, cifoscoliosi, profonda fossetta sacrale, lussazione congenita dell'anca, deformità dei piedi, ipertono muscolare, contratture di diverse articolazioni, e anomalie cardiache (difetto del setto interatriale - ASD, difetto del setto interventricolare -VSD, tetralogia di Fallot) [8, 10, 12, 14-16]. Raramente sono evidenziate: arteria ombelicale unica [17], ipertensione polmonare [18, 19], coartazione aortica e altre anomalie vascolari [18], ano anteriorizzato, ernia ombelicale, ernia inguinale bilaterale, anomalie genitali (criptorchidismo, assenza delle ovaie) [12, 16], micropene [11, 20] ipoplasia renale, reflusso vescico-ureterale, rene ectopico [18], stenosi prossimale del

duodeno, agenesia della milza, ipoplasia del timo [17], malattia di Hirschsprung, genitali ambigui disgenesia gonadica [16].

Attualmente sono stati pubblicati solo tredici pazienti con dup 16p13.3 di meno di 3 Mb, valutati tramite array CGH [8, 14]. La più piccola regione di sovrapposizione mappa 186-260 kb e contiene solo il gene CREBBP, Figura 2.

Fig. 2.

La figura (UCSC Genome browser NCBI build 36, March 2006) mostra la regione duplicata nel nostro paziente e i pazienti riportati negli altri studi. L'ultima linea nera rappresenta la minima regione duplicata ed interessa solo il gene CREBBP.

Il caso da me presentato presenta una piccolissima dup16p13.3, di circa 0,4 Mb, il paziente ha una delle più piccole duplicazioni segnalate finora, che comprende la regione cromosomica della Rubinstein-Taybi, includendo il gene CREBBP e ADCY9.

Confrontando il nostro caso con quelli di Thienpont [8], la regione minima di sovrapposizione che mappa da 3874-3927 a 3667-3688 può essere leggermente ridotta spostando l'estremo telomerico da 3,667-3,688 a 3,713. La regione critica è dunque compresa fra 3,713 (estremo telomerico) e 3,874-3,927 (estremo centromerico). Come segnalato da Thienpont è dunque confermato che il gene

CREBBP è l'unico gene duplicato sufficiente a determinare la sindrome.

Le caratteristiche cliniche dei tre casi precedentemente segnalati con minima duplicazione interstiziale che coinvolge 16p13.3 [8] e quelle dei bambini con ampia duplicazione 16p [12], vengono confrontati al nostro caso e riassunti nella Tabella 1.

| Autor | Rochat 2007 Review (11) | Thienpont 2010 Cases (3) | Our case | | | |
|---------------------------------|------------------------------------|---|-----------------------|---|--------------------------------------|--|
| Dimension of duplication | Wide 16p | 0.639 Mb | 0.480 Mb | 0.356 Mb | 0.409 Mb | |
| Age | Interrupted - 24 y | 2 y 9m | 15 y | 8 y | 11 y | |
| Sex | 4M/7F | F | M | F | M | |
| Birth weight | <10 th p 6/7 | 10 th p | 25 th p | 3p | <3 rd p | |
| Postnatal weight | <3 rd p 5/5 | Normal | normal | Normal | 3 rd p | |
| Postnatal height | <3 rd p 5/5 | 25 th -50 th p | 75 th p | 10 th -25 th p | 10 th -25 th p | |
| Postnatal head circum. | <3 rd p 5/5 | 50 th -75 th p | 75 th p | / | << 3 rd p | |
| Mental retardation | 6/6 | Mild | moderate | Low-normal intelligence Speech articulation defect | moderate | |
| Hypotonia | 2/3 | + | | Facial | | |
| Seizures | 5/7 | | | | - | |
| Feeding difficulties | 3/5 | | | | + | |
| Pitched weak crying | 3/4 | | | | + | |
| Round face * | 4/4 | | | | | |
| Long face * | | | | | + | |
| Micro/dolicocefaly | 3/7 | + | | | + | |
| Short forehead | 2/6 | | | | + | |
| Sparce hair | 2/7 | | Low frontal hair line | | - | |
| Short neck | 2/3 | | | | - | |
| Hypertelorism | 4/8 | | | | + | |
| Prominent glabella | 2/3 | | | | - | |
| Short palpebral fissures | 5/8 | | | | + | |
| Upward slant of | 4/4 | + | | | + | |

| | | | | | |
|---|-------|--------------|-----------------------------|------------------------|--|
| palpebral fissures | | | | | |
| Blepharoptosis | | | | | + |
| Strabismus | | + | | | |
| Broad/depressed nasal bridge | 5/8 | + | + | Short hypoplastic nose | + |
| Anteverses nostrilis | 4/8 | | | | + |
| Rounded nasal tip | | | | | + |
| Maxillary hypoplasia | 7/8 | | | | + |
| Hypoplastic mandible | 2/2 | Micrognathia | | | - |
| Long philtrum | 2/2 | | | + | + |
| High arched palate | 9/9 | | | | + |
| Lips | | | | | Thick, downturned corners |
| Small crowded teeth | 2/6 | | | + | + |
| Cleft palate | 9/9 | | | | - |
| Hyperscialorrea | 2/2 | | | | + |
| Low set ears | 7/9 | + | | + | + |
| Appendices or protruding dysplastic auricles | 9/11 | | + | | + |
| Heart anomalies | 4/8 | Normal | Type 2 atrial septal defect | normal | hyperechogenity of the mitral valve, prolapsing in the left atrium, with mild-moderate insufficiency |
| Diastasis rectus abdominis | 2/2 | | | | - |
| Bilateral inguinal hernia | 2/2 | | | | + |
| Umbilical hernia | 2/2 | | | | - |
| Ventrally displaced anus | 2/7 | | | | - |
| Renal anomalies | - | | | | ectopic left kidney with a reduced volume from the normal range |
| Absent or anomalous ovaries | 2/4 f | | | | / |
| Cryptorchidismo | 2/2 m | | | | + |
| Hypospadias | - | | | | + |
| Scrotum | | | | | Shawl scrotum |
| Wrist contracures | 2/2 | | | | |
| Hand: proximally | 3/4 | + | | + | + |

| | | | | | |
|-------------------------------------|--|--------------|--|------------------------------------|--|
| placed thumb | | | | | |
| Hypoplastic thumb | 5/8 | + | | Hyperconvex nails | + |
| Clinodactyly v° finger | 2/2 | | | | + |
| Short phalanges of v° finger | 2/7 | | | | - |
| Overlapping fingers | 7/8 | | | | - |
| Cutaneous syndactyly | | | Mild 2-4 fingers | | + |
| Camptodactyly | | | 2-4 fingers | | + |
| Single transverse crease | 4/10 | | | | - |
| Feet camptodactyly | | - | | + | - |
| Anomalies or deformities | 2/2 | Short alluce | | Dysplastic toenails, hallux valgus | small feet metatarsus varus short and stubby first toes |
| Kyphoscoliosis | 3/7 | | | | + |
| Thoracic deformity | | | | | + |
| Limited hip motility | 5/8 | | | | |
| Hip dislocation | 2/2 | | | + | Wide angle |
| Limited knees motility | 3/7 | | | | + |
| Others | Torticollis Spondylodesis Absence of 12 th rib Urticaria Quincke edema (1/11) | | Incomplete extension elbows, Hirsutism synophrys | | Schisis of the arch of the 1 st sacral Stiff elbows and knees, |
| Previously unreported | | | | | Cone shaped distal phalanges of fingers and toes |

* age related

Rispetto agli altri casi con minima dup 16p13.3, il nostro paziente mostra un fenotipo molto più complesso con caratteristiche cliniche

e una gestalt del viso simile a quella dei pazienti con duplicazione più ampia [8, 12, 14, 18].

Nei disordini cromosomici molte caratteristiche fenotipiche presentano penetranza incompleta, con pazienti che mostrano fenotipi variabili, che vanno da lievi a gravi.

Nell'articolo del 2010, Thienpont riporta due pazienti con fenotipo tipico, in cui la stessa duplicazione, è stata rilevata in un genitore asintomatico (non penetrante) [8]. Inoltre in tre propositi di Thienpont 2010, l'espressione fenotipica è comunque lieve, il che suggerisce una ridotta penetranza. Nel mio caso, che ha una duplicazione simile, le caratteristiche cliniche del paziente concordano con quelle osservate nei pazienti con duplicazione molto più ampia.

In accordo con precedenti reports [8, 9, 14] suggerisco che CREBBP sia il gene critico responsabile della sindrome da microduplicazione 16p13.3.

Sindromi dovute a sbilanciamenti cromosomici sono di solito considerate sindromi da geni contigui e il fenotipo è più complesso negli sbilanciamenti più ampi proprio per il contributo di più geni (contigui).

Sebbene bambini con ampie duplicazioni 16p presentino un grave ritardo nello sviluppo, il caso qui riportato mostra che l'iperespressione del gene CREBBP ha un ruolo fondamentale per l'espressione delle caratteristiche cliniche che si osservano negli individui con dup16p13.

Oltre alle già segnalate anomalie scheletriche, nel paziente abbiamo si osserva che le falangi distali, sia nelle dita delle mani che dei piedi, presentano forma conica.

Questa segnalazione originale mostra, nella duplicazione, un aspetto opposto a quello descritto nelle delezioni della stessa regione e cioè nei pazienti con RTS. Anche le rime palpebrali rivolte verso l'alto e il ponte nasale depresso osservati nella duplicazione 16p13 sono opposti alle rime palpebrali verso il basso e al naso a becco presenti nella sindrome di Rubinstein Taybi da delezione 16p13.

Sebbene nelle anomalie cromosomiche la patogenesi del fenotipo è molto complessa e non pienamente compresa, questi particolari aspetti del fenotipo 16pter nelle sindromi da duplicazione/delezione, che coinvolgono lo scheletro, possono rappresentare la diretta espressione fenotipica di un gene che è fortemente dose sensibile e mostra una soglia inferiore e una superiore.

La relazione tra mutazioni del gene CREBBP e anomalie di sviluppo dello scheletro è supportata dalla presenza di difetti scheletrici sia nei pazienti con RBS [21], nel topo null mutant Cbp [22], e nei topi con la proteina Cbp tronca [23], suggerendo che sia meccanismi di aploinsufficienza che effetti dominanti negativi sono implicati nello sviluppo osseo alterato.

D'altronde è stato dimostrato che mutazioni e delezioni che determinano perdita di funzione del gene causano la RTS, provando

che lo sviluppo umano è sensibile al dosaggio genico di CREBBP. [8]

Duplicazioni reciproche si stanno recentemente delineando per diverse sindromi da microduplicazione. Alcuni esempi sono le duplicazioni 7q11.23 (reciproche alle sindrome di Williams - Beuren), duplicazioni 15q11.2 (reciproche alle sindromi di Prader-Willi e Angelman), duplicazioni 17p11.2 (conosciuta come sindrome Potocki - Lupski e reciproca alla sindrome di Smith - Magenis), duplicazioni 22q11.2 (reciproca alla sindrome di Di George), duplicazioni Xq28 (duplicazioni del gene MECP2 reciproco della sindrome di Rett) e duplicazioni 17p13.3 (reciproco della sindrome Miller – Dicker) [8].

In generale, dice Thienpont, le manifestazioni fenotipiche delle duplicazioni reciproche sono più lievi e molto più variabili di quelle evidenziate nelle delezioni. La scarsa/non penetranza documentata in due casi di Thienpont con dup 16p13.3 è stata riportata per altre duplicazioni (dup22q11.2, dup15q11.2). Da evidenziare che i difetti osservate nelle delezioni e nelle duplicazioni reciproche spesso coinvolgono gli stessi organi o funzioni (ad es. il cuore nella dup 22q11.2 e nella sindrome di Di George, il linguaggio nella dup 7q11.23 e nella sindrome di Williams-Beuren, i denti nella sindrome Potocki-Lupski e nella Smith-Magenis, i nervi nella neuropatia ereditaria con paralisi da pressione (HNPP) e nella Charcot-Marie-Tooth tipo 1°. Allo stesso modo, difetti nelle mani,

nei piedi e nel cuore sono stati riportati sia nelle duplicazioni che nelle delezioni 16p13.3.

In alcuni casi è stato anche notato un interessante fenotipo reciproco della delezione versus duplicazione. Ad esempio, nella delezione 7q11.2 i pazienti hanno un'elevata funzione verbale che si può paragonare al deficit del linguaggio osservato nella duplicazione 7q11.2, la punta del naso bulbosa riscontrata nei pazienti con dup16p13.3 può avere un reciproco nella columella prominente riscontrata nei pazienti con RTS, e l'artrogriposi può avere il reciproco nell'iperlassità articolare. Allo stesso modo le falangi distali a cono riscontrate nel paziente qui riportato possono avere il reciproco nel pollice slargato riscontrato nei pz con RTS.

Rio et al 2009 riporta una sindrome da midroduplicazione: una famiglia con duplicazione interstiziale Xq27.3q28. La duplicazione del braccio lungo del cromosoma X è rara ed è stata principalmente descritta in soggetti maschi con grave ritardo mentale. La duplicazione è stata trasmessa da madri eterozigoti in cui l'inattivazione della X con la duplicazione dava un fenotipo normale o lievemente anormale. La duplicazione della X in maschi XY determina una disomia, e l'aumento del dosaggio genico determina un fenotipo anomalo.

La microduplicazione include FMR1 e FMR2, e i pazienti presentano ritardo mentale sindromico. I tre maschi affetti presentano lieve ritardo mentale, bassa statura, criptorchidismo e ipogonadismo, deficit di testosterone. L'analisi di FMR1 ha rilevato un'espansione stabile delle triplette CGG senza metilazione

anomala e gli autori suggeriscono che la duplicazione possa determinare un aumento del trascritto di espressione di FMR1. Affermano inoltre, che molte caratteristiche, quali bassa statura, ipogonadismo ipergonadotropo, linguaggio normale, possono essere considerati fenotipi opposti a quelli osservati nei pazienti con X fragile.

Gli autori suggeriscono che per le caratteristiche fenotipiche la duplicazione interstiziale del cromosoma X potrebbe essere considerato il controtipo della sindrome X fragile.

In risposta all'articolo di Rio (2010), Neri e Di Raimo (2010) considerano il concetto di tipo e controtipo del tutto superato.

Il concetto di controtipo ha preso vita in Francia nei primi anni della citogenetica, ma non ha avuto molta fortuna e popolarità. Il termine controtipo è stato usato da Lejeune et al nel 1964 nella descrizione di un caso con parziale monosomia di un piccolo cromosoma acrocentrico. Gli autori pensavano si trattasse dello stesso cromosoma della sindrome di Down e che le manifestazioni cliniche del paziente fossero il contrario di quelle dei pz con DS. Nel '66 Reisman descrisse un altro caso con parziale monosomia 21 e fu coniato il termine antimongolismo. In *New Chromosomal Syndromes* (1977), Grouchy e Turleau usano il concetto di tipo e controtipo per sottolineare gli effetti opposti della trisomia e della monosomia parziale del 21. Neri e Di Raimo 2010, sostengono che l'analisi delle trisomie parziali del cromosoma 21 consente l'identificazione della regione critica per la DS, e singoli tratti fenotipici potrebbero essere dovuti ognuno a un singolo gene

triplicato. In realtà, sottolinea Neri, bisogna ricordare che non tutti i geni sul cromosoma 21 sono dose sensibili, e che la presenza di tre dosi di un gene non implica sempre un aumento della proteina corrispondente.

Dal punto di vista fenotipico Neri pensa che non sia opportuno utilizzare il concetto di tipo e controtipo.

La bassa statura osservata nei pz con dupX in realtà è una bassa statura familiare presente anche nelle madri carrier e quindi non è da contrapporsi all'alta statura dei pz con sindrome dell'X fragile. La microcefalia viene osservata in un paziente con dupXq27.3-Xq28, gli altri erano normocefalici e quindi non confrontabile alla macrocrania. L'ipogonadismo non è in contrasto con il macroorchidismo della sindrome dell'X fragile che non è sinonimo di ipergonadismo. Le mani e piedi piccoli, l'obesità e la voce alta e sottile non trovano un opposto nella sindrome X fragile.

In merito al concetto di tipo e controtipo pensiamo che solo alcuni particolari aspetti del fenotipo 16pter, quelli che coinvolgono lo sviluppo dello scheletro (le falangi distali di forma conica versus il pollice slargato, ponte nasale depresso), possono rappresentare l'espressione fenotipica di un gene che è fortemente dose sensibile e che mostra una soglia inferiore e una superiore. Questa osservazione non è in contrasto con le argomentazioni di Neri, in quanto, nello stesso soggetto altre manifestazioni fenotipiche, non ultima il ritardo mentale, non presentano caratteristiche opposte, ma, al contrario, sono sovrapponibili nella delezione e nella duplicazione.

BIBLIOGRAFIA

- [1] Neri G., Genuardi M. **Genetica umana e medica** Elsevier-Masson 2010
- [2] Berg JS, Brunetti-Pierri N, Peters SU, Kang SH, Fong CT, Salamone J, Freedenberg D, Hannig VL, Prock LA, Miller DT, Raffalli P, Harris DJ, Erickson RP, Cunniff C, Clark GD, Blazo MA, Peiffer DA, Gunderson KL, Sahoo T, Patel A, Lupski JR, Beaudet AL, Cheung SW. **Speech delay and autism spectrum behaviors are frequently associated with duplication of the 7q11.23 Williams-Beuren syndrome region.** Genet Med 2007, 9 (7):427-41.
- [3] Potocki L, Bi W, Treadwell-Deering D, Carvalho CM, Eifert A, Friedman EM, Glaze D, Krull K, Lee JA, Lewis RA, Mendoza-Londono R, Robbins-Furman P, Shaw C, Shi X, Weissenberger G, Withers M, Yatsenko SA, Zackai EH, Stankiewicz P, Lupski JR. **Characterization of Potocki-Lupski syndrome (dup(17)(p11.2p11.2) and delineation of a dosage-sensitive critical interval that can convey an autism phenotype.** Am J Hum Genet 2007, 80:633-49.
- [4] Gu W, Zhang F, Lupski JR. **Mechanism for human genomic rearrangements.** Pathogenetics 2008, 1:4.
- [5] Hennekam R. **Rubinstein-Taybi syndrome.** European journal of human genetics, 2006, 14:981-985.

- [6] Petrij F, Giles RH, Dauwerse HG, Saris JJ, Hennekam RC, Masuno M, Tommerup N, van Ommen GJ, Goodman RH, Peters DJ, Breuning MH. **Rubinstein-Taybi syndrome caused by mutation in the transcriptional co-activator CBP.** Nature 1995, 376:348-351.
- [7] Thienpont B, Breckpot J, Holvoet M, Vermeesch JR, Devriendt K. **A microduplication of CBP in a patient with mental delay and a congenital heart defect.** Am J Med Genet A 2007, 143:2160-4.
- [8] Thienpont B, Bena F, Breckpot J et al. **Duplications of the critical Rubinstein-Taybi deletion region on chromosome 16p13.3 cause a novel recognisable syndrome.** J. Med Genet 2010, 47:155-161.
- [9] Marangi G, Leuzzi V, Orteschi D, Grimaldi ME, Lecce R, Neri G, Zollino M.. **Duplication of the RubinsteineTaybi region on 16p13.3 is associated with a distinctive phenotype.** Am J Med Genet A 2008, 146A:2313e17.
- [10] Kokalj-Vokac N, Medica I, Zagorac A, Zagradisnik B, Erjavec A, Gregoric A. **A case of insertional translocation resulting in partial trisomy 16p.** Ann Genet 2000, 43:131–135.
- [11] De Ravel T, Aerssens P, Vermeesch JR, Fryns J-P. **Trisomy of chromosome 16p13.3 due to an imbalanced insertional translocation into chromosome 22p13.** Eur J Med Genet 2005, 48:355–359.

[12] Roschat MK, Riegel M, Schinzel A. **Long-term follow-up of a 26-year-old male with duplication of 16p, clinical report and review.** American Journal of Medical Genetics Part A 2007, 143A:399-408.

[13] <http://genome.ucsc.edu/>

[14] Dallapiccola B, Bernardini L, Novelli A, Mingarelli R. **Expanding the phenotype of Duplication of the Rubinstein-Taybi Region on 16p13.3** American Journal of Medical Genet Part A, 2009, 149A:2867-2870.

[15] Schinzel A, Kotzoi D, Brecevic L, Robinson W, Dutly F, Dauwerse H, Binkert F, Bauner A, Ausserer B. **Trisomy first, translocation second, uniparental disomy and partial trisomy third: a new mechanism for complex chromosomal aneuploidy.** Eur J Hum Genet 1997, 5:308-314.

[16] Schinzel A.; **Catalogue of imbalanced chromosome aberrations in man; 2nd edition,** Berlin, New York. De Gruiter 2001.

[17] Leschot NJ, De Nef JJ, Geraedts JPM, Becker-Bloemkolk MJ, Talma A, Bijlsma B, Verjaal M.. **Five familial cases with a trisomy 16p due to translocation.** Clinical Genetics 1979, 16:205-214.

[18] Digilio MC, Bernardini L, Capalbo A, Capolino R, Gagliardi MG, Marino B, Novelli A, Dallapiccola B. **16p subtelomeric duplication: a clinically recognizable syndrome.** European Journal of Human Genetics 2009, 17:1135-1140.

- [19] Movahhedian HR, Kashani IA, Sine D, Bull D, Lyons Jones K, Rothman A. **Pulmonary Hypertension and Trisomy 16**. *Pediatr Cardiol* 1998, 19:187-189.
- [20] O'Connor TA, Higgins RR. **Trisomy 16p in a liveborn infant and review of trisomy 16p**. *Am J. Med. Genet.* 1992, 42:316-319.
- [21] Wiley S, Swayne S, Rubinstein JH, Lanphear NE, Stevens CA. **Rubinstein-Taybi syndrome medical guidelines**. *Am. J. Med. Genet Part A* 2003, 119A: 101-110
- [22] Tanaka Y, Naruse I, Maekawa T, Masuya H, Shiroishi T, Ishii S. **Abnormal skeletal patterning embryos lacking a single Cbp allele: A partial similarity with Rubinstein-Taybi syndrome**. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94:10215-10220
- [23] Oike Y, Hata A, Mamiya T, Kaname T, Noda Y, Suzuki M, Yasue H, Nabeshima T, Araki K, Yamamura K. **Truncated CBP protein leads to classical Rubinstein-Taybi syndrome phenotypes in mice: implications for a dominant-negative mechanism**. *Hum Mol Genet* 1999, 8:387-396.
- [24] Rio M, Malan V, Boissel S, Toutain A, Royer G, Gobin S, Morichon-Delvallez N, Turleau C, Bonnefont JP, Munnich A, Vekemans M, Colleaux L. **Familial interstitial Xq27.3q28 duplication encompassing the FMR1 gene but not the MECP2 gene causes a new syndromic mental retardation condition**. *Eur J Hum Genet* 2010, 18: 285-290
- [25] Neri G. and Di Raimo F.R. **Long time no see: the Type and Contre-type concept**. *Eur J Hum Genet* 2010 ,18: 135-136.