

UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI GENOVA
SCUOLA DI SCIENZE MEDICHE E FARMACEUTICHE
CORSO DI LAUREA IN MEDICINA E CHIRURGIA



Tesi di laurea:

**Profilo metabolico e sviluppo puberale
in pazienti affetti da Sindrome di
Prader-Willi**

Relatore:

Prof. Mohamad Maghnie

Correlatrice:

Prof.ssa Giuseppa Patti

Candidata: Greta Sericano

Anno accademico 2021-2022

Indice:

1. Abstract
2. Introduzione
3. Materiali e metodi
4. Risultati:
 - Popolazione
 - Fenotipo (dati alla nascita e dati auxologici)
 - Profilo metabolico:
 - Profilo glicemico
 - Profilo insulinico
 - Profilo lipidico
 - Profilo osseo
 - Sviluppo puberale
 - Terapia
5. Conclusioni
6. Abbreviazioni
7. Bibliografia
8. Ringraziamenti

Abstract

Metodi: studio osservazionale, retrospettivo. Analisi statistica con test del chi-quadrato e Mann-Withney U Test.

Obiettivi:

- descrivere il fenotipo dei soggetti con Sindrome di Prader-Willi (PWS);
- descrivere il profilo glucidico, lipidico e la composizione corporea;
- valutare lo sviluppo puberale clinico e biochimico;
- valutare la correlazione genotipo-fenotipo tra i 3 diversi gruppi molecolari (IC, DEL15 e UPD15).

Popolazione: 25 pazienti con PWS confermata geneticamente, 14 femmine e 11 maschi. 20 sono bambini e 5 sono adulti. L'età media è di 12.44 ± 11.29 SDS.

Risultati:

1. Dati alla nascita:

i pazienti PWS del nostro studio nel 32% sono nati pretermine, da parto distocico (60%), con presentazione podalica (20%). Il 64% dei maschi aveva criptorchidismo.

Il gruppo UPD15 sembra essere associato a parto pretermine.

All'ultima valutazione auxologica i soggetti del gruppo IC hanno un'altezza inferiore rispetto agli altri 2 gruppi (p 0.02 e 0.03).

2. Profilo metabolico:

il profilo glicemico è normale in tutti i soggetti, nessuno dei nostri pazienti ha sviluppato diabete.

Il profilo insulinico è nella norma nel gruppo IC mentre è alterato negli altri due gruppi. Allo stesso modo essendo una conseguenza dei valori della glicemia e dell'insulina, il valore medio dell'HOMA IR SDS è inferiore nel gruppo IC (0.02 SD) rispetto a DEL15 (3.22 SD) p 0.03.

Il profilo lipidico risulta nella norma in tutti i gruppi molecolari.

Tutti i gruppi molecolari presentano una % di massa grassa elevata, osservata tramite la DXA.

3. Sviluppo puberale:

abbiamo osservato 3 casi di pubertà precoce e 3 casi di ritardo puberale che hanno necessitato di induzione mediante terapia estro-progestinica.

4. Terapie assunte:

il 40% dei nostri pazienti presenta ipotiroidismo ed è in terapia con levotiroxina, il 24% dei nostri pazienti utilizza antipsicotici, 2 pazienti del gruppo UPD15 sono in terapia con antiepilettici e l'80% dei nostri pazienti è in terapia con l'ormone della crescita (GH).

Introduzione:

La Sindrome di Prader-Willi (PWS) è una patologia rara causata da una **anomalia genetica** localizzata a livello del braccio lungo del cromosoma 15. È caratterizzata da una considerevole variabilità clinica e **rappresenta la causa più frequente di obesità sindromica**.

Epidemiologia:

Presenta una prevalenza riportata in letteratura di 1 caso su 10 000/30 000, colpisce indistintamente i 2 sessi e non sembra essere associata a particolari etnie, anche se è stata osservata una prevalenza maggiore nella popolazione caucasica.¹

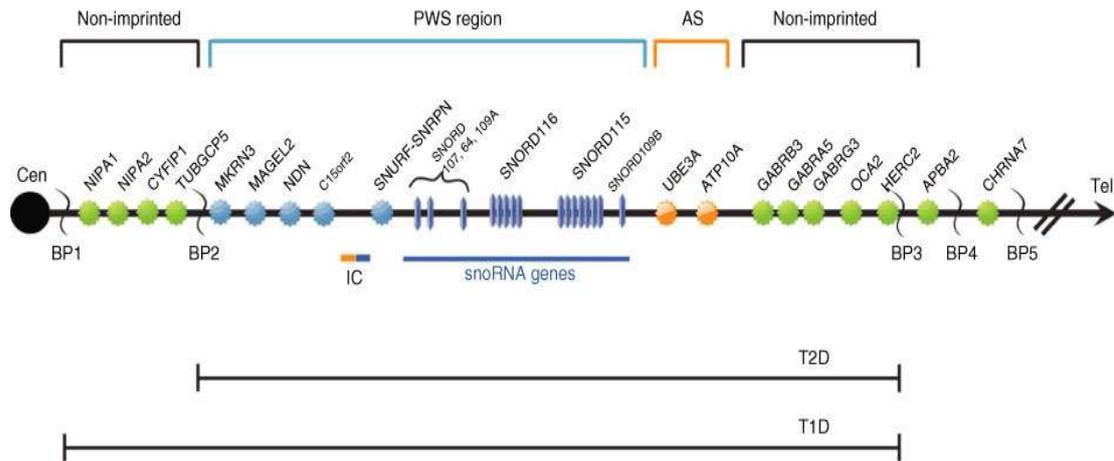
Genetica:

Alla base della sindrome vi sono differenti meccanismi genetici che portano all'**assenza di espressione dei geni paterni**, normalmente attivi, presenti nella regione critica 11-13 del braccio lungo del cromosoma 15 (15q11.2-q13) (figura 1).¹

I cambiamenti genomici ed epigenetici che causano la PWS portano tutti a una mancata espressione dei geni normalmente espressi paternamente sul cromosoma 15q11.2-q13. L'assenza della parte paterna di questi geni, o la loro mancata espressione, provoca l'assenza di espressione di quei geni nell'individuo affetto perché il contributo materno per questi geni è stato programmato da fattori epigenetici per essere silenziato.²

Figura 1: *riassunto della mappa genetica ed espressione della regione cromosomica 15q11.2-q13.*

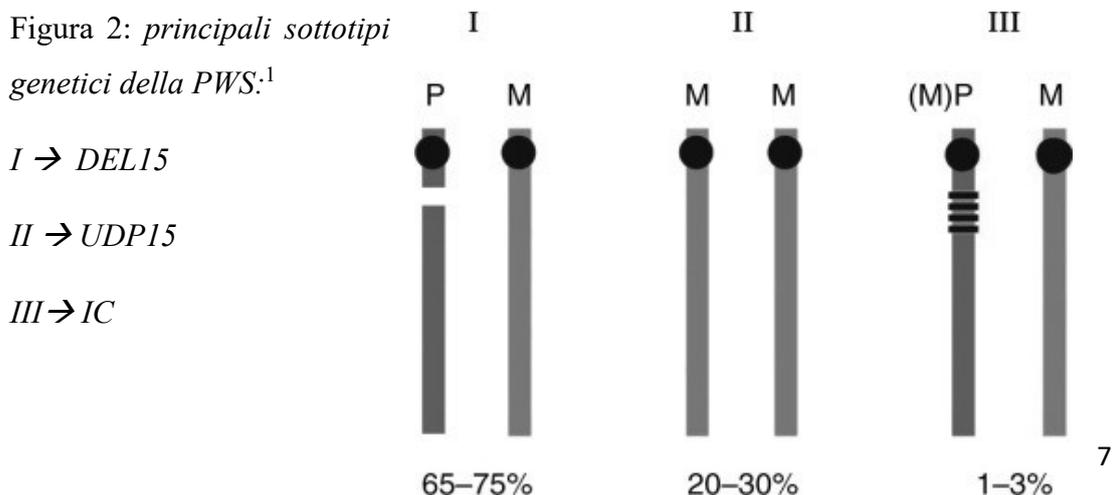
La regione della PWS (mostrata in blu) ha cinque geni univoci espressi solo per il padre (regione PWS) che codificano per i polipeptidi (*MKRN3*, *MAGEL2*, *NECDIN* e *SNURF-SNRPN*) e una famiglia di sei, sempre, solo per il padre geni snoRNA espressi.¹



La frequenza dei principali sottotipi genetici della PWS vede:

- la delezione de novo a carico della regione 15q11.2-q13 (DEL15) del cromosoma di origine paterna, presente nel 65-75% delle diagnosi. Ciò comporta la perdita di una regione cromosomica di dimensioni variabili, con la mancata espressione di un numero più o meno elevato di geni³;
- la disomia uniparentale materna (UPD15) che comporta la presenza di due cromosomi 15 di origine materna, perdendo quindi completamente il contributo genetico di origine paterna.⁴⁵ Questa anomalia è riscontrata nel 20-30% delle diagnosi;
- i difetti del Centro dell'Imprinting (IC), in cui il gene SNRPN è stato identificato come componente critico dell'IC, responsabile della regolazione dell'espressione dei geni di questa regione cromosomica.⁶ Nella maggior parte dei casi si riscontra una mutazione epigenetica dell'IC, mentre in una minoranza di soggetti si riscontra una sua delezione. Questa anomalia si riscontra solo nell'1-3% delle diagnosi;
- Le traslocazioni bilanciate o riarrangiamenti cromosomici della regione 15q11-13.

Figura 2: *principali sottotipi genetici della PWS:*¹



Sintomi:

Questa sindrome presenta una enorme variabilità clinica sia individuale sia per la differente presentazione clinica tra i diversi pazienti.

Durante la *gravidanza* vengono riportati scarsi e tardivi movimenti fetali e alterazioni quantitative del liquido amniotico, polidramnios o oligodramnios. Inoltre, viene riportato ritardo di crescita in una percentuale significativa di pazienti. La gravidanza è di solito a termine, ma sono riportati casi di parto pre e post termine.⁷

I sintomi si presentano *dalla nascita*, con un importante ipotonia che comporta problemi alla deglutizione e all'allattamento, a causa della riduzione del riflesso di suzione.⁸

I bambini, inoltre, soffrono di un ritardo dello sviluppo psicomotorio di grado lieve-moderato e sono soggetti ad un aumentato rischio di asfissia.

Figura 3: (a) Osserviamo il viso di una femmina di 9 mesi con PWS a causa di una delezione 15q11-q13. Notiamo lo stretto diametro bifrontale, gli occhi a mandorla,, gli angoli della bocca rivolti verso il basso, un piccolo mento e il collo corto. Osserviamo un sito di alimentazione della gastrostomia nell'addome superiore.

(b) Osserviamo il corpo della neonata con PWS. Presenta ipotonia generalizzata e sede della gastrostomia correlata a scarsa suzione, ipotonia e difficoltà di alimentazione.⁸



Durante la *prima infanzia*, presentano una costante mancanza di sazietà (iperfagia), che se non controllata, può portare ad una grave obesità resistente al trattamento dietetico e farmacologico, che porta nelle età successive a gravi complicanze di natura cardiorespiratoria, metabolica ed osteoarticolare.

A tali problematiche si devono aggiungere:

- disfunzioni endocrine⁹ (deficit dell'ormone della crescita (GH), criptorchidismo e ipogonadismo, ipotiroidismo centrale, insufficienza surrenalica centrale, alterato metabolismo del glucosio e diabete mellito¹⁰)
- problematiche ortopediche (scoliosi, ginocchio valgo, piede piatto),
- oculistiche (strabismo)
- otorinolaringoiatriche (ipertrofia adenotonsillare¹¹, sindrome delle apnee ostruttive¹²)
- deficit cognitivo da lieve a grave e problematiche comportamentali (temperamento irascibile e caparbio e un comportamento manipolativo e ossessivo-compulsivo) alcune delle quali compaiono precocemente altre invece a partire dall'età scolare e si intensificano in adolescenza e nell'età adulta.

Durante *l'accrescimento*, frequentemente si evidenziano tratti peculiari del volto, come: fronte stretta, occhi a mandorla, labbro superiore sottile e bocca rivolta verso il basso.

Sono inoltre frequenti mani e piedi molto piccoli.

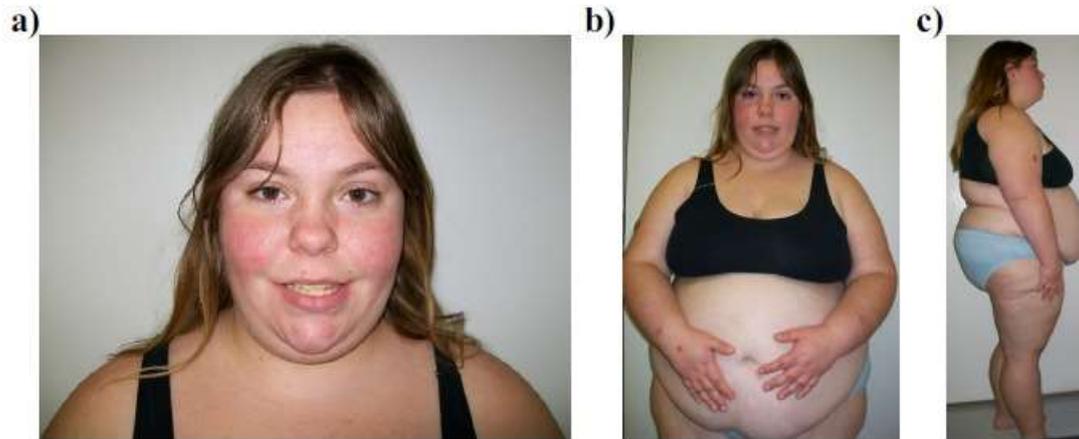
Segni occasionali sono lo skin-picking (escoriazioni cutanee autoprovocate) e problemi dentali, come ridotta consistenza dello smalto dentario, saliva densa e vischiosa, digrignamento dei denti e ruminazione.

La sindrome di Prader-Willi può comportare difficoltà di apprendimento, sviluppo anomalo del linguaggio.

Figura 4: *(a) Osserviamo il volto di una ragazza di 16 anni con PWS dovuta a disomia uniparentale materna 15 senza trattamento con ormone della crescita. Notiamo un'inclinazione leggermente verso l'alto degli occhi a mandorla, naso corto e collo corto con obesità.*

(b) Notiamo segni facciali caratteristici, obesità centrale e siti di autolesionismo sulla mano destra e sul polso.

(c) Notiamo un'importante obesità e mani piccole comunemente osservate in questa malattia genetica correlata all'obesità.⁸



Negli *adulti*, le complicazioni legate all'obesità rappresentano i problemi più importanti, tuttavia possono manifestarsi anche diabete mellito, insufficienza cardiaca, ipertensione, osteoporosi, problemi comportamentali e difficoltà respiratorie (associate alla presenza di ipotonia, debolezza dei muscoli della gabbia toracica ed apnee notturne).

Diagnosi:

La diagnosi di certezza di PWS è esclusivamente genetica. Dunque, quando sulla base dei segni e dei sintomi riportati si sospetti la presenza della sindrome, si consiglia un'indagine genetica per identificare eventuali mutazioni nella regione critica 11-13 del braccio lungo del cromosoma 15.

I sintomi che hanno indicazioni per l'invio alla diagnosi genetica sono:¹³

- *Dalla nascita all'età di 2 anni*: ipotonia muscolare con scarsa suzione, pianto flebile;
- *Età 2–6 anni*: ipotonia con storia di scarsa suzione e ritardo globale di sviluppo;
- *Età 6-12 anni*: ritardo dello sviluppo e iperfagia con obesità centrale se la dieta non è controllata;
- *Età da 13 anni all'età adulta*: deficit cognitivo (solitamente lieve disabilità intellettiva), alimentazione eccessiva con obesità centrale (se l'introito calorico non è

controllato), ipogonadismo ipotalamico, ritardo puberale e problemi comportamentali di tipo aggressivo.

Il test di metilazione (MS-MLPA)⁷ rappresenta il “gold standard” per la conferma della diagnosi di PWS ed è il primo esame genetico da richiedere nel caso di sospetto clinico; questo test determina se la regione è ereditata solo maternamente (cioè, la regione contribuente paterna è assente) e rileva più del 99% degli individui affetti.

L' MS-MLPA permette di evidenziare sia il difetto di metilazione della regione critica PWS (che caratterizza tutti i 3 meccanismi molecolari principali alla base della PWS) che la microdelezione dell'allele paterno e di caratterizzarla. Nella maggior parte dei casi le delezioni appartengono a due classi principali: tipo I (T1D) e tipo II (T2D); la prima è più estesa, la seconda più ristretta (figura 1). Nel caso in cui il test MS-MLPA risulti alterato in assenza di microdelezione è possibile sospettare una UPD15 o un IC.

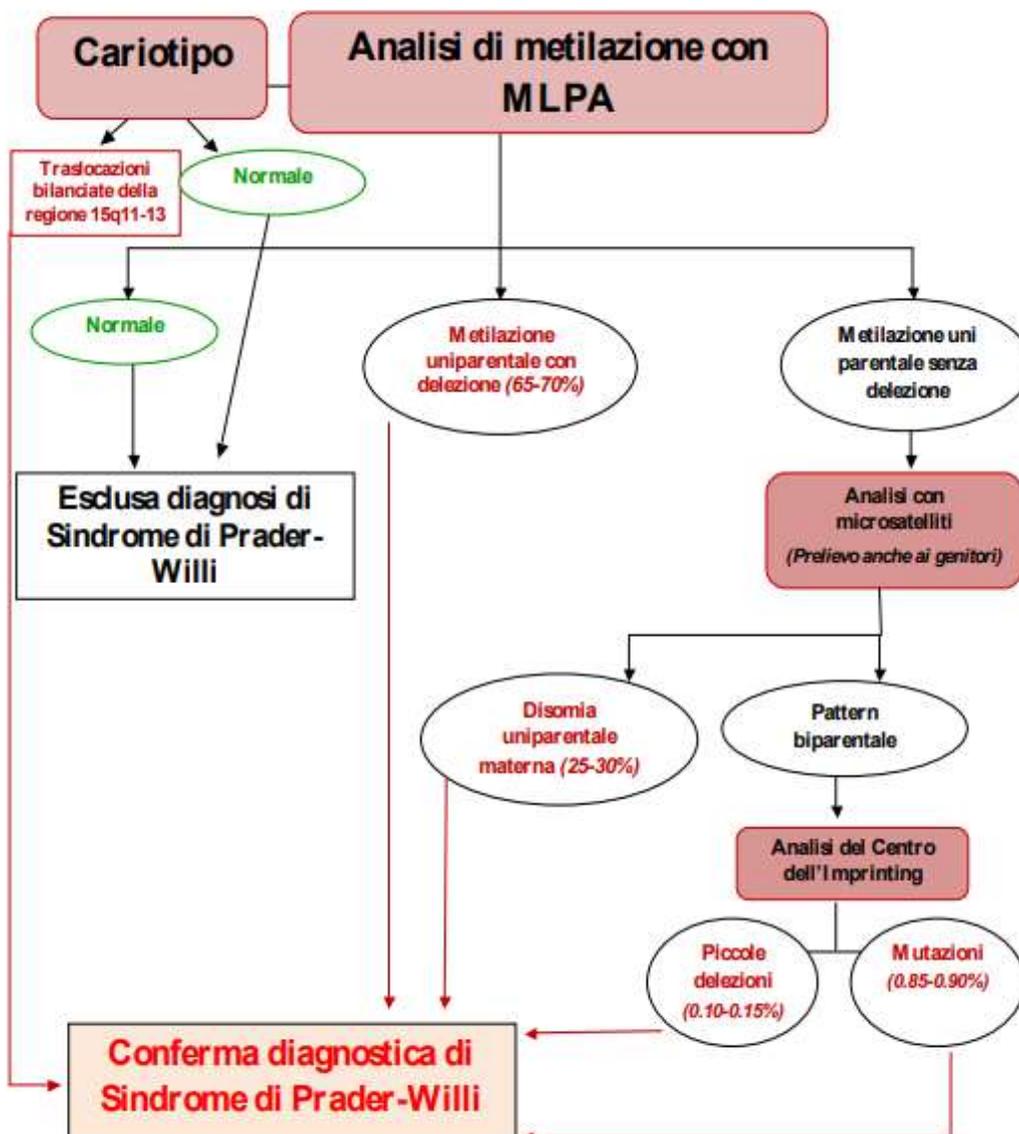
L'analisi dei microsatelliti si esegue, effettuando il prelievo anche ai genitori, quando il test MS-MLPA non abbia evidenziato delezioni nella regione critica PWS, ma soltanto l'assenza dell'allele paterno all'analisi della metilazione. Il test permette di evidenziare l'UPD15 (entrambi gli alleli di provenienza materna) e nello specifico determinare se si tratti di una eterodisomia (presenza di due alleli materni diversi tra di loro) o di una isodisomia (presenza di due alleli materni uguali tra di loro). Nel caso in cui questa analisi dimostri un pattern biparentale (presenza di un allele paterno ed un allele materno), la PWS potrebbe essere causata da mutazioni puntiformi o piccole delezioni del centro dell'imprinting che andranno quindi ricercate.

Il cariotipo standard si associa sempre all'analisi MS-MLPA per documentare se sia presente un marcatore sovranumerario originario dal cromosoma 15, una traslocazione bilanciata o riarrangiamenti cromosomici con punto di rottura all'interno della regione critica PWS (15q11-q13) o implicati in meccanismi di mal-segregazione del cromosoma 15. La presenza di queste anomalie cromosomiche può modificare drasticamente i rischi di ricorrenza.

Recentemente è stato dimostrato come la delezione della regione NB11-8S (SNORD116)^{1,14} sia in grado di determinare gran parte del fenotipo PWS. L'analisi molecolare delle mutazioni e/o delezioni del centro dell'imprinting si esegue in laboratori specializzati quando l'analisi con microsatelliti ha evidenziato un pattern biparentale e assenza dell'allele paterno all'analisi della metilazione.

Figura 5: *flow-chart del percorso della diagnosi genetica*⁷

La diagnosi prenatale mediante tecniche invasive (villocentesi alla undicesima settimana o amniocentesi tra la sedicesima e la diciottesima settimana di gestazione) può essere offerta in gravidanze a rischio aumentato di PWS.



Il rischio di ricorrenza in una coppia che ha un/una figlio/a con PWS varia in base al meccanismo genetico causativo:

- $\leq 1\%$ in caso di delezioni, insorte de novo e UPD15;
- 25% in caso di riarrangiamenti cromosomici che coinvolgono la regione critica PWS, di uno dei due genitori;
- fino al 50% in caso di IC.

Terapia

La gestione di questa sindrome richiede un approccio multidisciplinare.

In particolare, è rappresentata dall'utilizzo della **terapia con GH** entro il primo anno di vita che ha migliorato notevolmente l'evoluzione del quadro clinico sia per quanto riguarda gli aspetti legati alla statura e le dimensioni delle estremità, che l'assetto di peso e la composizione corporea, nonché gli aspetti cognitivi.^{15,16}

Sono attualmente in corso di valutazione numerosi **farmaci per il controllo dell'iperfagia**, i cui risultati sono attesi nei prossimi anni. Ci sono inoltre alcuni studi che hanno valutato l'efficacia della terapia chirurgica dell'obesità, senza tuttavia essere ancora giunti a una conclusione definitiva.

È importante il controllo dell'introito alimentare e un regolare esercizio fisico.

Per quanto riguarda le altre manifestazioni cliniche, la terapia è sovrapponibile a quella che si utilizza nella popolazione generale, tenendo però presente che nella popolazione dei soggetti PWS è più frequente osservare reazioni esagerate o paradosse ai farmaci, il che impone il loro utilizzo iniziale con dosaggi ridotti.

Allo stato attuale non è ancora ipotizzabile nei pazienti con Sindrome di Prader-Willi una terapia genica, sebbene stiano emergendo i primi dati nel modello animale.

Materiali e metodi

Raccolta dei dati

In una fase iniziale sono stati raccolti i dati dei pazienti. Tutti i dati inseriti nel database si riferiscono alla data in cui sono stati raccolti i dati del metabolismo, qualora non fossero disponibili alcuni dati in quell'anno, sono stati raccolti quelli più vicini temporalmente.

I dati inseriti sono di tipo quantitativo (n), un range di valori (0-x) o qualitativi (s/n).

In particolare, i dati che sono stati raccolti sono i seguenti:

Dati anagrafici:

- Cognome
- Nome
- Sesso (M/F)
- Data di nascita (gg/mm/aaaa)

Diagnosi:

- Genetica (1-3):
 - IC (1): se la diagnosi genetica di PWS ha evidenziato una alterazione epigenetica (per esempio una ipermetilazione) a livello del centro dell'imprinting (gene SNRPN);
 - DEL15 (2): se la diagnosi genetica di PWS ha evidenziato una delezione della regione 15q11-q13;
 - UPD15 (3): se la diagnosi genetica di PWS ha evidenziato una disomia uniparentale materna del cromosoma 15.

Dati nascita:

- Settimane di gestazione (n): numero di settimane di gestazione

- Peso alla nascita (n): espresso in grammi
- Peso alla nascita SDS (n): espresso in deviazioni standard
- Lunghezza alla nascita (n): espressa in cm
- Lunghezza alla nascita SDS (n): espressa in deviazioni standard

Dati auxologici:

- Statura SDS (n): al momento della data del metabolismo
- Δ statura - target (n): indica il risultato dell'operazione: SDS soggetto - SDS target genetico

Dati metabolici:

- Data metabolismo (gg/mm/aaaa): è la data a cui si riferiscono tutti i dati (tranne i dati alla nascita) del paziente se non altrimenti specificato.
- Età metabolismo (n): indica l'età che aveva il paziente quando sono stati misurati i dati del profilo glucidico, lipidico e osseo.
- Colesterolo tot. (n): espresso in mg/dL (range normalità 80-180)
- HDL (n): colesterolo HDL in mg/dL (range normalità 55-100 nei maschi e 65-100 nelle femmine)
- LDL (n): colesterolo LDL in mg/dL (ottimale <110)
- Trigliceridi (n): in mg/dL (range normalità 30-160)
- Glicemia (n): in mg/dL (range normalità 60-100)
- Insulinemia (n): in μ U/mL (range normalità 2,6-24,9)
- Tanner (1-5): stadio puberale secondo Tanner
- HOMA IR SDS (n): espresso in SDS a seconda dello stadio Tanner
- HOMA IR (n): indice di insulino-resistenza calcolato con la formula glicemia (mg/dL) * 0,05551 * insulinemia (μ U/mL)/22,5 (nei bambini consideriamo insulino resistenza valori > 3,16)
- Hb1c % (n): valore percentuale di emoglobina glicata (range normalità 4-6)
- Hb1c (n): valore di emoglobina glicata in mmol/mol (range normalità 20-42)
- PTH (n): paratormone in pg/ml (range normalità 15-65)

- Vitamina D: in ng/ml (range normalità 30-100)
- Calcio: in mEq/l
- Fosforo: in mg/dl
- Fosfatasi alcalina: in UI/L
- IGF1: insuline-like growth factor in ng/ml
- Anno OGTT (aaaa): anno di esecuzione del test curva glicemia e insulina (se la casella è in giallo l'anno è diverso da quello del metabolismo)
- Età OGTT (n): età che aveva il paziente all'esecuzione dell'OGTT
- Curva glicemia 0/30/60/90/120 (n): valore di glicemia in mg/dL al tempo 0, 30, 60, 90, 120 minuti con test all'esochinasi
- Curva insulina 0/30/60/90/120 (n): valore di insulinemia in μ U/mL al tempo 0, 30, 60, 90, 120 minuti
- Anno DXA (aaaa): anno di esecuzione della densitometria ossea (Dual-energy X-ray Absorptiometry)
- Età DXA (n): età all'esecuzione della DXA
- Z-score total body (n)
- Z-score rachide (n): segmento L1-L4
- Z-score femore (n): collo del femore (dato rilevato solo nei pz. adulti)
- Massa magra tronco (n): in kg
- Massa grassa tronco (n): in kg
- Massa grassa tronco % (n)
- Massa grassa % (n): percentuale sulla massa totale
- Massa grassa tot. (n): in kg
- Massa magra (n): in kg
- Massa grassa tronco/tot. % (n): rapporto tra massa grassa tronco e massa grassa totale.
- Peso (n): peso corporeo in kg dell'anno della DXA (se il paziente non ha la DXA è della data del metabolismo)
- Altezza (n): altezza in cm dell'anno della DXA (se il paziente non ha la DXA è della data del metabolismo)
- Anno BMI (aaaa): anno di misurazione di BMI e obesità, se è presente la DXA è dell'anno della DXA, se non è presente è della data del metabolismo

- BMI (n): indica il rapporto tra il peso di un soggetto espresso in chilogrammi (kg) e il quadrato della sua statura espressa in metri (m)
- BMI SDS (n): indica il Body Mass Index del soggetto, in deviazioni standard
- Obesità pediatrica (0–2): il range numerico indica il grado di obesità calcolato secondo le curve di Rolland-Cachera per i pazienti pediatrici. 0 indica la condizione di non-obesità.
- Obesità adulti (0/1): per i pazienti adulti è stato inserito il dato di obesità (1) o non obesità (0)
- Iperfagia (s/n): se è presente iperfagia non controllata in anamnesi
- TMI: tri-ponderal mass index, indica il rapporto tra il peso corporeo in chilogrammi (kg) e il cubo dell'altezza in metri (m)
- FMI: fat mass index, indica il rapporto tra la massa grassa espressa in chilogrammi (kg) e il quadrato dell'altezza espressa in metri (m)
- FFMI: fat free mass index, indica il rapporto tra la massa magra espressa in chilogrammi (kg) e il quadrato dell'altezza espressa in metri (m)
- Età cronologica a 4 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Età ossea a 4 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Δ 4 anni \pm 1 (n): indica la differenza tra l'età cronologica e l'età ossea espressa in mesi
- Età cronologica a 7 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Età ossea a 7 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Δ 7 anni \pm 1 (n): indica la differenza tra l'età cronologica e l'età ossea espressa in mesi
- Età cronologica a 11 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Età ossea a 11anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Δ 11 anni \pm 1 (n): indica la differenza tra l'età cronologica e l'età ossea espressa in mesi
- Età cronologica a 15 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Età ossea a 15 anni \pm 1 (n): espressa in anni
- Δ delta 15 anni \pm 1 (n): indica la differenza tra l'età cronologica e l'età ossea espressa in mesi

Dati sulla pubertà

- Data LH dosabile (gg/mm/aaaa)
- Età LH dosabile (n)
- LH dosabile: indica la prima volta che LH è risultato dosabile, espresso in U/l
- Data estradiolo dosabile (gg/mm/aaaa)
- Età estradiolo dosabile (n)
- Estradiolo dosabile: indica la prima volta che l'estradiolo è risultato dosabile, espresso in pg/ml
- Data testosterone dosabile (gg/mm/aaaa)
- Età testosterone dosabile (n)
- Testosterone dosabile (n): indica la prima volta che il testosterone è risultato dosabile, espresso in ng/dl
- Data avvio puberale (gg/mm/aaaa): per le femmine consiste nella comparsa del bottone mammario (stadio B2 si Tanner), per il maschio consiste nell'aumento del volume testicolare ≥ 4 ml
- Menarca anni (n): età in cui le femmine hanno avuto la prima mestruazione
- Data pubarca (gg/mm/aaaa)
- Età pubarca (n): indica l'età in cui è avvenuta la comparsa di peli e dei caratteri sessuali secondari

Dati farmacologici:

- Farmaci (s/n): nell'ultima sezione vengono indicati i farmaci assunti al momento della data del metabolismo

Metodi statistici

È stata effettuata una analisi descrittiva, i dati sono stati espressi come media e deviazione standard (SDS) e mediana e range per le variabili continue, e come frequenze assolute e relative per le variabili categoriche.

I confronti tra i gruppi sono stati effettuati mediante test non parametrici (Mann-Whitney U-test), per le variabili continue.

L'associazione tra le variabili categoriche è stata effettuata utilizzando il test χ^2 o il Fisher's exact test.

Tutti i p-value saranno calcolati utilizzando test a due code, considerando statisticamente significativo un p-value inferiore a 0.05.

L'analisi statistica è stata condotta utilizzando il sistema SPSS per Windows, versione 18 (SPSS Inc, Chicago, Illinois USA).

Risultati

Popolazione

Il gruppo di pazienti con PWS è stato suddiviso in tre sottogruppi a seconda della diagnosi genetica di ognuno:

- IC = difetto del centro dell'imprinting
- DEL15 = delezione della regione 15q11-q13.
- UPD15 = disomia uniparentale materna del cromosoma 15

In totale i soggetti osservati sono stati 25 e in particolare: a 5 soggetti è stata diagnosticata la forma IC, a 7 la forma DEL15 e a 13 la forma UPD15.

Figura 6: popolazione dello studio suddivisa in base alla genetica.

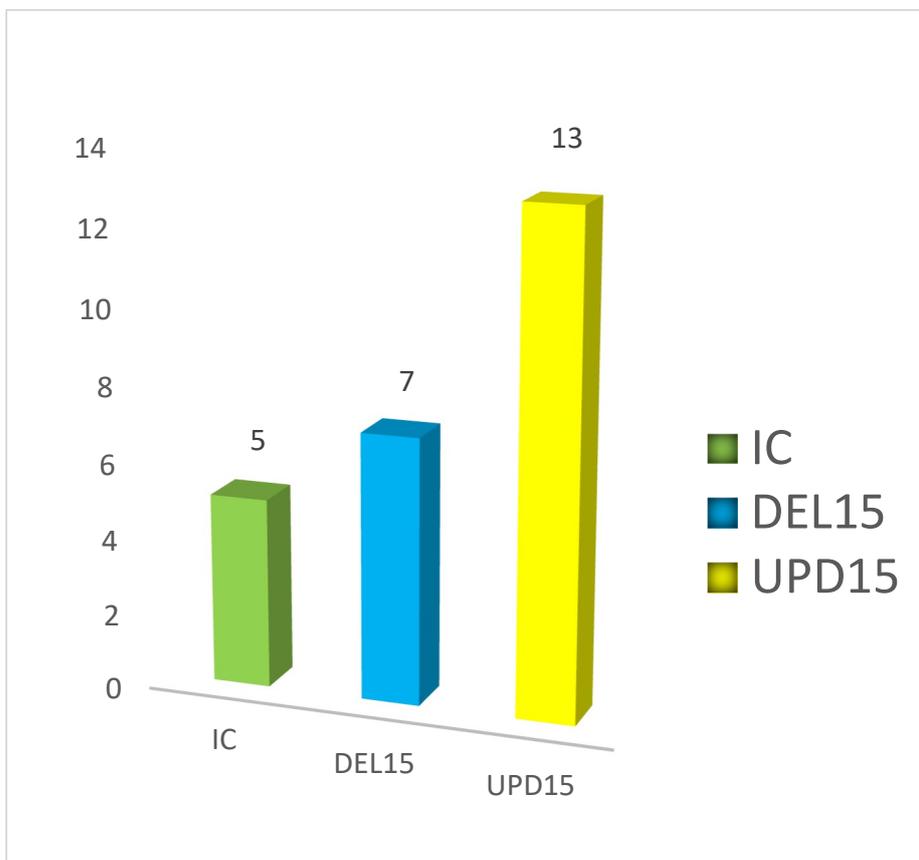


Tabella 1: *differenze di sesso tra i diversi gruppi genetici.*

			Genetica			
			All PWS	IC	DEL15	UPD15
Sesso	Femmine	Numero	14	4	2	8
		%	56.0%	80.0%	28.6%	61.5%
	Maschi	Numero	11	1	5	5
		%	44.0%	20.0%	71.4%	38.5%
Totale	Numero		25	5	7	13
	%		100%	20%	28%	52%

Il gruppo è composto da 14 femmine (56%) e 11 maschi (44%). L'età media alla valutazione è di 12.44 ± 11.29 SD, con un intervallo di 46 anni.

In particolare, il gruppo **IC** rappresenta il 20% di tutti i PWS, di cui l'80% femmine e il 20% maschi e ha un'età media di 18 ± 16.42 SDS.

Il gruppo **DEL15** rappresenta il 28%, di cui il 28.6% femmine e il 71.4% maschi e ha un'età media di 7.71 ± 6.90 SDS.

Il gruppo **UPD15** rappresenta il 52 %, di cui il 61.5% femmine e il 38.5% maschi e ha un'età media di 12.85 ± 10.73 SDS.

Fenotipo (dati alla nascita e dati auxologici)

- **Presentazione alla nascita/parto**
- **Settimane di gestazione**
- **Peso alla nascita**
- **Lunghezza alla nascita**
- **Lunghezza alla nascita SDS**
- **Statura SDS**
- **Δ statura – target**
- **BMI SDS**

Tabella 2: *media e SDS dei dati alla nascita*

	Genetica				P_value		
	All PWS mean±SDS	IC mean±SDS	DEL15 mean±SDS	UPD15 mean±SDS	IC vs DEL15	IC vs UPD15	DEL15 vs UPD15
Settimane di gestazione	37.08±3.60	37.00±3.00	39.29±1.50	35.83±4.22	0.15	0.65	0.06
Peso alla nascita	2451.43±668	2388.75±558	2845.71±441	2242.33±744	0.23	0.68	0.06
Peso alla nascita SDS	-0.07±0.15	-0.05±0.03	-0.14±0.25	-0.03±0.05	0.53	1	0.21
Lunghezza alla nascita	47.08±3.33	48.00	48.60±3.29	45.86±3.34	1	0.50	0.34
Lunghezza alla nascita SDS	-0.02±0.07	0.02±0.01	-0.02±0.09	-0.05±0.05	0.86	0.06	1

Il 32 % dei soggetti del nostro studio sono nati pretermine, da parto distocico (60%), di cui con presentazione podalica (20%), non gemellare (96%).

Si nota che il gruppo UPD15 risulta essere costituito principalmente da pazienti nati pretermine avendo una media di settimane di gestazione di 35.83 ± 4.22 SD, mentre il gruppo IC e UPD15 risultano essere in media nati a termine.

Osservando il **peso alla nascita** risulta essere leggermente al di sotto del target (consideriamo basso peso < 2500g) presentando in media un peso di 2451.43 g e un peso alla nascita SDS di -0.07.

La **lunghezza alla nascita** risulta essere nella norma (media di -0.02 SDS, 47.08 cm).

Quello che ne possiamo dedurre è che il gruppo UPD15 sembra essere quello maggiormente rappresentato da bambini nati pretermine. Non abbiamo però una significatività statistica dovuta al basso numero di pazienti presi in esame.

Tabella 3: *media e SDS dei dati auxologici*

	Genetica				P_value		
	All PWS mean±SDS	IC mean±SDS	DEL15 mean±SDS	UPD15 mean±SDS	IC vs DEL15	IC vs UPD15	DEL15 vs UPD15
Statura SDS	-0.99±1.82	-2.98±1.82	0.39±1.75	-0.96±1.09	0.02	0.03	0.13
Δ statura - target	-0.82±1.39	-1.95±1.24	-0.44±1.93	-0.58±1.03	0.19	0.10	0.66
BMI	25.21±8.71	26.38±8.52	23.87±8.36	25.48±8.85	0.88	0.85	0.94
BMI SDS	2.98±2.18	2.73±2.57	2.79±2.17	3.18±2.15	0.23	0.21	0.71

Abbiamo valutato la statura SDS all'anno del metabolismo e la differenza tra l'SDS del soggetto e l'SDS del target genetico.

Osserviamo una significatività statistica tra il gruppo IC e il gruppo DEL15 e un'altra tra il gruppo IC e il gruppo UPD15.

Il valore medio di **statura SDS** risulta essere più basso nel gruppo IC (-2.98±1.82) rispetto al gruppo DEL15 (0.39±1.75) con un p-value di 0.02. Inoltre, il gruppo IC risulta essere anche significativamente più basso del gruppo UPD15 (-0.96±1.09) con un p-value di 0.03.

Osservando il **delta tra il target genetico e la statura SDS** osserviamo che i pazienti del gruppo IC presentano un'altezza all'ultima valutazione più distante dal target genetico.

Notiamo che tutti i gruppi molecolari presentano un **BMI SDS > 2 SDS** indice di obesità (principale caratteristica della PWS).

Profilo metabolico

▪ Profilo glicemico

1. Glicemia
2. Insulinemia
3. HOMA IR SDS
4. HOMA IR
5. HbA1c %
6. HbA1c
7. OGTT → glicemia e insulinemia

Tabella 4: media, SDS e P-value dei dati del profilo glicemico di tutti i pazienti PWS differenziati per genetica.

	Genetica				P_value		
	All PWS mean±SDS	IC mean±SDS	DEL15 mean±SDS	UPD15 mean±SDS	IC vs DEL15	IC vs UPD15	DEL15 vs UPD15
Glicemia	88.12± 8.65	86.80± 11.71	85.14± 5.78	90.23± 8.76	0.75	0.77	0.27
Insulinemia	18.23± 15.86	9.17± 3.02	18.24± 10.26	21.01± 19.15	0.06	0.35	0.77
HOMA IR SDS	2.26± 3.11	0.02± 0.76	3.22± 2.29	2.58± 3.58	0.03	0.16	0.50
HOMA IR	4.02± 3.45	2.11± 0.84	4.03± 2.51	4.60± 4.12	0.29	0.41	0.92
HbA1c %	5.17± 0.39	5.17± 0.50	5.33± 0.42	5.09± 0.35	0.75	0.70	0.24
HbA1c	32.64± 4.35	32.60± 5.59	34.29± 4.64	31.77± 3.77	0.64	0.70	0.27
Età OGTT	12.21± 6.58	10.50± 6.36	10.75± 7.36	13.38± 6.91	1	1	0.46
Curva glicemia 0	91.71± 13.05	88.50± 12.02	95.00± 21.37	90.88± 9.48	1	0.89	0.93
Curva glicemia 30	128.43± 26.05	114.50± 10.61	118.00± 39.60	144.67± 22.30	1	0.20	0.80
curva glicemia 60	130.29± 18.59	120.00± 16.97	137.50± 16.26	132.33± 24.42	0.67	0.80	1

Curva glicemia 90	121.14± 21.54	103.50± 12.02	126.50± 19.09	129.33± 26.39	0.33	0.40	0.80
Curva glicemia 120	118.46± 20.80	102.50± 9.19	111.33± 31.13	125.13± 17.54	1	0.09	0.38
Curva insulina 0	24.22± 20.50	6.55± 1.48	33.82± 26.91	23.84± 18.12	0.13	0.18	0.46
Curva insulina 30	67.96± 51.57	19.80± 19.66	61.00± 70.57	104.70± 30.05	0.67	0.20	0.40
Curva insulina 60	78.37± 41.56	40.55± 19.30	92.80± 58.41	101.75± 21.99	0.67	0.33	1
Curva insulina 90	81.87± 61.35	24.85± 10.68	79.60± 84.99	121.40± 44.99	0.67	0.20	0.80
Curva insulina 120	136.14± 140.74	29.20± 19.09	104.50± 78.69	178.70± 167.84	0.53	0.04	0.81

La **glicemia** a digiuno risulta in media nel range fisiologico (60 – 100 mg/dl), solo due pazienti hanno una glicemia a digiuno ≥ 100 mg/dl.

Nessuno dei nostri pazienti ha sviluppato diabete.

L'**insulinemia** in media risulta nel range fisiologico (2.6-24.9 μ U/mL), però ci sono 5 pazienti con l'insulinemia francamente patologica e di questi 4 pazienti su 5 appartengono al gruppo UPD15. Non c'è però un'evidente significatività statistica perché gli altri pazienti del gruppo UPD15 hanno insulinemie che stanno nella parte bassa del range fisiologico.

L'**HOMA IR SDS** è in media più elevato del normale essendo 2.26 però si osserva una importante variabilità tra i tre gruppi genetici: il gruppo IC ha un HOMA IR SDS di 0.02 confrontato con i 3.22 e 2.58 rispettivamente del gruppo DEL15 e UPD15. Statisticamente osserviamo che il gruppo IC risulta significativamente più basso del gruppo DEL15. Importante far notare però che nel gruppo ci sia una forte variabilità: sono stati registrati valori da un minimo di -1.13 SDS a un massimo di 11.51 SDS.

L'**HOMA-IR** in media risulta patologico in quanto $> 3,16$ (valore che definisce l'insulino resistenza nei bambini). Valore non completamente corretto perché comprende anche 4 pazienti adulti che avrebbero un target per definire l'insulino resistenza ancora più basso (>2.5).

I soggetti del gruppo IC in media sembrerebbero avere valori più bassi rispetto agli altri due gruppi rientrando così entro valori che sarebbero ancora fisiologici, senza che però ci sia una significatività statistica.

Nessun paziente ha l'**emoglobina glicata** alterata, la quale in media risulta essere nel range fisiologico 20-42 mmol/mol.

Per quanto riguarda le **curve da carico OGTT** (valori medi al tempo 0 e al tempo 120 dopo carico orale di 75 g di glucosio):

→ Curva glicemica: valori medi al tempo 0 e al tempo 120 dopo carico orale di 75 g di glucosio non risultano patologici, in quanto sono compresi nel target fisiologico (al tempo 0 < 110 mg/dl e al tempo 120 < 140 mg/dl). Inoltre, non si osservano differenze significative tra i 3 diversi gruppi genetici.

→ Curva insulinemica: al tempo 0 in media risulta compresa nel range fisiologico (5 – 25 micr. UI/ml), però se si analizzano i 3 gruppi genetici notiamo che il gruppo IC presenta valori notevolmente più bassi e nella norma e che il gruppo DEL15 presenta valori che sono al di sopra del target avendo una insulinemia media di 33.82 ± 26.9 . C'è da sottolineare però che le curve da carico OGTT non sono state fatte in tutti i soggetti del nostro studio, perciò non sono totalmente rappresentativi dell'intero campione.

Il valore medio dell'insulina al tempo 120 in media risulta elevato rispetto alla norma essendo 136.14 ± 140.74 (valori normali dopo 120 min 18–56 micr. UI/ml), tuttavia la deviazione standard è molto elevata, indicando che c'è una grande variabilità tra i diversi valori.

Tabella 5: *media ± SDS dell'insulina al tempo 120' dei tre gruppi genetici*

	Media ± SDS
IC	29.20±19.09
DEL15	104.50±78.69
UPD15	178.70±167.84
All PW	118.46±20.80

Notiamo una differenza tra i tre gruppi genetici nell'insulina al tempo 120'. Osserviamo valori di insulina dopo 120 minuti che sono in media al di sopra del target fisiologico nel gruppo DEL15 (104.50 ± 78.69) e anche nel gruppo UPD15 (178.70 ± 167.84), rispetto al gruppo IC che presenta valori inferiori (29.20 ± 19.09) che rientrano nel range fisiologico.

Il gruppo UPD15 risulta essere significativamente più elevato del gruppo IC con un p-value di 0.04. Tuttavia, l'elevato valore di SDS del campione nel gruppo UPD15 (167.84) e il ridotto numero di osservazioni nel gruppo IC (2), pongono in dubbio l'effettiva rilevanza di questa significatività statistica.

Curva insulinemica valori normali:

1. digiuno 5 – 25 micr. UI/ml.
2. dopo 30 min. 41 – 125 micr. UI/ml
3. dopo 60 min. 20 – 120 micr. UI/ml
4. dopo 90 min. 20 – 90 micr. UI/ml
5. dopo 120 min. 18 – 56 micr. UI/ml

▪ Profilo lipidico:

1. Colesterolo totale
2. HDL
3. LDL
4. Trigliceridi
5. Dexa: massa grassa e massa magra
6. BMI
7. BMI SDS
8. TMI
9. Fat Mass Index
10. Fat Free Mass Index
11. Obesità → pediatrica/adulti
12. Iperfagia

Tabella 6: media, SDS e P-value dei dati del profilo lipidico di tutti i pazienti PWS differenziati per genetica

	All PWS mean±SDS	Genetica			P_value		
		IC mean±SDS	DEL15 mean±SDS	UPD15 mean±SDS	IC vs DEL15	IC vs UPD15	DEL15 vs UPD15
Colesterolo totale	170.16± 31.63	165.40± 20.66	165.57± 16.77	174.46± 40.94	0.88	0.77	0.70
HDL	53.12± 14.55	50.00± 12.33	53.14± 11.61	54.31± 17.31	0.64	0.70	0.88
LDL	106.44± 32.91	104.80± 26.59	99.00± 17.98	111.08± 41.37	0.75	1	0.70
Trigliceridi	93.76± 46.71	79.60± 33.89	105.57± 31.47	92.85± 57.61	0.27	0.85	0.18
Massa magra tronco	14.99± 5.70	13.71± 0.89	24.56	14.12± 5.65	0.67	0.89	0.22
Massa grassa tronco	17.10± 9.86	20.45± 4.12	29.37	14.74± 10.26	0.67	0.53	0.44

Massa grassa tronco %	49.24± 9.32	58.90± 2.69	53.70	46.26± 9.14	0.67	0.09	0.67
Massa grassa %	50.50± 7.33	59.05± 0.92	53.10	48.31± 7.01	0.67	0.04	0.80
Massa grassa tot.	35.16± 18.27	39.14± 1.49	61.12	31.39± 18.83	0.67	0.91	0.20
Massa magra	32.24± 10.73	32.63± 7.71	55.38	29.59± 8.71	0.67	0.91	0.20
Massa grassa tronco/tot	46.33± 9.81	52.09± 8.54	48.05	44.68± 10.68	1	0.27	0.67
BMI	25.21±8.71	26.38±8.52	23.87±8.36	25.48±8.85	0.88	0.85	0.94
BMI SDS	2.98±2.18	2.73±2.57	2.79±2.17	3.18±2.15	0.23	0.21	0.71
TMI	19.98± 5.69	21.61± 9.69	19.38± 2.20	19.67± 5.44	0.75	0.92	1
Fat Mass Index	16.822± 8.03	22.58± 4.45	19.51	15.24± 8.61	1	0.33	0.80
Fat Free Mass Index	16.08± 3.40	18.41± 1.43	17.68	15.29± 3.68	1	0.40	0.67

Il profilo lipidico risulta essere nel range fisiologico, in media non riscontriamo valori particolarmente patologici.

Il **colesterolo totale** in media risulta nel range fisiologico (80 - 180 mg/dl). Però tra i tre diversi gruppi genetici, i pazienti con UPD15 presentano valori di colesterolo totale che si mantengono nella parte più elevata del target fisiologico: hanno una media di 174.46 rispetto ai 165 circa degli altri due gruppi genetici, rientrando comunque nel range fisiologico.

Il 60% dei pazienti ha le **HDL** lievemente ridotte (< 55 mg/dl nei maschi e < 65 mg/dl nelle femmine).

L'**LDL** in media risulta nel range fisiologico (< 110 mg/dl): in totale il 44% dei pazienti presenta LDL patologiche, in quanto al di sopra del target. Il gruppo UPD15 in media ha le LDL al di sopra del range avendo una media di 111.08±41.37.

I **trigliceridi** in media nell'intero campione sono nel range fisiologico (30-160 mg/dl): si notano però alcuni valori al di sopra del target soprattutto nel gruppo DEL15 senza che ci sia tuttavia una significatività statistica.

Abbiamo inoltre confrontato i valori del metabolismo lipidico di colesterolo totale, HDL, LDL e trigliceridi tra maschi e femmine e abbiamo notato più frequentemente valori alterati nelle femmine rispetto ai maschi.

In particolare:

- il colesterolo totale risulta aumentato nel 43% dei casi nelle femmine contro il 18% dei maschi;
- l'HDL risulta diminuito nel 71% dei casi nelle femmine contro il 45% dei maschi;
- l'LDL risulta aumentato nel 57% dei casi nelle femmine contro il 27% dei maschi;
- i trigliceridi risultano aumentati nel 14% contro lo 0% dei maschi.

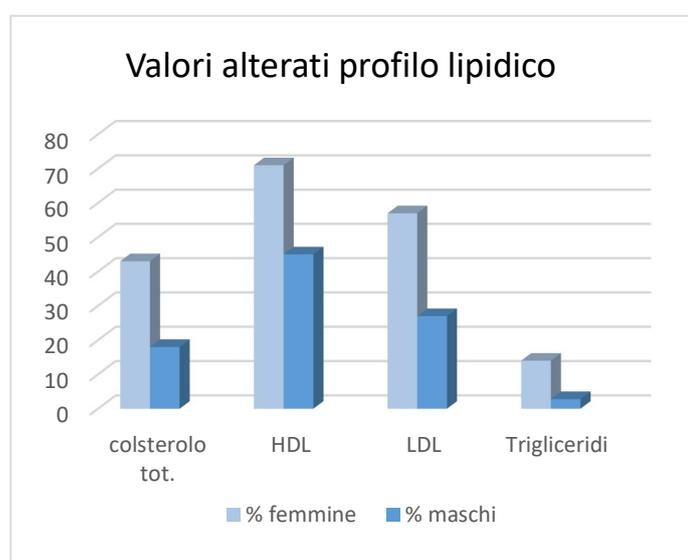


Tabella 7: % di maschi e femmine che hanno i valori del metabolismo lipidico alterato.

	Femmine %	Maschi %
Colesterolo totale	43	18
HDL	71	45
LDL	57	27
Trigliceridi	14	0

Il **BMI** (body mass index) o indice di massa corporea rappresenta un metodo economico e rapido per indicare il sottopeso, il normopeso, il sovrappeso e l'obesità di un soggetto. Però tiene conto solo di peso e altezza senza considerare la composizione corporea. Per questo motivo il suo utilizzo deve essere affiancato alla valutazione corporea del soggetto, valutando la quantità e la localizzazione della massa grassa e della massa magra. Nel nostro studio questo è stato fatto tramite l'utilizzo della DEXA (Dual Energy X-ray Absorptiometry).

Valutando il **BMI SDS** in media risulta essere al di sopra del range per considerarlo obesità essendo 2.98 SDS.

Valutando la **% di massa grassa** riscontrata tramite la DEXA osserviamo che in media tutti i soggetti hanno una $\% > 30$ indice di una massa grassa superiore a quella fisiologica.

In particolare, però il gruppo IC ha una $\%$ di massa grassa di 59.05 che risulta significativamente più elevata del gruppo UPD15 che ha una $\%$ di massa grassa di 48.31 con un p-value di 0.04.

C'è però da sottolineare che solo 2 pazienti del gruppo IC hanno effettuato questo esame, perciò i risultati potrebbero essere inficiati dal basso numero di pazienti.

Per valutare l'obesità nel nostro studio abbiamo anche valutato il TMI (Tri-Ponderal Mass Index)¹⁷ che secondo alcuni studi sembra stabilire la $\%$ di grasso meglio del BMI.

Tabella 8: *numeri e % dell'obesità e dell'iperfagia in tutti i pazienti.*

		Numero pazienti	% pazienti
Obesità pediatrica	Non obeso	11	52.4
	Grado I	4	19.0
	Grado II	6	28.6
Obesità adulti	no	0	0
	si	4	100

Iperfagia non controllata	no	19	76
	si	6	24

Tabella 9: numeri e % dell'obesità e dell'iperfagia nei diversi gruppi genetici.

		IC	DEL15	UPD15
Obesità pediatrica	Non obeso	2 (50%)	3 (50%)	6 (54.5%)
	Grado I	1 (25%)	1 (16.7%)	2 (18.2%)
	Grado II	1 (25%)	2 (33.3%)	3 (27.3%)
Obesità adulti	no	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
	si	1 (100%)	1 (100%)	2 (100%)
Iperfagia non controllata	no	3 (60%)	6 (85.7%)	10 (76.9%)
	si	2 (40%)	1 (14.3%)	3 (23.1%)

Abbiamo osservato che l'obesità, che è una caratteristica peculiare della PWS è presente nel 56% dei soggetti del nostro studio. Il 24 % de i soggetti che non risulta obeso ha meno di 5 anni.

I quattro soggetti del nostro studio che consideriamo adulti (> 18 anni) all'anno del metabolismo presentano tutti obesità.

▪ Profilo osseo:

1. PTH
2. Vitamina D
3. Calcio
4. Fosforo
5. Fosfatasi alcalina
6. Età cronologica a 4, 7, 11, 15 anni
7. Età ossea a 4, 7, 11, 15 anni
8. Δ a 4, 7, 11, 15 anni
9. DEXA: z-score rachide e total-body
10. Colecalciferolo

Tabella 10: *media, SDS e P-value dei dati del profilo osseo di tutti i pazienti PWS differenziati per genetica.*

	Genetica				P_value		
	All PWS	IC	DEL15	UPD15	IC vs DEL15	IC vs UPD15	DEL15 vs UPD15
PTH	39.06± 19.13	52.25± 32.11	37.83± 15.41	33.38± 11.83	0.76	0.15	0.66
Vitamina D	28.09± 17.41	22.40± 11.09	31.82± 17.54	29.32± 21.34	0.42	0.72	0.62
Calcio	4.94± 0.26	4.88± 0.33	5.05± 0.22	4.91± 0.25	0.53	0.92	0.16
Fosforo	4.52± 0.75	4.33± 0.95	4.95± 0.63	4.36± 0.68	0.27	0.92	0.08
Fosfatasi alcalina	230.61± 99.51	151.75± 103.56	277.29± 98.81	229.67± 88.90	0.07	0.32	0.23
Età cronologica a 4 anni ± 1	4.27± 0.68	3.83	3.85± 0.99	4.51± 0.47	1	0.40	0.26
Età ossea a 4 anni ± 1	3.59± 1.12	1.50	3.92± 1.53	3.68± 0.74	0.40	0.20	0.94

Δ 4 anni ± 1	-8.21± 11.36	-28.00	0.75± 10.01	-10.00± 8.90	0.40	0.40	0.11
Età cronologica a 7 anni ± 1	7.59± 0.54	7.61± 0.34	7.83± 0.44	7.48± 0.67	0.70	0.83	0.67
Età ossea a 7 anni ± 1	7.84± 1.46	6.42± 0.38	9.75± 0.65	7.64± 1.09	0.10	0.02	0.03
Δ 7 anni ± 1	3.08± 15.34	-14.33± 8.50	23.00± 7.55	2.00± 8.72	0.10	0.03	0.03
Età cronologica a 11 anni ± 1	10.90± 0.59	11.46± 0.30	11.12± 0.29	10.39± 0.46	0.67	0.20	0.20
Età ossea a 11 anni ± 1	12.07± 1.05	12.04± 1.36	12.87± 1.24	11.56± 0.77	0.67	0.80	0.40
Δ 11 anni ± 1	15.71± 13.24	7.00± 19.80	27.00± 9.90	14.00± 8.54	0.67	0.80	0.40
Età cronologica a 15 anni ± 1	14.78± 0.62	15.00	15.25	14.08	1	1	1
Età ossea a 15 anni ± 1	14.31± 0.81	14.50	15.00	13.42	1	1	1
Δ 15 anni ± 1	-5.67± 2.52	-6.00	-3.00	-8.00	1	1	1
Z-score rachide	-0.46± 1.61	-2.35± 0.64	-0.010	-0.08± 1.57	0.67	0.07	1
Z-score total body	-0.66± 1.17	-2.25± 0.92	0.00	-0.38± 0.99	0.67	0.07	1

Il **PTH** in media risulta essere nel range fisiologico (15-65 pg/ml): si osservano però valori che si mantengono nella parte alta del range nel gruppo IC con una media di 52.25 pg/ml contro i 39.06 pg/ml, che rappresenta la media di tutti i gruppi genetici.

La **vitamina D** risulta essere ridotta nel 48% dei pazienti, in media risulta essere al di sotto del range fisiologico (30-100 ng/ml) e in media i valori maggiormente patologici si osservano nel gruppo IC con una media di 22.40 ng/ml.

Il 28% dei pazienti è in terapia con il colecalciferolo.

I valori del **calcio**, del **fosforo** e della **fosfatasi alcalina** variano a seconda dell'età, in particolare si nota che 4 pazienti presentano valori più elevati di calcio rispetto al loro range fisiologico, nessun paziente presenta alterazioni nei valori del fosforo e 3 pazienti presentano valori più elevati di fosfatasi alcalina rispetto al loro target.

Abbiamo valutato l'età ossea a 4, 7, 11 e 15 anni comparandola con l'età cronologica e abbiamo osservato che:

- a 4 anni ± 1 l'età ossea risulta essere leggermente ridotta rispetto all'età cronologica, in particolare l'età cronologica è in media di 4.27 contro la media di 3.59 dell'età ossea.
- A 7 anni ± 1 nel complesso l'età ossea sembra sovrapponibile all'età cronologica, però se si osservano i tre gruppi genetici notiamo che l'età ossea del gruppo UPD15 è significativamente più alta del gruppo IC con una p-value di 0.02 e il gruppo DEL15 è significativamente più alto del gruppo UPD15 con una p-value di 0.03 rispetto all'età cronologica.
- A 11 anni ± 1 l'età ossea risulta essere aumentata rispetto all'età cronologica, in particolare l'età cronologica è in media di 10.90 contro la media di 12.07 dell'età ossea.
- A 15 anni ± 1 abbiamo pochi dati a nostra disposizione, ma i valori dell'età cronologica e ossea risultano abbastanza sovrapponibili.

In particolare, osserviamo che il gruppo IC a 7 anni sembra avere un'età ossea ritardata mentre negli altri due gruppi questa sembra essere avanzata.

Lo **z-score total body** e lo **z-score rachide** che abbiamo valutato tramite la DEXA in media in tutti i soggetti risulta nel range fisiologico in quanto compreso tra -1 e +1 (z-score total body -0.66 ± 1.17 e lo z-score rachide -0.46 ± 1.61). Se però osserviamo i tre gruppi genetici notiamo che il gruppo IC risulta avere in media valori patologici in quanto inferiori a -2 (z-score total body -2.25 ± 0.92 e z-score rachide -2.35 ± 0.64).

Sviluppo puberale:

- **Avvio puberale** (comparsa del bottone mammario B2 nelle femmine e volume testicolare > 4 ml nei maschi)
- **LH**
- **Estradiolo**
- **Testosterone**
- **Menarca**
- **Pubarca**
- **Estradiolo e testosterone terapia**

Tabella 11: *soggetti di cui abbiamo i dati sulla pubertà divisi per femmine e maschi.*

			Genetica			
			All PWS	IC	DEL15	UPD15
Sesso	Femmine	Numero	4	0	0	4
		%	40	0	0	100.0
	Maschi	Numero	6	1	2	3
		%	60	16.6	33.3	50.0
Totale			10	1	2	7
			100.0	10.0	20.0	70.0

Abbiamo analizzato lo sviluppo puberale nei PWS.

Visto che la maggior parte dei pazienti osservati sono piccoli di età e altri sono già adulti senza la documentazione certa dei dati sulla pubertà, abbiamo preso in esame 10 pazienti: 4 femmine e 6 maschi.

Tabella 12: *valori dello sviluppo puberale nelle quattro femmine prese in considerazione nel nostro studio.*

	Femmina 1	Femmina 2	Femmina 3	Femmina 4
Età pubarca	9	8	7	7
Età sviluppo puberale	10	9	11	10
Età LH dosabile	12	11	11	14
Età estradiolo dosabile	11	11	9	11

Nelle Femmine osserviamo che:

- Il pubarca, la comparsa di peluria pubica, risulta in 2 femmine su 4 svilupparsi < 8 anni.
- Lo sviluppo puberale risulta in media avvenire all'interno del range fisiologico (tra gli 8 e i 13 anni nelle femmine) con una media all'età di 10 anni.
- L'estradiolo risulta essere dosabile in 3 femmine su 4 prima dell'LH. Da notare però che le visite ambulatoriali di questi soggetti avvengono ogni 6 mesi circa, perciò ci possono essere delle differenze di anni tra due valori dosati solo perché il soggetto non ha fatto una visita ambulatoriale per dosare quel determinato valore.
- Gli unici due dati sul menarca che abbiamo non sono dei soggetti di cui abbiamo i dati sullo sviluppo puberale, ma appartengono a due soggetti del nostro studio di cui però non abbiamo altri dati sullo sviluppo puberale in quanto manca la documentazione.

Quello che osserviamo è che una ha avuto il menarca a 14 anni e adesso all'età di 21 anni ha cicli mestruali regolari grazie all'utilizzo di terapia sostitutiva estro-progestinica, l'altra ha avuto il menarca a 8 anni (indice di pubertà precoce) e poi un'amenorrea secondaria fino all'età di 36 anni, in cui ha avuto una ripresa dei cicli mestruali regolari.

Tabella 13: *valori dello sviluppo puberale nei sei maschi presi in considerazione nel nostro studio.*

	Maschio 1	Maschio 2	Maschio 3	Maschio 4	Maschio 5	Maschio 6
Età pubarca	12	9	-	-	7	-
Età sviluppo puberale	12	10	11	-	-	8
Età LH dosabile	9	10	10	8	7	-
Età testosterone dosabile	12	9	10	9	7	-

Nei maschi osserviamo che:

- Il pubarca risulta in 1 maschio su 3 (33.3%) svilupparsi < 9 anni;
- Lo sviluppo puberale risulta in media avvenire all'interno del range fisiologico (tra gli 9 e i 14 anni nei maschi) con una media all'età di 10.25 anni.
- Il testosterone risulta essere dosabile prima dell'LH in un soggetto su cinque.

Importante osservare che il “maschio 5 e il maschio 6” hanno avuto una pubertà precoce, avendo presentato segni di attivazione puberale biochimica (LH e testosterone dosabili) per cui è stata avviata terapia bloccante con Gonapeptyl.

Questo è interessante perché dalla letteratura sappiamo che più frequentemente abbiamo uno sviluppo ritardato e incompleto, però è stato visto che la terapia con il GH potrebbe influire sullo sviluppo puberale portando anche a pubertà precoce.

In particolare, nell'articolo “Central precocious puberty in two boys with prader-willi syndrome on growth hormone treatment”¹⁸ è stato osservato che entrambi i soggetti dello studio sono stati sottoposti a terapia con ormone della crescita durante i primi anni di vita secondo l'indicazione PWS. Avevano entrambi criptorchidismo bilaterale alla nascita e orchidopessi nella prima infanzia. L'analisi istologica retrospettiva delle

biopsie testicolari ha dimostrato un'architettura tissutale in gran parte normale e la maturazione delle cellule germinali, ma un numero di prespermatogonia gravemente ridotto in uno dei pazienti. Entrambi i soggetti avevano adrenarca prematuro intorno ai 6 anni. In entrambi è stata diagnosticata la pubertà precoce con ingrossamento del volume testicolare (>3 ml), segni di virilizzazione e risposta puberale a un test dell'ormone di rilascio delle gonadotropine (GnRH) ed erano entrambi trattati con analogo GnRH.

Inoltre, sarebbe interessante andare a valutare se in nostri casi di pubertà precoce siano associati alla mutazione del gene MKRN3 che si trova nella regione critica della PWS e che è stato descritto in letteratura essere associato a casi di pubertà precoce in pazienti PWS.¹⁹

Secondo la letteratura i soggetti con la PWS presentano ipoplasia genitale, sviluppo puberale incompleto e ritardato e infertilità nella maggior parte dei casi.

Nelle femmine si ha spesso assenza del ciclo mestruale (amenorrea primaria) o un inizio in ritardo, che può variare addirittura dai 10 ai 38 anni. Possono seguire poi irregolarità mestruali (oligomenorrea) e/o assenza del ciclo (amenorrea secondaria). Di rado i cicli mestruali rimangono regolari.

Nei maschi è frequente la presenza di testicoli meno sviluppati e il criptorchidismo unilaterale o bilaterale è presente nell'80-90% dei maschi.

Nel maschio la fertilità non è mai stata dimostrata, ma nella femmina sono stati descritti casi di gravidanze condotte a termine.

Anche se sporadici sono riportati casi di pubertà precoce in entrambi i sessi.^{18,20}

Terapia

Tabella14: dati sulla terapia con GH divisi per gruppi molecolari.

	IC 5	DEL15 7	UPD15 13
GH (ora)	3 (60)	7 (100)	10 (77)
GH (si)	5 (100)	7 (100)	13 (100)
Anni avvio GH	4.52±6.28	2.41±3.46	2.48±3.54
Durata terapia con GH	13.46±10.36	7.54±6.3	10.88±6.3

Tutti i pazienti del nostro studio hanno fatto **terapia con GH**, in quanto come sappiamo dalla letteratura contribuisce a portare benefici sia sulla composizione corporea riducendo la massa grassa e aumentando la massa magra, sia sui disturbi cognitivi e sui deficit del linguaggio.^{15,16,21}

Inoltre, abbiamo osservato che i soggetti adulti del nostro studio hanno avviato la terapia con GH più tardivamente, in quanto in passato non era raccomandata la somministrazione nei pazienti con PWS. Ad oggi invece sappiamo che secondo le linee guida la terapia con GH va iniziata precocemente dopo la diagnosi, all'incirca entro i 5/6 mesi di vita.

Tabella 15: *altre terapie assunte dai pazienti del nostro studio divisi per gruppo molecolare.*

	ALL PWS (25)	IC 5	DEL15 7	UPD15 13
Levotiroxina	10 (40)	2 (40)	3 (43)	5 (38)
Antipsicotici	6 (24)	2 (40)	1 (14)	3 (23)
Antiepilettici	2 (8)	0	0	2 (15)

Nel nostro gruppo di studio il 40% presenta ipotiroidismo centrale ed è in terapia con levotiroxina.²²

Il 24% è in terapia con antipsicotici. Infatti, come sappiamo nell'età adulta i soggetti con PWS tendono ad avere problemi comportamentali, quali scatti d'ira, comportamento autolesionistico (pizzicamento della pelle), temperamento irascibile e caparbio.^{23,24}

Due pazienti del nostro studio appartenenti al gruppo UPD15 hanno presentato crisi epilettiche di tipo febbrile. Sebbene appartengano allo stesso gruppo molecolare non abbiamo trovato in letteratura una possibile correlazione con la genetica²⁵ e i nostri casi sono troppo esigui per provare a cercare una correlazione. Quindi sarebbe interessante valutare la comparsa di crisi epilettiche in una popolazione più ampia e provare a vedere se esiste una correlazione con i diversi gruppi molecolari.

Conclusioni:

sebbene i gruppi genetici osservati siano in numero differente e avendo talvolta anche ulteriori meno dati in quanto mancanti per mancanza dell'esame effettuato o perché non reperibili, abbiamo osservato che:

Conclusioni sul fenotipo:

Il gruppo UPD15 sembra essere quello maggiormente rappresentato da bambini nati pretermine. Non abbiamo però una significatività statistica dovuta la basso numero di bambini presi in esame.

Inoltre, valutando la statura SDS all'anno del metabolismo osserviamo che il gruppo IC risulta essere costituito da soggetti più bassi rispetto agli altri due gruppi con un SDS di -2.98.

Visti i pochi pazienti (5) appartenenti al gruppo IC sarebbe opportuno allargare lo studio ad un numero maggiore di pazienti per valutare se c'è una significatività legata al gruppo genetico.

Conclusioni sul profilo metabolico:

- **Conclusioni sul profilo glicemico:**

i valori del profilo glicemico risultano in tutti i gruppi nel range fisiologico. Nessuno dei pazienti del nostro studio ha sviluppato diabete.

- **Conclusioni sul profilo insulinico:**

i valori del profilo insulinico risultano in media nella norma nel gruppo IC, mentre risultano più elevati negli altri due gruppi molecolari.

In particolare:

- i 5 soggetti che presentano elevata insulinemia a digiuno, quattro appartengono al gruppo UPD15 e uno al gruppo DEL15.

- L'HOMA IR SDS risulta patologico in media sia nel gruppo DEL15 che nel gruppo UPD15 e risulta significativamente più elevato il gruppo DEL15 rispetto al gruppo IC.
- La curva insulinemica al tempo 120' risulta in media patologica sia nel gruppo DEL15 che nel gruppo UPD15 e risulta significativamente più elevato il gruppo UPD15 rispetto al gruppo IC.

Sarebbero da osservare ulteriori soggetti per determinare che queste considerazioni siano effettivamente correlate al gruppo genetico e che non siano dovute alla casualità per il fatto che i soggetti appartenenti al gruppo IC sono in numero minore.

- **Conclusioni sul profilo lipidico:**

il profilo lipidico risulta nella norma nei soggetti del nostro studio. Non si osservano differenze significative tra i tre diversi gruppi genetici che presentano un profilo lipidico nella norma.

Tutti i diversi gruppi molecolari presentano una % di massa grassa > 30 %, indice di obesità.

Inoltre, abbiamo osservato differenze nei valori del profilo lipidico tra le femmine e i maschi, osservando valori maggiormente patologici nelle femmine.

- **Conclusioni sul profilo osseo:**

l'intero gruppo in media non sembra presentare valori del profilo osseo patologici. Circa la metà dei soggetti ha una carenza di vitamina D.

Valutando la progressione dell'età ossea abbiamo osservato che il gruppo IC all'età di 7 anni presenta un'età ossea ritardata rispetto agli altri due gruppi dove risulta essere avanzata.

Il gruppo IC presenta uno z-score che rispetto agli altri due gruppi in media è patologico in quanto inferiore a -2.

Conclusioni sullo sviluppo puberale:

non abbiamo molti dati a nostra disposizione poiché i soggetti studiati sono stati solamente 10, a causa dell'età e del fatto che alcuni erano privi di documentazione.

Detto ciò, riguardo ai pazienti di sesso femminile studiati possiamo dire che:

- Il 50% ha avuto un pubarca precoce;
- lo sviluppo puberale (cioè la comparsa del bottone mammario B2) in media risulta essere nel range fisiologico, cioè tra gli 8 e i 13 anni;
- i due casi di menarca, in accordo con la letteratura, sono caratterizzati da utilizzo di terapia estroprogestinica per avere cicli regolari in un caso e amenorrea secondaria fino all'età di 36 anni nell'altro.
- Abbiamo osservato un caso di pubertà precoce in una femmina del nostro studio.

Riguardo ai soggetti di sesso maschile possiamo dire che:

- il 33.3% ha avuto un pubarca precoce;
- lo sviluppo puberale (cioè un volume testicolare > 4ml) in media risulta essere nel range fisiologico, cioè tra i 9 e i 14 anni.

Però due pazienti hanno avuto la pubertà precoce (all'età di 7 anni e 8 anni rispettivamente) per cui è stata avviata terapia bloccante con Gonapeptyl.

Conclusioni finali

Nella nostra coorte la maggior parte dei pazienti PWS è nata a termine con un peso e una lunghezza alla nascita nella norma e un'alta percentuale di presentazione podalica.

Abbiamo osservato un rischio aumentato di parto pretermine nel gruppo UPD15.

Il 64% dei soggetti maschi del nostro studio ha avuto criptorchidismo.

Dal punto di vista auxologico i soggetti del gruppo IC sembrano avere una statura inferiore comparata agli altri gruppi molecolari e una distanza in statura maggiore dal target genetico.

Nessuno dei nostri pazienti ha sviluppato diabete.

Il gruppo IC risulta avere un profilo insulinico migliore comparato con gli altri gruppi molecolari.

La maggior parte dei soggetti del nostro studio ha un profilo lipidico e osseo nella norma.

Tre soggetti del nostro studio hanno presentato pubertà precoce. Sarebbe interessante andare a valutare se esiste una possibile correlazione con un'alterazione del gene MKRN3 che si trova nella regione critica della PWS e sembra essere frequentemente associato a pubertà precoce in pazienti con PWS.

Il 40% dei soggetti del nostro studio presenta ipotiroidismo, il 12 % presenta ipogonadismo, il 24% presenta problemi psicotici e due soggetti del gruppo UPD15 presentano crisi epilettiche.

Il nostro campione era ristretto, per questo motivo servirebbero altri soggetti che entrino a far parte del nostro studio.

È auspicabile che i dati del registro nazionale PWS, istituito nel 2020, ci aiuteranno ad ampliare i dati a nostra disposizione sulla patologia e sui fattori di rischio relativi a ciascun gruppo molecolare.

Abbreviazioni:

- PWS: Sindrome di Prader-Willi
- SDS: deviazione standard
- MS-MLPA: test di metilazione
- GH: ormone della crescita
- IC: difetto del centro dell'imprinting
- DEL15: delezione del cromosoma 15
- UPD15: disomia uniparentale materna del cromosoma 15
- BMI: body mass index
- TMI: tri ponderal mass index
- HDL: high density lipoprotein
- LDL: low density lipoprotein
- DEXA: Dual-energy X-ray Absorptiometry

Bibliografia

1. Cassidy, S. B., Schwartz, S., Miller, J. L. & Driscoll, D. J. Prader-Willi syndrome. *Genetics in Medicine* vol. 14 (2012).
2. Glenn, C. C., Driscoll, D. J., Yang, T. P. & Nicholls, R. D. *Genomic imprinting: potential function and mechanisms revealed by the Prader-Willi and Angelman syndromes. Molecular Human Reproduction* vol. 3 (1997).
3. Francke, U. Imprinted genes in the Prader-Willi deletion. *Novartis Found Symp* **214**, 264–75; discussion 275-9 (1998).
4. Nicholls, R. D., Knoll, J. H., Butler, M. G., Karam, S. & Lalande, M. Genetic imprinting suggested by maternal heterodisomy in nondeletion Prader-Willi syndrome. *Nature* **342**, 281–5 (1989).
5. Yamazawa, K., Ogata, T. & Ferguson-Smith, A. C. Uniparental disomy and human disease: an overview. *Am J Med Genet C Semin Med Genet* **154C**, 329–34 (2010).
6. Butler, M. G. Imprinting disorders in humans: a review. *Curr Opin Pediatr* **32**, 719–729 (2020).
7. Diagnostico, P., Assistenziale, T., La, P., Di, S. & Revisione, P.-W. *Società Italiana di Endocrinologia e Diabetologia Pediatrica STATO DATA FIRMA APPROVATO APPLICATO DAL*.
8. Butler, M. G., Miller, J. L. & Forster, J. L. Prader-Willi Syndrome - Clinical Genetics, Diagnosis and Treatment Approaches: An Update. *Current Pediatric Reviews* **15**, 207–244 (2019).
9. Heksch, R., Kamboj, M., Anglin, K. & Obrynba, K. Review of Prader-Willi syndrome: The endocrine approach. *Translational Pediatrics* vol. 6 274–285 (2017).
10. Crinò, A. & Grugni, G. Update on Diabetes Mellitus and Glucose Metabolism Alterations in Prader-Willi Syndrome. *Curr Diab Rep* **20**, 7 (2020).
11. Lee, C.-H. *et al.* Adenotonsillectomy for the Treatment of Obstructive Sleep Apnea in Children with Prader-Willi Syndrome: A Meta-analysis. *Otolaryngol Head Neck Surg* **162**, 168–176 (2020).
12. Camfferman, D., Lushington, K., O'Donoghue, F. & Doug McEvoy, R. Obstructive sleep apnea syndrome in Prader-Willi Syndrome: an unrecognized and untreated cause of cognitive and behavioral deficits? *Neuropsychol Rev* **16**, 123–9 (2006).
13. M Gunay-Aygun, S Schwartz, S Heeger, M A O'Riordan & S B Cassidy. The changing purpose of Prader-Willi syndrome clinical diagnostic criteria and proposed revised criteria. *Pediatrics* (2001).
14. Eddiry, S. *et al.* SNORD116 and growth hormone therapy impact IGFBP7 in Prader-Willi syndrome. *Genet Med* **23**, 1664–1672 (2021).

15. Eiholzer, U., Schlumpf, M., Nordmann, Y. & l'Allemand, D. Early manifestations of Prader-Willi syndrome: influence of growth hormone. *J Pediatr Endocrinol Metab* **14 Suppl 6**, 1441–4 (2001).
16. Whitman, B. *et al.* Growth hormone improves body composition and motor development in infants with Prader-Willi syndrome after six months. *J Pediatr Endocrinol Metab* **17**, 591–600 (2004).
17. Malavazos, A. E. *et al.* Tri-Ponderal Mass Index vs body Mass Index in discriminating central obesity and hypertension in adolescents with overweight. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* **31**, 1613–1621 (2021).
18. Monai, E. *et al.* Central Precocious Puberty in two Boys with Prader-Willi Syndrome on Growth Hormone Treatment. *AACE Clinical Case Reports* **5**, e352–e356 (2019).
19. Abreu, A. P. *et al.* Central Precocious Puberty Caused by Mutations in the Imprinted Gene MKRN3 . *New England Journal of Medicine* **368**, 2467–2475 (2013).
20. Pusz, E. R. & Rotenstein, D. Treatment of precocious puberty in a female with Prader-Willi syndrome. *J Pediatr Endocrinol Metab* **21**, 495–500 (2008).
21. Sjöström, A. & Höybye, C. Twenty Years of GH Treatment in Adults with Prader-Willi Syndrome. *J Clin Med* **10**, (2021).
22. Konishi, A., Ida, S., Shoji, Y., Etani, Y. & Kawai, M. Central hypothyroidism improves with age in very young children with Prader-Willi syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* **94**, 384–391 (2021).
23. Schwartz, L. *et al.* Behavioral features in Prader-Willi syndrome (PWS): consensus paper from the International PWS Clinical Trial Consortium. *J Neurodev Disord* **13**, 25 (2021).
24. Hiraiwa, R., Maegaki, Y., Oka, A. & Ohno, K. Behavioral and psychiatric disorders in Prader-Willi syndrome: a population study in Japan. *Brain Dev* **29**, 535–42 (2007).
25. Takeshita, E., Murakami, N., Sakuta, R. & Nagai, T. Evaluating the frequency and characteristics of seizures in 142 Japanese patients with Prader-Willi syndrome. *Am J Med Genet A* **161A**, 2052–5 (2013).

Ringraziamenti

*Vorrei iniziare ringraziando il **Professore Mohamad Maghnie** per avermi permesso di svolgere il mio tirocinio e la mia tesi di ricerca nel dipartimento di endocrinologia dell'ospedale Gaslini.*

*Ringrazio la **Professoressa Giuseppa Patti** per l'aiuto e i preziosi consigli durante la stesura della mia tesi.*

*Ringrazio la **Dottoressa Mariagrazia Calevo** per l'aiuto nella parte statistica del mio elaborato.*

*Ringrazio la mia **famiglia** per tutto il supporto e il sostegno.*