



**UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI GENOVA**

**Dipartimento di Neuroscienze, riabilitazione, oftalmologia, genetica e scienze materno-  
infantili (DINO GMI)**

**DOTTORATO DI RICERCA IN SCIENZE PEDIATRICHE**

**Curriculum: ENDOCRINOLOGIA E DIABETOLOGIA**

**XXXI ciclo (A.A. 2015-2018)**

**Titolo Della Tesi Di Dottorato**

**Sindrome di Silver Russell**

**Correlazione genotipo-fenotipo e SNC**

**Relatore: Chiar.mo Prof. M. Maghnie**

**Dottoranda: dr.ssa Giuseppa Patti**

*Mio padre mi ha insegnato a lavorare sodo e a prendere la vita per come viene.  
“Senza stenti non si fanno argenti”, versione sicula e genuina di Per Aspera ad Astra e “Non tutti i mali  
vengono per nuocere” sono le sue frasi che porto con me.  
Dedico questa tesi a lui e ai tanti sacrifici sempre fatti in silenzio e con il sorriso.*

## INDICE

<b>Capitolo</b>	<b>Pagina</b>
<b>Introduzione</b>	2
<b>1: Il punto sulla sindrome di Silver Russell dopo il Primo Consensus Internazionale</b>	3
<b>2: Storia Naturale e dati in età adulta</b>	11
<b>3: Aspetto cognitivo</b> 3.1. Ritardo motorio 3.2. Deficit di Attenzione/Iperattività 3.3. Dati Francesi	21
<b>4. Lo studio</b> 4.1. Razionale 4.2. Obiettivi 4.3. Disegno dello studio 4.4. Procedura 4.5. Analisi dei dati e statistica 4.6. Popolazione 4.7. Risultati valutazione clinica 4.8. Risultati valutazione cognitiva 4.9. Risultati valutazione neuroradiologica	26
<b>5. Discussione</b>	35
<b>6. Ringraziamenti</b>	38

## Introduzione

La sindrome di Silver Russell (SRS) é una malattia epigenetica rara (1:70.000-1:100.000) caratterizzata da un difetto di crescita intrauterino e postnatale. Le principali anomalie molecolari sono rappresentate dalla ipometilazione paterna della regione 11p15 (11P15LOM) e dalla unidisomia parentale materna del cromosoma 7 (mUPD7); in rari casi è anche riportata una duplicazione a carico del cromosoma 11. Nel 40-50% dei casi le indagini genetiche risultano negative.

La diagnosi è clinica e si basa sulla presenza di 4 su 6 criteri clinici secondo Netchine e Harbison (peso e/o lunghezza alla nascita inferiore a -2 SDS, macrocefalia relativa, asimmetria, inappetenza o BMI <-2 SDS, bozze frontali, statura inferiore a -2 SDS).

Il ruolo dell'IGF2 (fattore di crescita insulino-simile, deficitario in questi soggetti) nello sviluppo del sistema nervoso centrale (SNC); ippocampo, amigdala, ventricoli laterali] e nei processi di memoria nonché il rischio di mioclono-distonia segnalato nei casi con mUPD7, fanno porre l'ipotesi che questi pazienti possano presentare alterazioni morfologiche e possibilmente funzionali a livello del SNC.

In virtù dell'esiguità dei dati sullo sviluppo cognitivo e dell'assenza di dati neuroradiologici, alcuni aneddotici (displasia cerebellare, aneurismi cerebrali), questa tesi si prefigge di valutare lo sviluppo cognitivo nei bambini con suddetta sindrome e di ricercare la presenza di alterazioni anatomiche cerebrali.

Seguendo il modello inglese della tesi di PhD, tesi della *maturità*, frutto dei 3 anni di lavoro clinico e di ricerca, i due capitoli introduttivi saranno costituiti da due articoli sulla SRS che ho scritto in questi anni grazie all'aiuto del mio tutor, prof. Mohamad Maghnie.

In particolare nel Primo Capitolo vengono riportate le caratteristiche cliniche e regole pratiche di gestione della sindrome; nel secondo capitolo vengono invece riportati i dati raccolti sul decorso della malattia in età adulta.

L'ultimo capitolo riporta la metodologia e i risultati dello studio e verrà introdotto dall'abstract sui dati cognitivi nei bambini SRS francesi che ho raccolto presso l'ospedale pediatrico Armand Trousseau di Parigi, centro di riferimento europeo per tale patologia.

## **Capitolo 1: Il punto sulla Sindrome di Silver Russell dopo il Primo Consensus Internazionale.**

Il primo capitolo inizia con la foto del Primo Consensus Internazionale sulla SRS, tenutosi in settembre 2015, un mese prima dell'inizio del mio dottorato.

Tra gli esperti erano presenti il Prof. Mohamad Maghnie e la Dott.ssa Silvia Russo ( Istituto Auxologico, Milano).



# Il punto sulla sindrome di Silver-Russell dopo il primo *Consensus* internazionale

GIUSEPPA PATTI<sup>1,2</sup>, NATASCIA DI IORGI<sup>1,2</sup>, FLAVIA NAPOLI<sup>1</sup>, MOHAMAD MAGHNIE<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Clinica Pediatrica, IRCCS Istituto "Giannina Gaslini", Genova; <sup>2</sup>Università di Genova

La sindrome di Silver-Russell è una malattia epigenetica rara caratterizzata da deficit di crescita intrauterino e postnatale. La diagnosi è clinica e può essere confermata in circa il 60% dei casi dalle indagini molecolari. L'articolo riporta una revisione (una sorta di linea guida) sulle manifestazioni cliniche, la diagnosi e la corretta gestione.

A ridosso della pubblicazione del primo *Consensus* internazionale, vi presentiamo una messa a punto sulla sindrome di Silver-Russell (SRS), una rara malattia da *imprinting* genetico caratterizzata da un severo ritardo di crescita intrauterino e postnatale, note dismorfiche tipiche e una varietà di problematiche cliniche la cui gestione richiede un approccio multidisciplinare<sup>1</sup>.

Il nome deriva da Henry Silver, che nel 1953 descrisse la sindrome in due bambini con scarsa crescita intrauterina e postnatale e asimmetria corporea<sup>2</sup>, e da Alex Russell, che riportò 5 casi qualche anno dopo<sup>3</sup>. L'incidenza è di 1:70.000-1.100.000<sup>1</sup>.

## PATOGENESI

La SRS è un classico modello di malattia epigenetica, caratterizzata da un'alterazione dell'espressione genica non associata ad alterazioni strutturali del DNA<sup>4,5</sup>. Due sono le principali anomalie molecolari.

### Ipoimetilazione paterna della regione 11p15

La regione 11p15 del cromosoma 11 contiene 2 centri di *imprinting* genetico, ICR1 e ICR2. In corrispondenza della regione ICR1 si trovano IGFII (*Insulin-Like Growth Factor II*) e H19 (funzione sconosciuta). La perdita di metilazione paterna a livello della regione

## AN UPDATE ON THE SILVER-RUSSELL SYNDROME AFTER THE FIRST INTERNATIONAL CONSENSUS (*Medico e Bambino* 2018;37:85-91)

### Key words

Silver-Russell syndrome, Diagnosis, Molecular testing, Guidelines

### Summary

Silver-Russell syndrome (SRS) is a heterogeneous syndrome characterised by severe intrauterine and postnatal growth retardation with typical dysmorphic features. SRS is primarily a clinical diagnosis; however molecular testing enables confirmation of the clinical diagnosis and defines the subtype. The article reports an update on the clinical manifestations, diagnosis and management of SRS patients.

ICR1 H19/IGF2 causa la mancata produzione di IGF2, ed è responsabile di circa il 45-60% dei casi SRS (*Figura 1*).

Al contrario, un'acquisizione di metilazione a livello della regione H19/IGF2 del cromosoma 11 materno determina un'iperproduzione di IGF2, responsabile del 5% dei casi di sindrome di Beckwith-Wiedemann (BWS)<sup>6</sup>.

### mUPD7

La unidisomia parentale materna a carico del cromosoma 7 (mUPD7) si riscontra in circa il 5-10% dei casi. In questa forma il bambino eredita entrambe le copie del cromosoma 7 dalla madre.

### Forme idiopatiche

In circa il 40-50% dei casi non è possibile identificare un'alterazione genetica, per cui si parla di forme idiopatiche<sup>5,6</sup>.

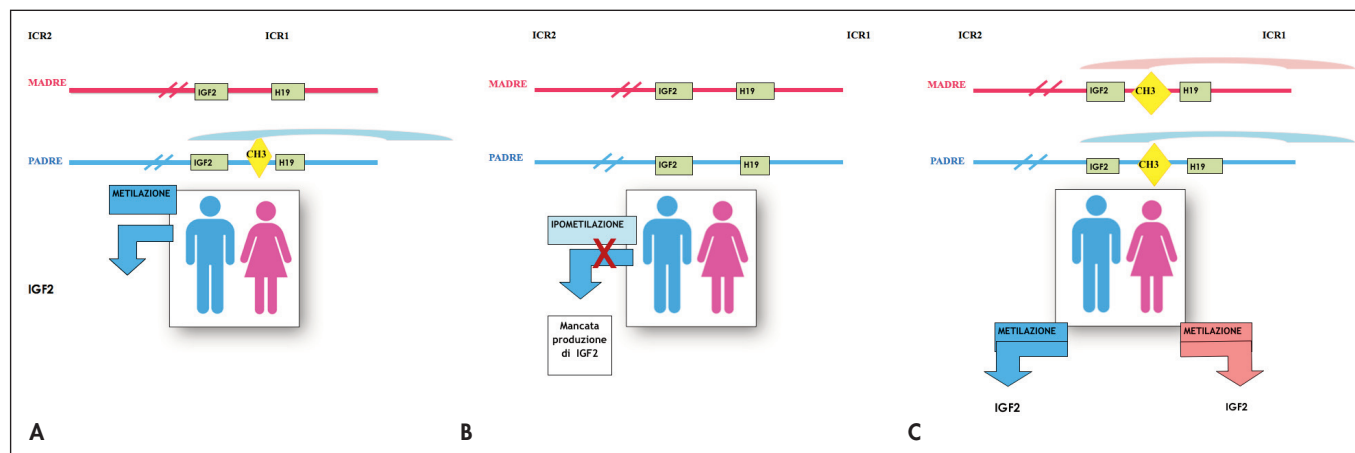
## CARATTERISTICHE FISICHE

### Facies

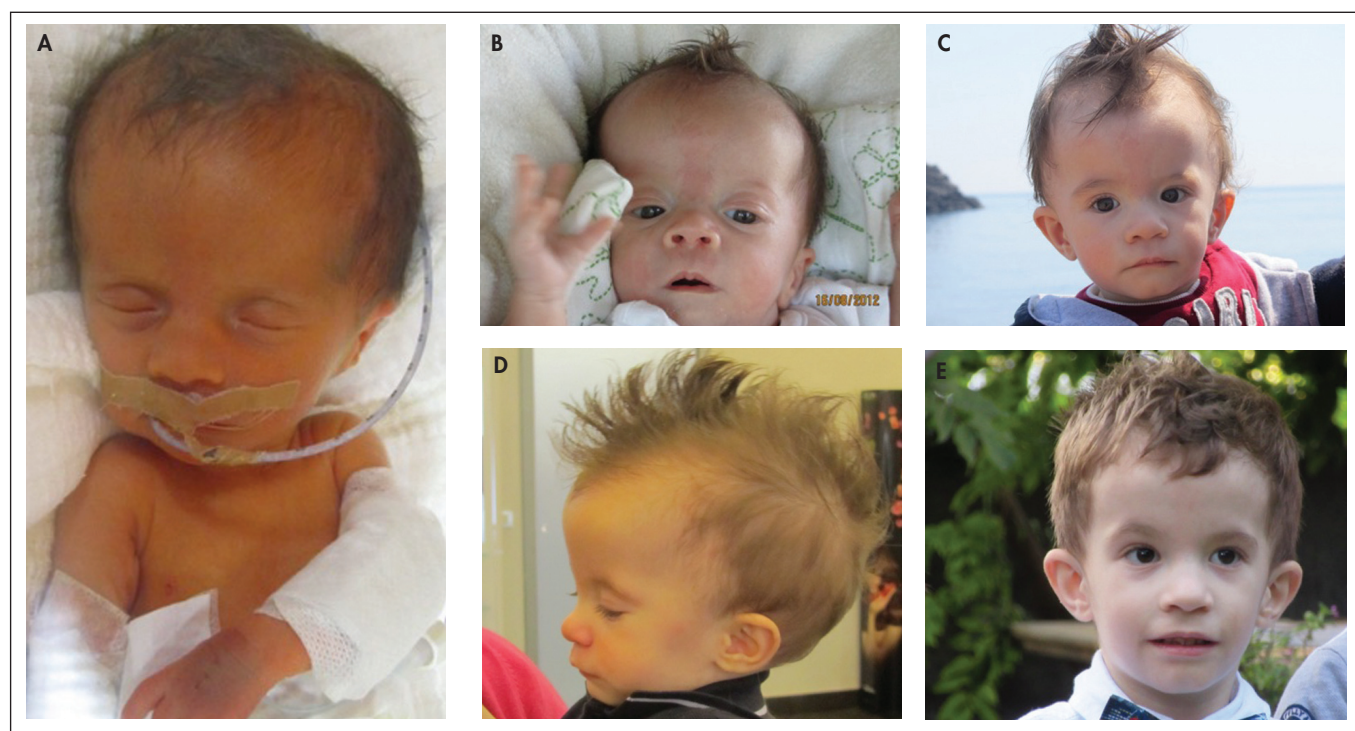
Viso triangolare, bozze frontali, macrocefalia relativa, sproporzione tra neurocranio e splancnocranio, occhi piccoli, palato ogivale, labbra sottili con rima rivolta in basso (*Figura 2*). L'asimmetria corporea è un'altra caratteristica tipica<sup>7</sup>.

### Scarsa crescita intrauterina, nati piccoli per l'età gestazionale, macrocefalia relativa

Il peso e la lunghezza alla nascita sono intorno alle -3 SDS rispetto alla popolazione generale, la circonferenza cranica alla nascita è nella norma, con un delta rispetto al peso e alla lunghezza di circa +1,5 SDS. I pazienti con ipoimetilazione 11p15 hanno in genere pe-



**Figura 1.** Illustrazione della principale anomalia molecolare responsabile della SRS. A. In condizioni normali la regione ICR1-H19/IGF2 del cromosoma 11 paterno è soggetta a metilazione; B. La perdita di metilazione paterna H19/IGF2 causa la mancata produzione di IGF2 e rappresenta la principale anomalia molecolare responsabile della SRS; C. Al contrario, se la metilazione si verifica anche a livello della regione ICR1-H19/IGF2 materna, normalmente non sottoposta a metilazione, si ha un'iperproduzione di IGF2 responsabile di BWS.



**Figura 2.** Bambino di 4 anni con SRS da ipometilazione 11p15. A. A 15 giorni di vita; B. A 2 mesi. C. A 1 anno. D. A 1 anno e mezzo. E. A 4 anni. Si noti come la macrocefalia relativa e le bozze frontali siano più evidenti sotto i 2 anni.

so e lunghezza alla nascita minori. Studi recenti hanno mostrato che non tutti i bambini affetti sono nati piccoli per l'età gestazionale (SGA), in particolare i soggetti con mUPD7<sup>1,7</sup>.

### Difficoltà di alimentazione, scarsa crescita staturponderale

A differenza di quanto accade nella maggior parte dei bambini nati SGA, nei bambini SRS non si assiste in ge-

nera a un *catch-up growth*. Alla nascita è presente una maggiore compromissione della lunghezza sul peso. A partire dall'anno di vita fino ai 10 anni vi è una maggiore compromissione del peso sull'altezza. L'insufficienza ponderale è in parte verosimilmente causata dai numerosi disturbi alimentari (suzione debole, inappetenza e problemi della masticazione) che si riducono con l'età<sup>7</sup>.

### 11p15 e mUPD7 a confronto

Anomalie fenotipiche tipiche (asimmetria corporea, macrocefalia relativa, basso peso alla nascita) si osservano più frequentemente nei soggetti con ipometilazione del cromosoma 11. Anche le malformazioni congenite (cardiache e genitourinarie) sono più frequenti in questo gruppo di pazienti. Un ritardo del linguaggio è invece più frequente nei soggetti con mUPD7 (Tabella I)<sup>1,4,7</sup>.



**11p15 E mUPD7 A CONFRONTO**

	11p15 (%)	mUPD7 (%)
Peso alla nascita < -2 SDS	82	70
Asimmetria	68	30
Ritardo del linguaggio	32	67
Mioclonia/distonia	0	15
Bozze frontali	60	60
Clinodattilia	75	45
Sudorazione eccessiva	64	75
Faccia triangolare	59	90
Malformazioni congenite	36	10

Tabella I. Comparazione di alcune manifestazioni cliniche nei pazienti con ipometilazione 11p15 e nei soggetti con mUPD7 (da voce bibliografica 4, modificata).

**CRITERI CLINICI DI NETCHINE-HARBISON  
PER LA DIAGNOSI DELLA SINDROME DI SILVER-RUSSELL**

Criteri clinici	Definizione
SGA (peso e/o lunghezza alla nascita)	≤ -2 SDS per l'età gestazionale
Scarsa crescita postnatale	Lunghezza a 24 mesi ≤ -2 SDS o altezza ≤ -2 SDS dal target genetico
Macrocefalia relativa	Circonferenza cranica alla nascita ≥ 1,5 SDS rispetto al peso e alla lunghezza
Fronte prominente	Fronte che emerge dal margine del viso vista secondo il profilo laterale (Figura 2)
Asimmetria corporea	Discrepanza di lunghezza degli arti (LLD) ≥ 0,5 cm o < 0,5 cm con asimmetria di altre due parti del corpo
Inappetenza/disturbi dell'alimentazione e/o insufficienza ponderale	BMI ≤ -2 SDS a 24 mesi o necessità di nutrizione enterale tramite SNG o gastrostomia

Tabella II. Diagnosi clinica in presenza di ≥ 4 criteri, improbabile se < 3 criteri (da voce bibliografica 8, modificata).

**DIAGNOSI**

La diagnosi è clinica e si basa sul punteggio clinico di Netchine-Harbison 2015 (NH-CSS, Tabella II)<sup>8</sup>, in virtù del quale si pone diagnosi in presenza di 4 dei seguenti criteri:

- nati SGA (peso e/o lunghezza alla nascita ≤ -2 SDS);
- scarsa crescita postnatale con statura ≤ -2 SDS;
- macrocefalia relativa (circonferenza cranica alla nascita che si discosta di almeno +1,5 SDS dal peso e dalla lunghezza);
- fronte prominente;
- asimmetria corporea (differenza in lunghezza o in diametro tra i 2 arti di almeno 0,5 cm);
- difficoltà nell'alimentazione o BMI (Body Mass Index) (≤ -2 SDS).

Il punteggio di Netchine-Harbison è più sensibile (97,9%) rispetto ai precedenti di Netchine (91,5%) e Birmingham (83,7%) e ha il più alto valore predittivo negativo (88,9%)<sup>8,9</sup>. Sebbene la diagnosi sia clinica, le indagini molecolari permettono una stratificazione genotipica in grado di fornire informazioni aggiuntive riguardo la prognosi e la gestione. Il fenotipo è estremamente variabile e la diagnosi è difficile nei bambini più grandi. Nel sospetto clinico vanno chieste le foto dei primi 3 anni di vita<sup>1,7</sup>. La Figura 3 sintetizza l'algoritmo diagnostico da seguire nel sospetto clinico di SRS.

Lo studio di metilazione della regione H19/IGF2 11p15 è il primo test da effettuare nel sospetto clinico di SRS (criteri clinici NH > 3) e va eseguito mediante metodica MLPA (Multiplex

*Ligation-dependent Probe Amplification*). Nei casi con valori di metilazione *bordeline* su sangue andranno utilizzate metodiche differenti (*Southern blot* o *pyrosequencing*) e andrebbero testati tessuti differenti (*brushing* della mucosa buccale o biopsia cutanea). L'evidenza di una perdita di metilazione (LOM = *Loss Of Methylation*) con un normale CNV (*Copy Number Variation*) conferma la causa epigenetica, mentre una LOM con un'alterazione CNV suggerisce la presenza di una microdelezione/duplicazione. In quest'ultimo caso andrà eseguito lo studio CNV sui genitori allo scopo di valutare il rischio di ricorrenza. Nel caso in cui lo studio di metilazione risulti nella norma, sarà opportuno ricercare la disomia del cromosoma 7. Nel caso di negatività sia del test di metilazione che di mUPD7, nei casi in cui il sospetto clinico sia forte, i passi successivi saranno rappresentati dall'esecuzione dell'indagine genetica su altri tessuti (in genere *brushing* della mucosa buccale, biopsia cutanea), *array-CGH* (*Comparative Genomic Hybridization*) e sullo studio dei cromosomi 14 e 20 (Figura 3, Tabelle III e IV)<sup>10</sup>.

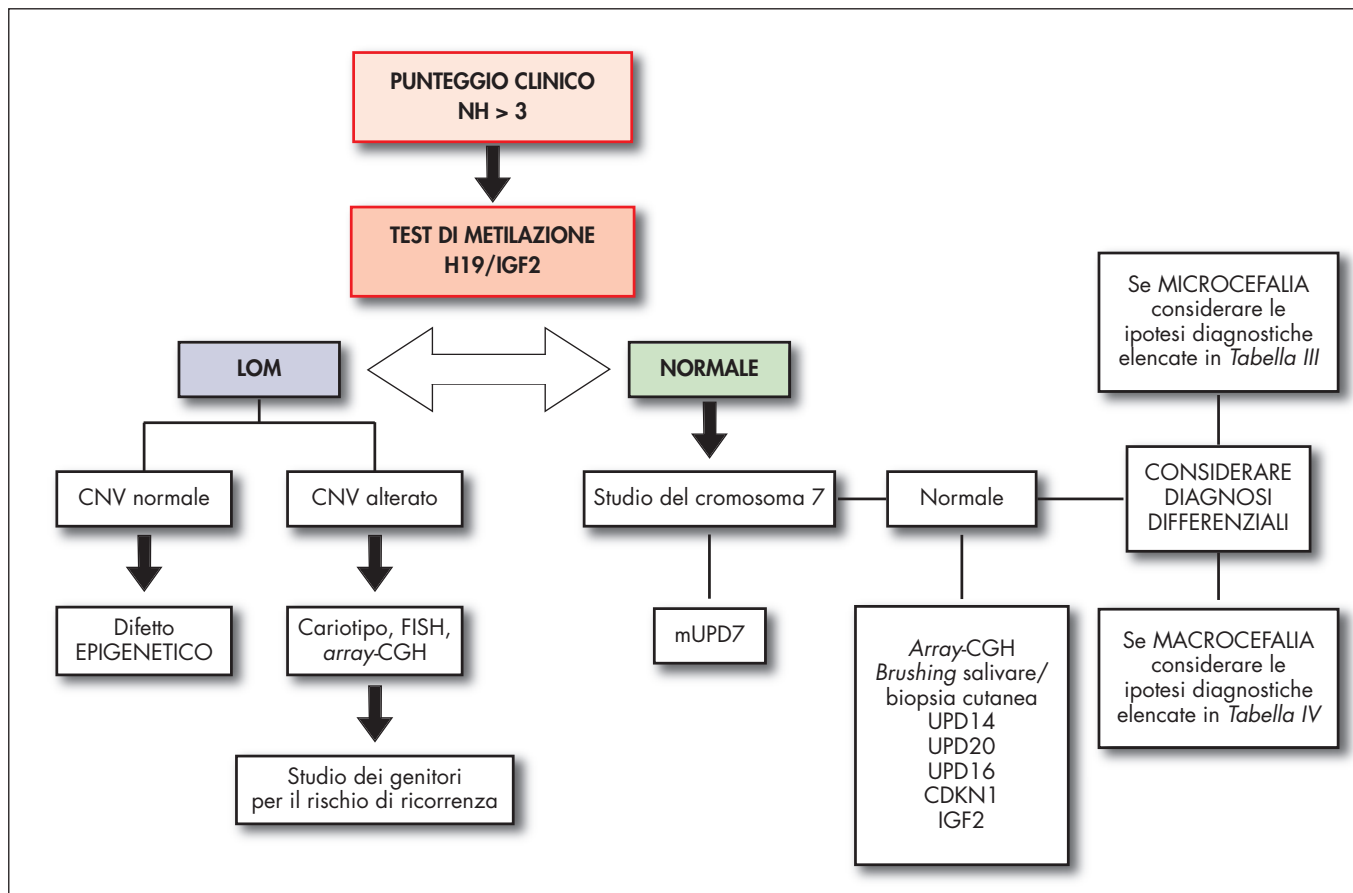
Mutazioni a carico dei geni IGF2 e PLAG1 sono state recentemente identificate in pazienti con quadro clinico di SRS attraverso studi di *exome sequencing*<sup>11,12</sup>.

**PRINCIPALI PROBLEMATICHE CLINICHE**

**Ipoglicemia**

I bambini con SRS sono a rischio di ipoglicemia a causa della sproporzione tra testa e corpo, dell'ipotrofia muscolare, della scarsa massa epatica e dell'insufficiente introito calorico causato dall'inappetenza. Questi fattori incrementano l'uso di carboidrati, riducono la glicogenosintesi e la gluconeogenesi. È necessario istruire i genitori a evitare il digiuno prolungato offrendo pasti piccoli e frequenti e a riconoscere i segni/sintomi di ipoglicemia (irritabilità, pallore, ipersudorazione e tremori). Informare il pediatra curante del rischio di ipoglicemia e valutare l'opportunità di somministrare soluzione glucosalina ev in caso di gastroenterite<sup>1,7</sup>.





**Figura 3.** Flow chart diagnostica nel sospetto di SRS. Lo studio di metilazione della regione 11p15 è il primo test da effettuare nell'ipotesi clinica di SRS e va eseguito mediante metodica MLPA o Southern blot. Nei casi con valori di metilazione borderline andranno effettuate metodiche differenti e andranno testati tessuti differenti. L'evidenza di una perdita di metilazione (LOM = Loss Of Methylation) con un normale Copy Number Variation (CNV) conferma la natura epigenetica, mentre una LOM con un'alterazione CNV suggerisce la presenza di una microdelezione/duplicazione. Questi casi necessitano di essere ben definiti attraverso cariotipo, FISH o array-CGH. Valori borderline in un singolo tessuto necessitano lo studio di altri tessuti o l'uso di altre metodiche incluso SNP-array. I casi con normale pattern di metilazione 11p15 dovranno essere testati per mUPD7 (da voce bibliografica 10, modificata).

### Alimentazione

Difficoltà alimentari sono descritte nel 65% dei pazienti. Il problema principale dei primi anni di vita è assicurare un apporto calorico adeguato all'età. Nel 20% dei casi è necessaria l'alimentazione tramite sondino nasogastrico (SNG) o tramite gastrostomia. Molto frequente è l'uso di integratori alimentari tipo *Fantomalt*.

**Sembra che un rapido catch-up del peso nei bambini nati SGA possa associarsi a un aumentato rischio di obesità e problemi cardiovascolari, per cui bisogna evitare un eccessivo introito calorico (errore comune nei bambini con SNG o gastrostomia)<sup>1</sup>.** I bambini SRS hanno una composizione corporea caratterizzata da scarsa massa muscolare e una più elevata percentuale di massa grassa rispet-

to alla popolazione generale. Il *target* per i bambini di età compresa tra 2 e 4 anni pre-avvio di terapia con ormone della crescita (GH) è un BMI compreso tra 12-14 kg/m<sup>2</sup> o un peso per altezza (*weight-for-height*) pari al 75-85% del peso al 50° centile per altezza/lunghezza.

Nei bambini di età maggiore di 4 anni il BMI ideale dipende dalla percentuale di massa muscolare. In generale nei bambini 11p15 con scarsa massa muscolare e asimmetria corporea il BMI ideale è 11-12 kg/m<sup>2</sup>. Nei gruppo mUPD7 il BMI ideale è di circa 14-15 kg/m<sup>2</sup>.

### Bassa statura

La statura definitiva media in assenza di terapia con ormone della crescita è di 151,8 +/- 7,8 cm nel maschio e di 139,9 +/- 9 cm nel sesso femminile, pari a -3,6/-4 SDS dalla norma. **La terapia con**

### GH migliora la prognosi staturale<sup>13-15</sup>.

L'ormone della crescita risulta efficace anche sull'incremento di massa magra, sul trofismo muscolare, nel ridurre il rischio di ipoglicemia e sull'incremento di appetito (*Box 1*).

I fattori correlati alla risposta alla terapia sono l'età e l'altezza del bambino all'avvio (entrambi con rapporto inversamente proporzionale). Va sottolineato che i bambini 11p15 hanno valori di IGF1 basali più elevati rispetto al gruppo mUPD7 e ai bambini SGA. L'elevato valore di IGF1 nel gruppo 11p15 sembrerebbe correlato a una resistenza a IGF1.

### Età ossea e pubertà

Nei primi anni di vita è possibile osservare un ritardo dell'età ossea. Al contrario tra i 7-8 anni si può assistere a una accelerazione della velocità di crescita

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON SINDROMI ASSOCIATE A MICROCEFALIA**

Sindrome di Bloom OMIM #210900	Autosomica recessiva (AR) gene RECQL3 15q26 Naso prominente, teleangectasie, aree di ipo-/iperpigmentazione cutanea, rischio di tumori, deficit di Ig
Sindrome di Nijmegen OMIM #251260	AR gene NBS1 Microcefalia, rischio di tumori, naso lungo, orecchie grandi, mandibola sfuggente, macchie caffelatte, ipogonadismo, ipospadia
MOPDII ( <i>Osteodysplastic Primordial Dwarfism type II</i> ) OMIM #210720	AR gene PCNT Nanismo mesomelico, microcefalia, displasia ossea metafisaria, insulino-resistenza, voce nasale e acuta, anomalie dei vasi cerebrali, stenosi tracheale subglottica
Sindrome di Meier-Gorlin OMIM #224690, #613800, #613803, #613804, #613805	AR geni ORC1, ORC4, ORC6, CDT1, CDC6 Enfisema polmonare, aplasia patellare, ipoplasia mammaria, naso a becco, bocca piccola con labbra carnose
Mutazioni IGF1R OMIM #147370, #612626	Autosomica dominante (AD) gene IGF1R, 10q24.32 Petto scavato, dita corte, clinodattilia, ritardo motorio e del linguaggio, ansia/agitazione, livelli di IGF1 aumentati o normali, livelli di GH aumentati o normali

Tabella III

**DIAGNOSI DIFFERENZIALE CON SINDROMI CARATTERIZZATE DA SCARSA CRESCITA INTRAUTERINA/NATI PICCOLI PER ETÀ GESTAZIONALE ASSOCIATE A NORMO/MACROCEFALIA**

Sindrome 3M OMIM #273750, #612921, #614205	Autosomica recessiva (AR) geni CUL7, OBSL1, CCDC8 Sopracciglia folte, punta tonda del naso, filtro naso-labiale lungo, bocca e labbra sporgenti, deformità del petto, iperlordosi, displasia dell'anca, tallone prominente, addome globoso, collo corto e tozzo, deformità dello sterno e del torace
Nanismo di Mulibrey OMIM #253250	AR gene TRIM37 Scafocefalia, telecanto, radice del naso bassa, yellowish dots retina, voce acuta, epatomegalia, nevi flammei, displasia fibrosa ossea Caratteristiche radiologiche: ossa lunghe con corteccia spessa e canali midollari sottili, sella turcica a J
Sindrome SHORT OMIM #269880	Autosomica dominante (AD) gene PIK3R1 Cute sottile, secca e corrugata con aspetto vecchieggiante (progeroide), viso triangolare, fronte prominente, enoftalmo, naso con punta stretta e ali assottigliate, orecchie sporgenti, iperlassità, ernia inguinale, ipoacusia neurosensoriale, insulino-resistenza, nefrocalcinosi, lipodistrofia
Sindrome di Floating Harbor OMIM #136140	Sporadica o AD gene SRCAP Bocca sottile con filtro naso labiale corto e piatto, naso prominente, occhi infossati. Ritardo del linguaggio, ritardo significativo dell'età ossea, possibile associazione con angioma sulla glabella, celiachia, anomalie cardiache e genitourinarie

Tabella IV

e dell'età ossea, soprattutto nei bambini ipernutriti con SNG o gastrostomia. Lo sviluppo puberale avviene in genere in epoca fisiologica, anche se è possibile osservare una pubertà anticipata soprattutto nei soggetti mUPD<sup>16,17</sup>. **Un rapido incremento del BMI si associa a un rischio maggiore di pubarca precoce e di pubertà precoce.**

E in corso un *trial* clinico controllato volto a valutare l'efficacia dell'anastrazolo (inibitore dell'aromatasi di terza generazione) sul miglioramento della prognosi staturale nei soggetti con adrenarca precoce e avanzamento dell'età ossea. Il meccanismo di azione degli inibitori dell'aromatasi consiste nell'inibizione della conversione di androgeni in

**Box 1 - TERAPIA CON L'ORMONE DELLA CRESCITA**

- Al momento non esiste un'indicazione specifica per la patologia, ma vanno seguite le indicazioni per i bambini nati piccoli per l'età gestazionale con mancato *catch-up growth* (altezza inferiore/uguale a -2,5 SDS a 2-4 anni). Va presa in considerazione (richiesta alla Commissione regionale) la possibilità di avviare la terapia con ormone della crescita (GH) prima dei 2-4 anni in caso di severa malnutrizione o di ipoglicemia.
- La terapia, come riportato nel *Consensus*, va avviata alla dose di 0,035 mg - 0,060 mg/kg/die (in Italia la nota ALFA prevede una dose di 0,035 mg/kg/die) e andrebbe continuata fino al raggiungimento della statura definitiva.
- Non è necessario effettuare test da stimolo per valutare la secrezione GH prima di avviare la terapia.
- Valutare i livelli di IGF1 e IGFBP3 almeno 1 volta all'anno nei bambini in terapia con GH.

estrogeni, responsabili della chiusura delle cartilagini articolari. Al momento l'utilizzo di tali farmaci non è approvato in Italia per questa patologia<sup>1,18</sup>.

**Otorinolaringoiatria**

Le tube di Eustachio presentano una lunghezza inferiore alla norma. Tale anomalia anatomica pone a rischio di **otiti ricorrenti e di ipoacusia trasmissiva**. Circa il 36% dei pazienti necessita di un drenaggio timpanico per ridurre il rischio di infezioni (*Tabella V*)<sup>7</sup>. In circa il 15% dei casi è possibile osservare un'ipoacusia sia di tipo trasmissivo e/o neurosensoriale<sup>7</sup>.

Sono inoltre segnalati disturbi del sonno (russamenti, apnee). Nei soggetti con questi sintomi si consiglia di eseguire una valutazione otorinolaringoiatrica/polisonnografica<sup>19</sup>.

**Età adulta**

Alterazioni del metabolismo glucidico/lipidico e osseo sono segnalate in età adulta: ipercolesterolemia, diabete, obesità, osteopenia, insufficienza gonadica<sup>20</sup>.

**Aspetto cognitivo/scolastico**

Circa il 48% dei soggetti presenta disturbi del linguaggio<sup>21</sup>. Nei bambini con

## TRATTAMENTI MEDICI COMUNI IN SOGGETTI CON SINDROME DI SILVER-RUSSELL

Drenaggio timpanico	36%
SNG e/o gastrostomia	58%
Ciproptadina	62%
Ormone della crescita	88%
Nissen	19%
Piloroplastica	10%
Logopedia	68%
Terapia occupazionale o fisioterapia	76%

Tabella V. Da voce bibliografica 7, modificata.

## MESSAGGI CHIAVE

- Pensare sempre alla sindrome di Silver-Russell (SRS) nel bambino nato piccolo per età gestazionale con bassa statura, macrocefalia, asimmetria corporea, difficoltà di alimentazione.
- Assicurare un introito calorico adeguato all'età evitando un rapido ed eccessivo *catch-up growth*, che si associa ad accelerazione dell'età ossea.
- Prendere in considerazione l'avvio della terapia con GH in tutti i bambini con statura inferiore/uguale a -2,5 SDS a 2-4 anni o prima se in presenza di ipoglicemia/malnutrizione severa previa richiesta di autorizzazione alla Commissione regionale.
- Controllare lo sviluppo puberale per il rischio di pubertà precoce.
- Valutare il metabolismo glucidico, lipidico e la mineralizzazione ossea nell'adulto.

mUPD7 sono descritti casi di mioclonia, la cui patogenesi è correlata alla perdita del gene epsilon-sarcoglicano localizzato sul cromosoma 7q21<sup>22,23</sup>. Il ritardo motorio descritto in questi pazienti è dovuto alla disproporzione tra la testa grande e la scarsa massa muscolare, che rende difficili la deambulazione e un precoce controllo del capo. A ciò si aggiunge il fatto che la bassa statura fa sì che questi bambini vengano trattati come più piccoli dei coetanei e rende, almeno nei piccoli, pericolosa l'attività sportiva, tutti fattori che contribuiscono a un ritardo motorio.

Il palato ogivale stretto tende ad appiattare la tuba di Eustachio e causare

infezioni frequenti, con rischio di ipoacusia trasmissiva che contribuisce al ritardo del linguaggio. Una percentuale significativa presenta un'insufficienza velopalatina, altro fattore responsabile del ritardo del linguaggio<sup>7</sup>.

Altri fattori responsabili di un ritardo globale dello sviluppo nei soggetti con SRS sono:

- nei soggetti con mUPD7 la mancata espressione del gene FOXP2 espresso sul cromosoma paterno, coinvolto nella regolazione della prassia motoria e del linguaggio<sup>24</sup>.
- ipoglicemia; è nota l'esistenza di una stretta correlazione tra ipoglicemia severa e ritardo psicomotorio<sup>25</sup>.

**È importante eseguire una valutazione cognitiva in età prescolare in tutti i bambini, e in particolare nel gruppo mUPD7.**

### Oculistica

Alcuni studi recenti hanno segnalato alterazioni dell'acuità visiva, vizi refrattivi, microftalmia e ipoplasia del nervo ottico. È stato inoltre segnalato un aumentato rischio di anisometropia (differenza > 1 diottria tra i due occhi, con rischio elevato di ambliopia) e un'asimmetria di dimensione dei due dischi ottici, a indicare come l'asimmetria del viso possa essere parallela ad asimmetrie morfologiche dell'occhio<sup>26</sup>.

### Ortopedia

Dismetria degli arti, scoliosi e displasia dell'anca sono frequenti.

Eseguire valutazioni ortopediche periodiche nei bambini con questi problemi, soprattutto durante terapia con GH<sup>1,27</sup>.

### Aspetto maxillofacciale

Microdonzia, ritardo della dentizione, affollamento dentario, micrognazia, asimmetria del viso, palato stretto rendono spesso necessario l'intervento dello stomatologo/chirurgo maxillofacciale<sup>28</sup>.

### Altro

Un'ipersudorazione notturna è un sintomo comune in molti soggetti con SRS, così come la presenza di macchie

caffelatte. Vengono riportate, soprattutto nel gruppo 11p15, anomalie renali/genitourinarie (criptorchidismo, ipospadia, sindrome di Rokitansky) e cardiopatie congenite<sup>29</sup>.

## NON È TUTTO SILVER QUELLO CHE LUCCICA...

La diagnosi differenziale a volte è insidiosa e va posta con le sindromi elencate nelle *Tablelle III e IV*. Particolare attenzione va posta sulla sindromi caratterizzate da fragilità cromosomica (sindrome di Bloom, sindrome di Nijmegen), in cui la terapia con GH è controindicata<sup>1</sup>.

### Ringraziamenti

Si ringraziano i genitori del paziente per l'autorizzazione alla pubblicazione delle immagini, e *Luana Pennisi* e *Silvia Mariotti* della Associazione Italiana Sindrome di Silver-Russell (AISRS onlus).

### Indirizzo per corrispondenza:

Giuseppa Patti  
e-mail: [giusypattis@gmail.com](mailto:giusypattis@gmail.com)

### Bibliografia

1. Wakeling EL, Brioude F, Lokulo-Sodipe O, et al. Diagnosis and management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol* 2017;13(2):105-24.
2. Silver HK, Kiyasu W, George J, Deamer WC. Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature and elevated urinary gonadotropins. *Pediatrics* 1953;12(4):368-76.
3. Russell A. A syndrome of intra-uterine dwarfism recognizable at birth with cranio-facial dysostosis, disproportionately short arms, and other anomalies (5 examples). *Proc R Soc Med* 1954;47(12):1040-4.
4. Wakeling EL. Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child* 2011;96(12):1156-61.
5. Bartholdi D, Krajewska-Walasek M, Ounap K, et al. Epigenetic mutations of the imprinted IGF2-H19 domain in Silver-Russell syndrome (SRS): results from a large cohort of patients with SRS and SRS-like phenotypes. *J Med Genet* 2009;46:192-7.
6. Netchine I, Rossignol S, Dufourg MN, et al. 11p15 ICR1 imprinting center region 1 loss of methylation is a common and specific cause of typical Russel-Silver syndrome: clinical scoring system and epigenetic-phenotypic correlations. *J Clin Endocrinol Metab* 2007;92(8):3148-54.
7. Salem J, Harbison M, Netchine I. RSS/SGA - A comprehensive guide: understanding aspects of children diagnosed as having Rus-

- sell-Silver syndrome or born small-for-gestational-age. Chico, CA: Quadco Printing Inc, 2009.
8. Azzi S, Salem J, Thibaud N, et al. Prospective study validating a clinical scoring system and demonstrating phenotypical- genotypical correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 2015;52(7):446-53.
9. Dias RP, Nightingale P, Hardy C, et al. Comparison of the clinical scoring systems in Silver-Russell syndrome and development of modified diagnostic criteria to guide molecular genetic testing. *J Med Genet* 2013;50(9):635-9.
10. Russo S, Calzari L, Mussa A, et al. A multi-method approach to the molecular diagnosis of overt and borderline 11p15.5 defects underlying Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Clin Epigenetics* 2016;8:23.
11. Begemann M, Zirn B, Santen G et al. Paternally Inherited IGF2 Mutation and Growth Restriction. *N Engl J Med* 2015;373(4):349-56.
12. Abi Habib W, Brioude F, Edouard T, et al. Genetic disruption of the oncogenic HMGA2-PLAG1-IGF2 pathway causes fetal growth restriction. *Genet Med* 2017.
13. Toumba M, Albanese A, Azcona C, Stanhope R. Effect of long-term growth hormone treatment on final height of children with Russell-Silver syndrome. *Horm Res Paediatr* 2010;74(3):212-7.
14. Ranke MB, Lindberg A. Growth hormone treatment of short children born small for gestational age or with Silver-Russell syndrome: results from KIGS (Kabi International Growth Study), including the first report on final height. *Acta Paediatr Suppl* 1996;417:18-26.
15. Ranke MB, Lindberg A; KIGS International Board. Height at start, first-year growth response and cause of shortness at birth are major determinants of adult height outcomes of short children born small for gestational age and Silver-Russell syndrome treated with growth hormone: analysis of data from KIGS. *Horm Res Paediatr* 2010;74(4):259-66.
16. Boonstra V, van Pareden Y, Mulder P, et al. Puberty in growth hormone-treated children born small for gestational age (SGA). *J. Clin. Endocrinol. Metab* 2003;88:5753-8.
17. Vu-Hong TA, Rossignol S, Chivu O, Cabrol S, Netchine I. Aggressive adrenarache in Silver-Russell Syndrome compromises final height despite GH treatment. *Horm Res Paediatr* 2011;76(Suppl. 2):234.
18. Wit JM, Hero M, Nunez SB. Aromatase inhibitors in pediatrics. *Nat Rev Endocrinol* 2012; 8:135-47.
19. Giabicani E, Boule M, Galliani E, Netchine I. Sleep apneas in Silver Russell syndrome: a constant finding. *Horm Res Paediatr* 2015; 84(Suppl. 1):262.
20. Searle C, Johnson D. Russel-Silver syndrome: a historical note and comment on an older adult. *Am J Med Genet A* 2016;170A(2): 466-70.
21. Lai KY, Skuse D, Stanhope R, Hindmarsh P. Cognitive abilities associated with the Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child* 1994;71(6): 490-6.
22. Augustine EF, Blackburn J, Pellegrino JE, Miller R, Mink JW. Myoclonus-dystonia syndrome associated with Russell Silver syndrome. *Mov Disord* 2013;28(6):841-2.
23. Sheridan MB, Bytyci Telegrafi A, Stinnett V, et al. Myoclonus-dystonia and Silver-Russell syndrome resulting from maternal uniparental disomy of chromosome 7. *Clin Genet* 2013;84(4):368-72.
24. Feuk L1, Kalervo A, Lipsanen-Nyman M, et al. Absence of a paternally inherited FOXP2 gene in developmental verbal dyspraxia. *Am J Hum Genet* 2006;79(5):965-72.
25. Menni F, de Lonlay P, Sevin C. Neurologic outcomes of 90 neonates and infants with persistent hyperinsulinemic hypoglycemia. *Pediatrics* 2001;107(3):476-9.
26. Andersson Grönlund M, Dahlgren J, Aring E, Kraemer M, Hellström A. Ophthalmological findings in children and adolescents with Silver-Russell syndrome. *Br J Ophthalmol* 2011; 95(5):637-41.
27. Yamaguchi KT Jr, Salem JB, Myung KS, Romero AN Jr, Skaggs DL. Spinal deformity in Russell-Silver syndrome. *Spine Deform* 2015; 3(1):95-7.
28. Bergman A, Kjellberg H, Dahlgren J. Craniofacial morphology and dental age in children with Silver-Russell syndrome. *Orthod Craniofac Res* 2003;6(1):54-62.
29. Abraham MB, Carpenter K, Baynam GS, Mackay DJ, Price G, Choong CS. Report and review of described associations of Mayer-Rokitansky-Küster-Hauser syndrome and Silver-Russell syndrome. *J Paediatr Child Health* 2014 Nov 23 [Epub ahead of print].
-



## Capitolo 2: Storia Naturale e dati in età adulta

Il secondo capitolo viene introdotto dalla foto di alcuni dei nostri pazienti adulti, con la partecipazione dei quali abbiamo potuto realizzare l'articolo riportato di seguito sulle manifestazioni cliniche e il profilo metabolico in età adulta.



## Clinical Manifestations and Metabolic Outcomes of Seven Adults With Silver-Russell Syndrome

Giuseppa Patti,<sup>1</sup> Marta Giaccardi,<sup>1</sup> Valeria Capra,<sup>2</sup> Flavia Napoli,<sup>1</sup> Giuliana Cangemi,<sup>3</sup> Sara Notarnicola,<sup>1</sup> Sara Guzzetti,<sup>4</sup> Silvia Russo,<sup>4</sup> Mohamad Maghnie,<sup>1</sup> and Natascia Di Iorgi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Pediatrics, Istituto Giannina Gaslini, University of Genova, 16147 Genova, Italy;

<sup>2</sup>Department of Neurogenetics, Istituto Giannina Gaslini, 16147 Genova, Italy; <sup>3</sup>Department of Clinical Pathology Laboratory, Istituto Giannina Gaslini, 16147 Genova, Italy; and <sup>4</sup>Cytogenetic and Molecular Genetics Laboratory, Istituto Auxologico Italiano, 20135 Milano, Italy

**Context:** There is little information on the long-term natural history of Silver-Russell syndrome (SRS).

**Objective:** To describe the phenotypes and metabolic status in adults with SRS.

**Design:** Clinical and metabolic evaluations in adults with a molecular diagnosis of SRS.

**Participants:** Seven patients (aged 18 to 46 years; mean age, 26.9 years) were studied. Two had chromosome 7 maternal uniparental disomy, three had 11p15 loss of methylation, and two had 11p15 duplication.

**Setting:** Single tertiary university center.

**Main Outcome Measures:** Netchine-Harbison (NH) clinical score, oral glucose tolerance test, lipid profiles, bone mineral density (BMD; lumbar spine at L1 to L4 and total body), lean body mass (LBM), absolute fat mass (kg), fat mass percentage, fat mass index (FMI), and trunk/limb fat ratio were evaluated.

**Results:** The NH score declined in all but two patients during adulthood, and all patients but one displayed relative macrocephaly. Two patients were underweight, four patients had a normal body mass index, and one was obese. Two patients had glucose intolerance and hyperinsulinemia; two showed a high total cholesterol level with low high-density lipoprotein (HDL) cholesterol levels. BMD was within the normal range, whereas a high fat mass percentage, FMI, and trunk/limb fat ratio and a low LBM were found. The trunk/limb fat ratio showed an inverse relation with HDL cholesterol levels.

**Conclusions:** The diagnosis of SRS seems to be reliable in adults, although some clinical signs become less pronounced with age. Glucose, lipids, and body composition should be monitored over time.

(*J Clin Endocrinol Metab* 103: 2225–2233, 2018)

Silver-Russell syndrome (SRS) is a heterogeneous syndrome characterized by severe intrauterine and postnatal growth retardation and typical dysmorphic features; it has an incidence between 1 in 70,000 and 1 in 100,000 live births (1). The most common genetic

abnormalities are 11p15 ICR1 loss of methylation (11p15, LOM) and maternal uniparental disomy of chromosome 7 (mUPD7), which occur in 30% to 60% and 5% to 10% of cases, respectively (2); single cases carry other chromosome abnormalities, including duplications

ISSN Print 0021-972X ISSN Online 1945-7197

Printed in USA

Copyright © 2018 Endocrine Society

Received 3 December 2017. Accepted 7 March 2018.

First Published Online 13 March 2018

Abbreviations: BMD, bone mineral density; BMI, body mass index; DXA, dual-energy x-ray absorptiometry; ELISA, enzyme-linked immunosorbent assay; FMI, fat mass index; GH, growth hormone; HDL, high-density lipoprotein; IUGR, intrauterine growth restriction; LBM, lean body mass; LMI, lean mass index; LOM, loss of methylation; NH, Netchine-Harbison; SD, standard deviation; SGA, small for gestational age; SRS, Silver-Russell syndrome.



of maternal 11p15 material (3, 4). In a substantial proportion of patients (40%), the molecular cause remains unknown, and SRS remains primarily a clinical diagnosis based on the Netchine-Harbisson (NH) scoring system (2, 5). Indeed, a targeted next-generation sequencing approach in patients referred for SRS testing increases the mutation rate as well as other diagnoses overlapping SRS (6–9).

The management of children with SRS requires a multidisciplinary approach. Specific issues include body asymmetry, failure to thrive and growth failure, severe feeding difficulties, gastrointestinal problems, hypoglycemia, motor and speech delay, and psychosocial challenges (2). Indeed, there is little information on the long-term natural history of SRS, changes in clinical phenotype, and metabolic consequences in adulthood (10–13). On the other hand, it is well recognized that being small for gestational age (SGA) at birth increases the risk for metabolic concerns in adulthood (12, 14). Hypertension, dilated cardiomyopathy, and type 2 diabetes mellitus have been reported in a few cases (10–13).

Here, we report the phenotypes and the metabolic assessment of seven adult Italian patients with a clinical diagnosis of SRS, confirmed by molecular genetic analysis.

## Methods

The study group comprised seven patients with a mean age [ $\pm$  standard deviation (SD)] of  $26.9 \pm 9.1$  years (range, 18 to 46 years) who were voluntarily recruited by the Italian Association of Silver Russell Syndrome (AISRS Onlus).

Birth data were obtained from available hospital records. Clinical score was evaluated according to the NH scoring system (2). According to the latter, macrocephaly was defined as an occipital-frontal circumference  $\geq 1.5$  SD above weight and/or height (2, 5). Each patient was examined by the same two pediatric endocrinologists (G.P. and N.D.) with experience in the field of SRS. Height was measured to the nearest 0.1 cm (Harpender stadiometer), weight to the nearest 0.1 kg (TANITA Corporation, Tokyo, Japan). Waist circumference was evaluated midway between the lower margin of the lowest rib and the upper margin of the iliac crest at the end of a normal expiration. A standard 2-hour oral glucose tolerance test was administered by using a 1.75-g/kg glucose load. Bone mineral density (BMD; lumbar spine at L1 to L4, total body, femoral neck), lean body mass (LBM, in kg), and fat body mass expressed as percentage, fat mass index (FMI, in  $\text{kg}/\text{m}^2$ ) and trunk fat/limb fat ratio were measured by dual-energy x-ray absorptiometry (DXA; Lunar Prodigy, version 13, GE Healthcare, Madison, WI). Quality control was performed daily. Data for body composition were compared with published normative data (15, 16).

To compare our patients with short healthy controls, we examined the body composition data for the shortest healthy young adults (six males and five females; mean age, 17 years) available in our DXA institutional database (mean height,  $151.6 \pm 3.3$  cm in females and  $159.8 \pm 2.4$  cm in males).

After 15 minutes of rest, diastolic and systolic blood pressure were measured in the sitting position, using the nondominant arm, with an automatic device (Carescape, Dinamap technology Vital Signs 100, GE Healthcare). Fasting levels of total cholesterol, high-density lipoprotein (HDL) cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol, and triglycerides were measured by using a homogeneous enzymatic colorimetric assay (Roche, Milan, Italy). Bone-specific alkaline phosphatase cross-linked carboxy-terminal telopeptide of type 1 collagen were analyzed by using two enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits (METRA BAP ELISA kit; Quidel Corp., San Diego, CA) and (Serum Crosslaps; Immunodiagnosics System, Frankfurt, Germany) both automated on a DSX automated ELISA processing system (Dynex Technologies; Technogenetics, Milan, Italy). Vitamin 25(OH) D (ng/mL) and parathyroid hormone (pg/mL) were determined by using chemiluminescence (Roche); adiponectin (ng/dL) was measured by using an ELISA kit (total human adiponectin ELISA; Teco Medical Group, Sissach, Switzerland) on a DSX automated ELISA processing system (Dynex Technologies; Technogenetics). Hormonal parameters were evaluated by chemiluminescent assay (Roche). Criteria for metabolic syndrome were defined according to the National Cholesterol Education Program (17) in presence of at least three of the following risk factors: waist circumference  $\geq 88$  cm in women and  $\geq 102$  cm in men; triglycerides  $\geq 150$  mg/dL; HDL cholesterol  $< 50$  mg/dL in women and  $< 40$  mg/dL in men; fasting glucose  $\geq 100$  mg/dL; systolic blood pressure  $\geq 130$  mm Hg or diastolic blood pressure  $\geq 85$  mm Hg.

Written informed consent was obtained from all participants, and permission was authorized for the publication of their photographs.

## Patients

### Patient 1

This female patient was born to healthy parents and was normally delivered at 39 weeks of gestation. Birth weight was 2500 g ( $-1.76$  SD) (18), length was 46 cm ( $-1.77$  SD), and occipito-frontal circumference was 35 cm ( $+0.96$  SD). Because of growth impairment, feeding difficulty, and poor weight gain with distinctive craniofacial features (Fig. 1), SRS was hypothesized at the age of 3 months. Molecular analysis revealed mUPD7. Her development was normal, and she met all developmental milestones at the appropriate times. During childhood, she had a dental brace tailored because of crowded teeth, and she experienced tics during school age. Because her height was always above  $-2.5$  SD (19) ( $-2.1$  SD from 2 to 6 years and  $-1.9$  from 7 to 9 years according to available measurements obtained from clinical records), no growth hormone (GH) therapy was started. She experienced menarche at 13 years of age, with a subsequently regular menstrual cycle.

At age 21 years, she is a medical student, has a good social life, and practices ballet three times a week. Last examination revealed a weight of 38.4 kg, height of 153.7 cm ( $-1.4$  SD), body mass index (BMI) of  $16.3 \text{ kg}/\text{m}^2$  ( $-2.8$  SD), and an occipital-frontal circumference of



**Figure 1.** Patient 1 at ages (a) 1 y, (b) 2 y, and (c) 16 y. Note that the clinical manifestations are less obvious with age.

53.5 cm ( $-0.5$  SD), with a relative macrocephaly (Table 1). A slightly triangular face and a prominent forehead were evident; she has micrognathia and comparatively large teeth. She also has clinodactyly of her fifth finger and wears glasses owing to myopia.

### Patient 2

This male patient was a second child, born after 38 weeks of gestation via vaginal delivery. His birth weight was 2000 g

( $-3.0$  SD), birth length was 43 cm ( $-3.15$  SD), and occipital-frontal circumference was 33 cm ( $-1.2$  SD).

He displayed failure to thrive and feeding difficulties since the first months of life, leading to nutritional support via a nasogastric tube until age 8 years. At age 2 years, he had an episode of symptomatic fasting hypoglycemia. He had a mild motor delay and was not able to walk alone until 2.5 years of age.

His cognitive development was good, and he never had any difficulties at school. He obtained a diploma as a qualified accountant. He has a busy social life, enjoys relatively good health, and works as a municipal employee. At the last evaluation, at 27 years of age, his height was 150.9 cm ( $-3.6$  SD)—with a sitting height of 82.8 cm ( $-3.2$  SD) and a sitting height/height ratio of 0.54 ( $+2$  SD) (20)—and his weight was 43.3 kg, with a BMI of 18.9 kg/m<sup>2</sup> ( $-2$  SD). The clinical examination documented relative macrocephaly, with a

**Table 1. Clinical Characteristics and Body Composition of Seven Adults With SRS**

Characteristic	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
Age, y	21	26	25	46	29	18	23
Molecular findings	mUPD7	mUPD7	11p15 LOM	11p15 LOM	11p15 LOM	11 duplication	11 duplication
Sex	Female	Male	Female	Female	Female	Male	Female
Gestational age, wk	39	38	39	41	40	31	32
Birth weight SD	$-1.8$	$-3$	$-3.2$	$-2.7$	$-3.5$	$-3$	$-2.2$
Birth length SD	$-1.77$	$-3.15$	$-4.2$	Unknown	$-4.6$	Unknown	Unknown
Height, cm	153.7	150.9	137.5	149.5	136.7	141.2	145.3
Height SD	$-1.4$	$-3.6$	$-4.1$	$-2.1$	$-4.3$	$-5$	$-2.8$
SH SD	$-1.8$	$-3.2$	$-4.2$	$-2.6$	$-4.2$	$-4.6$	$-2.9$
SH/H	0.53	0.54	0.54	0.53	0.55	0.55	0.54
Occipito-frontal circumference SD	$-0.5$	2.3	$-1.2$	$-0.5$	0.5	1.4	$-1.9$
BMI SD	$-2.8$	$-2$	2.5	0.3	$-1.7$	0	$-0.6$
Fat mass, kg	9.5	12.8	33.1	22.3	10.7	15.1	17.5
Fat mass, % <sup>a</sup>	26	31	55.1	45.7	31	36.6	41.5
FM, kg/m <sup>2b</sup>	4	5.6	17.4	10	5.7	7.6	8.5
Trunk fat, g	3588	7515	15,466	8929	4401	7841	8231
Limb fat, g	14,356	4340	16,900	12,700	5642	6446	8593
Trunk/limb fat ratio <sup>c</sup>	0.24	1.73	0.91	0.7	0.78	1.2	0.95
Lean mass, kg <sup>d</sup>	27	28.5	26.3	26.6	21.7	26.2	24.6
BMD							
L1–L4 Z-score	1.2	0.7	0.7	$-0.9$	1.1	$-2$	0.1
L1–L4, g/cm <sup>2</sup>	1.234	1.191	1.261	0.980	1.185	0.943	1.131
TB Z-score	1	$-0.1$	1	$-0.5$	1.5	$-1.8$	0.1
TB, g/cm <sup>2</sup>	1.060	1.036	1.261	0.872	1.093	0.981	1.053
Left hip Z-score	1.1	0.6	1.6	$-0.5$	$-0.4$		0.7
Left hip, g/cm <sup>2</sup>	1.060	1.074	1.179	0.872	0.865		1.020

Abbreviations: FM, fat mass; H, height; SH, sitting height; TB, total body.

<sup>a</sup>Mean value of fat mass percentage calculated according to Imboden *et al.* (15): women: age 20–29 y, 31.4%  $\pm$  8.5%; age 40–49 y, 39.2  $\pm$  9.7; men: age 20–29 y, 21.1  $\pm$  8.3.

<sup>b</sup>Mean FMI value according to Imboden *et al.* (16): women: age 20–29 y, 7.6  $\pm$  3.6 kg/m<sup>2</sup>; age 40–49 y, 11  $\pm$  5.1 kg/m<sup>2</sup>; men: age 20–29 y, 5.6  $\pm$  3 kg/m<sup>2</sup>.

<sup>c</sup>Mean value of trunk/limb ratio calculated according to Imboden *et al.* (15): women: age 20–29 y, 0.96  $\pm$  0.25; age 40–49 y, 1.12  $\pm$  0.39; men: age 20–29 y, 1.24  $\pm$  0.29.

<sup>d</sup>Mean lean mass calculated according to Imboden *et al.* (16): women: age 20–29 y, 43  $\pm$  6.1 kg; age 40–49 y, 42.9  $\pm$  7 kg; men: age 20–29 y, 65  $\pm$  11 kg.

head occipital-frontal circumference of 57.3 cm (+2.3 SD). He had normal pubertal development with a bilateral testicular volume of 15 mL. He also had clinodactyly of the fifth finger, and no body asymmetry was observed. He has experienced excessive sweating since the first months of life. Molecular tests revealed mUPD7.

### Patient 3

This female patient was born at 39 weeks of gestation. Her birth weight was 1850 g (−3.2 SD), birth length was 40 cm (−4.2 SD), and occipital-frontal circumference was 34 cm (+0.12 SD), with relative macrocephaly. In her first years of life, she displayed feeding difficulties and failure to thrive. From age 6 years onward, however, she has been overweight. She had menarche at age 11 years, followed by regular menses. She also displayed chronic otitis media in childhood and cholesteatoma in the left ear at age 14 years.

At last evaluation at age 25 years, her height was 137.5 cm (−4.1 SD), sitting height was 74.7 cm (−4.2 SD)—with a sitting height/height ratio of 0.54 (+1 SD)—and weight was 61 kg, with a BMI of 32.3 kg/m<sup>2</sup> (+2.5 SD). She also had relative macrocephaly, with an occipital-frontal circumference of 52.5 cm (−1.2 SD), fifth-finger clinodactyly, and body asymmetry (leg length discrepancy of 1.5 cm; arm and facial asymmetry). Her facial appearance is shown in Fig. 2. Her neuropsychological development was normal, and she recently graduated as a social worker. Molecular tests were performed at age 24 years and showed 11p15 LOM.

### Patient 4

After an uncomplicated pregnancy, this female patient was born in 1970 after 41 weeks of gestation by natural delivery and had a birth weight of 2300 g (−2.7 SD). Data on length and occipito-frontal circumference, as well as on clinical outcome at birth, are lacking. However, her parents reported that she was born SGA in terms of both weight and length and had relative macrocephaly.

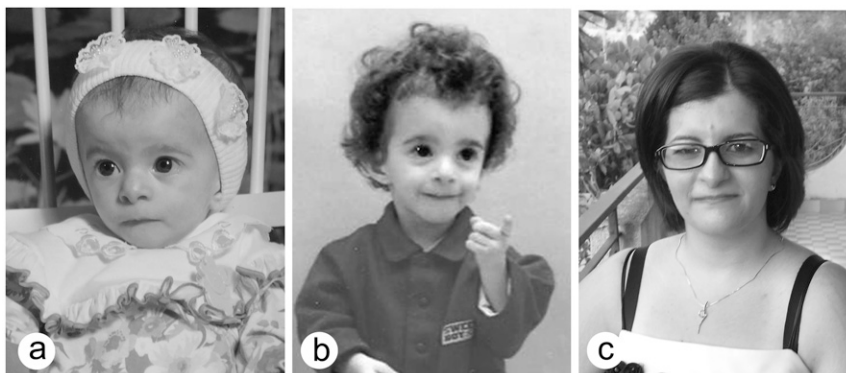


Figure 2. Patient 3 at ages (a) 1 y, (b) 2 y, and (c) 24 y.

In the first months of life, she had feeding difficulties and failure to thrive. Her cognitive development was normal. As a child, she enjoyed relatively good health. Since leaving school, she has worked as a post office employee. At age 40 years, she had a son, who is currently 6 years old and in good health. Her pregnancy was characterized by cervical incompetence. She experienced menopause at age 44 years. The patient has experienced significant dental overcrowding and misalignment, requiring orthodontic treatment and multiple tooth extractions. Methylation study revealed 11p15 LOM.

At the time of examination, the patient was 46 years old and 149.5 cm tall (−2.1 SD). Her BMI was 23 kg/m<sup>2</sup> (+0.3 SD), and her occipito-frontal circumference was 53.5 cm (−0.5 SD) (Table 1). She had leg length and arm asymmetry. She reports eating normalized adult portions and having difficulty maintaining her weight.

### Patient 5

This female patient was born to healthy non-consanguineous parents at 40 weeks of gestational age. Her birth weight was 1850 g (−3.5 SD), her birth length was 40 cm (−4.6 SD), and relative macrocephaly was documented at birth. Poor fetal growth was first noted in the 30th week of gestation.

She had severe feeding difficulties during the first years of life. However, a nasogastric tube for feeding was not inserted. Because of her short stature, GH therapy was started when she was age 7 years and was continued until she was age 9 years. She experienced precocious puberty with menarche at age 9 years, and gonadotropin-releasing hormone analog treatment was performed from age 9 to 10 years.

She had significant dental overcrowding and misalignment, which led to orthodontic treatment and multiple teeth extractions. Micrognathia was also pronounced. She graduated with a degree in sports science and is now working in a call center as an operator. She had a miscarriage at 10 weeks of pregnancy at age 29 years. Molecular analysis performed at age 24 years showed 11p15 LOM.

At the last evaluation, at age 29 years, her height was 136.7 cm (−4.3 SD), her BMI was 18.2 kg/m<sup>2</sup> (−1.7 SD), she had persistent relative macrocephaly, and her head circumference was +0.5 SD (Table 1). She had leg length, foot, and facial asymmetry.

### Patient 6

This male patient was prematurely born at the 31st gestational week via

cesarean delivery due to intrauterine growth restriction (IUGR), oligohydramnios, and fetal distress. At birth, he was SGA and displayed relative macrocephaly and the typical clinical manifestations of SRS, including a prominent forehead, a triangular face, low-set ears, and fifth-digit clinodactyly. No body asymmetry was observed. Developmental milestones were delayed (he walked at 2.5 years of age and pronounced his first words at 3 years of age). Molecular analysis showed a maternally inherited duplication of chromosome 11p15. GH therapy was started at age 7 years and was withdrawn at age 11 years because of glucose intolerance. He currently displays selective mutism and mild cognitive delay, and he is assisted by a teaching-support specialist. On last physical examination at age 18 years, his height was 141.2 cm ( $-5$  SD), weight was 42.5 kg, BMI was 21.3 kg/m<sup>2</sup> (0 SD), and occipito-frontal circumference was 56.5 cm (+1.4 SD) (Table 1). He wears glasses because of astigmatism.

### Patient 7

This female patient was born prematurely (at 32 weeks of gestational age) by cesarean delivery. Her birth weight was 950 g ( $-2.2$  SD). Although her birth length and occipito-frontal circumference were not available, a measurement compatible with macrocephaly was reported at ages 1 to 3 years. She had menarche at age 11 years, followed by regular menses.

She has an ectopic kidney, incidentally detected by abdominal ultrasonography. She has had two pregnancies characterized by cervical incompetence: In the 28th week of her first pregnancy, she delivered a still-born baby; in her second pregnancy she delivered in the

24th week, and the baby died after a few hours. Molecular tests performed in adulthood revealed a duplication of chromosome 11. Current examination, at age 23 years, revealed a weight of 43.5 kg, height of 145.3 cm ( $-2.8$  SD), BMI of 20.6 kg/m<sup>2</sup> ( $-0.6$  SD), and an occipito-frontal circumference of 51.5 cm ( $-1.9$  SD) (Table 1).

## Results

### NH clinical score

The clinical diagnosis was confirmed by molecular genetic analysis: three patients had 11p15 LOM, two had mUPD7, and two had 11p15 duplication.

Clinical characteristics and body composition of the patients are listed in Table 1. All patients but one were born SGA (mean birth weight,  $-2.76$  SD  $\pm$  0.6; mean birth length,  $-3.43$  SD  $\pm$  1.2). Body asymmetry was found in patients with 11p15 LOM (patients 3, 4, and 5) (Table 2).

At the time of diagnosis, all patients showed typical facial features of SRS: frontal bosses, relative macrocephaly, triangular facies, and micrognathia. Mean adult height was  $-3.3$  SD  $\pm$  1.2, and only two patients (patients 5 and 6) received short-term GH therapy. One patient (patient 5) developed precocious puberty. Two women (patients 4 and 7) who had a pregnancy had cervical incompetence requiring cerclage. The NH clinical score declined in all but two of the seven patients during adulthood (Table 2). Two patients (patients 1 and 2), both mUPD7, were still underweight, four patients had a normal BMI, and one was obese; patient 6 had a cognitive delay. All patients but one displayed relative macrocephaly in adulthood.

**Table 2. Childhood and Adulthood NH Scores and Molecular Findings in Seven Patients With SRS**

Variable <sup>a</sup>	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
NH score in childhood							
SGA		X	X	X	X	X	X
Postnatal growth failure	X	X	X	X	X	X	X
Relative macrocephaly at birth	X	X	X	X	X	X	X
Protruding forehead	X	X	X	X	X	X	X
Body asymmetry			X	X	X		
Feeding difficulties and/or low BMI	X	X	X	X	X	X	X
Total (n)	4	5	6	6	6	5	5
NH score in adulthood							
SGA		X	X	X	X	X	X
Postnatal growth failure	X	X	X	X	X	X	X
Relative macrocephaly at birth	X	X	X	X	X	X	X
Protruding forehead	X	X	X	X	X	X	X
Body asymmetry			X	X	X		
Feeding difficulties and/or low BMI	X	X					
Total (n)	4	5	5	5	5	4	4
Molecular findings	mUPD7	mUPD7	11p15 LOM	11p15 LOM	11p15 LOM	11 duplication	11 duplication

<sup>a</sup>(1) SGA: birth weight and/or birth length  $\leq -2$  SD, (2) postnatal growth failure, (3) relative macrocephaly at birth (head circumference  $\geq 1.5$  SD for birth weight and length), (4) protruding forehead, (5) body asymmetry, (6) feeding difficulties and/or low BMI ( $\leq -2$  SD).

### Metabolic and body composition findings

Oral glucose tolerance testing showed glucose intolerance and hyperinsulinemia in two patients (Table 3). Two patients (patients 2 and 4) showed high total cholesterol levels with low HDL cholesterol levels. The obese patient (patient 3) had high waist/hip and waist/height ratios (21, 22). All patients showed normal triglyceride levels and blood pressure (23) (Table 4). None of our patients satisfied the criteria for metabolic syndrome. Bone turnover markers and calciotropic hormonal parameters (vitamin D, parathyroid hormone) are listed in Supplemental Table 1. Type 1 collagen values were higher in males compared with the reference values. BMD was within the normal range (mean Z-score for L1 to L4,  $0.1 \pm 1.2$ ; mean Z-score for total body,  $0.44 \pm 0.9$ ). A high body fat mass percentage (mean,  $38.2\% \pm 10.2\%$ ; range, 26% to 55.7%), FMI (mean,  $8.37 \pm 4.47 \text{ kg/m}^2$ ; range, 4.0 to  $17.48 \text{ kg/m}^2$ ), and trunk/limb fat ratio (mean,  $0.93 \pm 0.45$ ; range, 0.24 to 1.73) and a low LBM (mean,  $25.84 \pm 2.16 \text{ kg}$ ; range, 21.7 to 28.5 kg) were found in comparison with published references in healthy adults (15, 16) (Table 1). The trunk/limb fat ratio did not correlate with different measures of adiposity (BMI SD, FMI, fat body mass percentage); however, it showed an inverse relation with HDL cholesterol levels ( $r = -0.78$ ;  $P = 0.036$ ) and a trend toward a direct relation with glucose  $120'$  ( $r = 0.67$ ;  $P = 0.11$ ).

FMI was significantly higher in patients ( $P = 0.004$ ) than in short healthy controls ( $9.1 \pm 5.2 \text{ kg/m}^2$  vs.  $6.0 \pm 0.6 \text{ kg/m}^2$  in females, respectively;  $6.6 \pm 1.4 \text{ kg/m}^2$  vs.  $4.5 \pm 1.4 \text{ kg/m}^2$  in males, respectively). In addition, the patients with SRS showed mean trunk fat significantly higher than that in healthy controls:  $8.1 \pm 4.7 \text{ kg}$  vs.  $6.0 \pm 0.5 \text{ kg}$  in females, respectively, and  $7.7 \pm 0.2 \text{ kg}$  vs.  $5.5 \pm 1.9 \text{ kg}$  in males, respectively. The latter findings suggest that both female and male patients with SRS have almost 2 kg more trunk fat than do controls. This represents a further 35% of the truncal fat mass in female patients with SRS and 41% more in male patients with

SRS compared with controls. Lean mass index (LMI) showed a trend toward lower values in patients with SRS ( $P = 0.07$ ), with an LMI of  $12.0 \pm 1.0 \text{ kg/m}^2$  in female patients with SRS compared with  $12.2 \pm 0.5 \text{ kg/m}^2$  in controls and LMI of  $12.7 \pm 0.5 \text{ kg/m}^2$  in male patients with SRS with  $14.9 \pm 1.5 \text{ kg/m}^2$  in controls.

### Discussion

Few long-term follow-up studies have been conducted in patients with SRS, and the clinical phenotype as well as the metabolic outcomes of this condition during adulthood remain to be defined (12, 24). Although several studies have shown that children who are SGA at birth are prone to later development of metabolic disorders, including insulin resistance and diabetes, hypercholesterolemia, and cardiovascular diseases (14, 25), little has been reported in patients with SRS, who are generally born SGA and as having IUGR. Here, we report the clinical features and the metabolic profiles of seven adult patients with a molecular diagnosis of SRS, re-evaluated at a mean age of  $26.9 \pm 9.1$  years.

The diagnosis of SRS at birth or during childhood could be straightforward based on validated clinical criteria (5), recently highlighted by the first international consensus statement (2). Nevertheless, SRS is a heterogeneous condition, and its differential diagnosis could be a challenge already in children presenting with IUGR, in which the underlying molecular abnormalities could not be confirmed (2, 6, 7, 9), or in those born appropriate for gestational age with mUPD7 (26, 27). Therefore, the diagnosis of missed SRS or SRS-like conditions may be even more difficult in adults.

Because the criteria and scores for the diagnosis of SRS were validated for patients aged 1.05 to 20.06 years, with a mean age of 6.61 years (5), we asked whether the clinical characteristics of these patients could be maintained over time and specifically after age 20 years. It is

**Table 3. Glucose Metabolism in Seven Adults With SRS**

Variable	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
Glucose, mmol/L							
T 0 min	4.5	4.4	5.4	4.8	4.8	5.3	5.4
T 30	7.0	7.5	7.4	6.5	6.9	11.2	8.1
T 60 min	7.5	7.1	9.4	4.8	4.7	11.5	6
T 90 min	6.4	7.4	9.6	4.5	6.7	9.3	6.1
T 120 min	5.6	8.4	7.7	3.8	4.8	9.4	7.5
Insulin, $\mu\text{U/mL}$							
T 0 min	9.2	5.9	13.4	4.3	6.0	20.5	12.2
T 30 min	52.8	75.6	11.6	139.2	76.2	304.7	100.5
T 60 min	55.0	91.8	22.2	85.4	42.0	314.7	56.8
T 90 min	50.8	86.6	68.9	22.3	87.1	211.3	32.7
T 120 min	63.7	125.8	52.2	16.0	52.3	296.3	74.4

Abbreviation: T, time.

**Table 4. Blood Pressure, Waist and Hip Circumferences, and Lipid Profiles in Seven Adults With SRS**

Variable	Normal Ranges	Patient 1	Patient 2	Patient 3	Patient 4	Patient 5	Patient 6	Patient 7
TC, mmol/L	<5.17	4.37	5.92	4.29	5.61	5.14	4.13	4.75
HDL cholesterol, mmol/L	1.68–2.58	2.27	1.03	2.14	1.52	1.71	1.24	1.19
LDL cholesterol, mmol/L	Optimal value < 2.58 Intermediate risk > 3.88 High risk > 4.91	1.86	4.39	1.81	3.62	3.05	2.43	2.97
Triglycerides, mmol/L	0.78–4.13	1.16	1.76	1.55	1.11	1.47	1.58	1.63
Waist circumference, cm	≤88 in women ≤102 in men	59	73	83	73	62	72	65
Hip circumference, cm		89	81	110	101	78	82	88
Waist/hip circumference ratio	<0.95 in men <0.8 in women	0.66	0.9	0.75	0.72	0.79	0.87	0.73
Waist circumference/height ratio	<0.58	0.38	0.48	0.6	0.48	0.45	0.5	0.44
SBP, mm Hg	≤135	101	109	125	113	115		101
DBP, mm Hg	≤85	65	63	83	78	66		57

Abbreviations: DBP, diastolic blood pressure; LDL, low-density lipoprotein; SBP, systolic blood pressure; TC, total cholesterol.

worth pointing out, however, that the clinical features of relative macrocephaly, protruding forehead (although less pronounced), and body asymmetry were maintained after 20 years, suggesting that their identification in an adult born SGA or with IUGR with an adult height of less than  $-2$  SD should prompt physicians to consider a missed diagnosis of SRS during childhood.

In adults suspected of having SRS, it is also advisable to check for early-childhood photographs. Indeed, feeding difficulties and low BMI did not appear to be typical features of adults with SRS but were consistently present during the first year of life. However, the BMI of most of these patients remained between  $-2.8$  to  $0$  SD, except for one patient with severe obesity, who showed high waist/hip and waist/height ratios, risk factors for cardiovascular disease (21, 22). It is known that patients born SGA are at risk for insulin resistance and cardiovascular disease, which seems to be related to the rate of weight gain occurring during the first years of life and to the adverse prenatal metabolic environment (25, 28). In addition to adult weight, weight catch-up growth during childhood is a strong determinant of body composition, and patients with SGA and catch-up growth have been reported to have significantly higher fat mass percentage % and lower LBM than controls (28). Our patients displayed a low LBM and a high fat mass percentage, FMI, trunk fat percentage, and trunk fat/limb ratio (the latter being a surrogate of central adiposity) compared with a small group of short controls, suggesting that patients with SRS have an abnormal body composition. Thus, total and visceral fat mass should be adequately defined in patients with SRS as compared with healthy controls (15, 16), where BMI and waist circumference are commonly included in the definition of the cardiovascular risk profile (17, 29), and raise the question about the role of DXA values in the assessment of the cardiovascular risks in adults with SRS.

To our knowledge, there are only two case reports and one long-term study addressing metabolic health in SRS (10–12). In particular, a 69-year-old man originally reported by Russell in 1953, is the oldest patient with SRS ever reported (11, 30). The patient enjoyed a relatively good life, was married, and had a daughter. He had hypercholesterolemia, developed type 2 diabetes mellitus at age 56 years, and developed osteopenia and hypogonadotropic hypogonadism later in life (11). Takenouchi *et al.* (10) described three young adults with SRS (early 20s) with 11p15 LOM who developed type 2 diabetes, hyperlipidemia, and hypertension, respectively. In addition, the recent long-term study available on metabolic status of patients with SRS showed no metabolic differences between patients treated with GH and SGA patients without SRS before, during, and through 2 years after the discontinuation of GH; none of the patients with SRS developed diabetes or metabolic syndrome at the mean age of 18 years (12).

Our findings of glucose intolerance and hyperinsulinemia in two patients at ages 18 and 27 years, respectively, suggests that these patients can develop early abnormalities in glucose metabolism. In addition, although glucose intolerance and hypercholesterolemia were found to be independent of BMI, FMI, total percentage body fat, and molecular findings, both HDL cholesterol level and glucose intolerance were related to the trunk/limb fat ratio. Regarding BMD, DXA examination of these adults with SRS, performed for the first time at three skeletal sites (spine, femur, and total body), showed normal bone mineralization. These findings deserve further follow-up because DXA technique may underestimate bone mass in short/small persons. Hence, limitations of our study include the small number of patients and their relatively young age.

In conclusion, the recognition of SRS features after achievement of adult height is crucial for the identification of patients with classical phenotype in order to



establish a real prevalence of this rare condition; it is essential for genetic counseling, and it enables these patients to benefit from the early management of their metabolic complications. Although the scoring system for the diagnosis of SRS has been validated for children and adolescents, the diagnosis of SRS seems to also be reliable in adults; however, some clinical signs may become less pronounced with age, suggesting the need for further validation. The increase in central adiposity detected by DXA deserves further studies, and long-term follow-up in a larger number of patients with SRS is mandatory to understand the natural history of this disease and improve the management of these patients.

## Acknowledgments

We thank Luana Pennisi, Silvia Mariotti, and Margherita Scola from the Italian Association of Families with Silver-Russell Syndrome (AISRS Onlus) for their great support, and all patients and their families. We also thank our nurse staff for their daily commitments in the care of patients with SRS and other endocrine conditions.

**Financial Support:** Ministero Dell'Istruzione, dell'Università e della Ricerca, PRIN 2015, number 2015JHLY35

**Author Contributions:** G.P. designed the study, examined the clinical phenotypes of the patients, takes care of patient follow-up, collected the data, and drafted and revised the manuscript; M.G. helped in evaluating the clinical phenotypes of the patients; V.C. performed genetic counseling; F.N. reviewed and revised the manuscript; G.C. performed laboratory tests and participated in drafting the manuscript; S.N. helped in data collection; S.G. and S.R. performed molecular analysis and genetic counseling; M.M. designed the study, examined the clinical phenotypes of the patients, and reviewed and revised the manuscript; N.D. performed body composition assessment and data analysis and reviewed and revised the manuscript.

**Correspondence and Reprint Requests:** Giuseppa Patti, MD, Department of Pediatrics, Istituto Giannina Gaslini, Largo Gerolamo Gaslini, 16100 Genova, Italy. E-mail: [giusypattis@gmail.com](mailto:giusypattis@gmail.com); or Mohamad Maghnie, MD, Department of Pediatrics, Istituto Giannina Gaslini, Via Gerolamo Gaslini 5, 16147 Genova, Italy. E-mail: [mohamadmaghnie@gaslini.org](mailto:mohamadmaghnie@gaslini.org) or [Mohamad.Maghnie@unige.it](mailto:Mohamad.Maghnie@unige.it).

**Disclosure Summary:** The authors have nothing to disclose.

## References

1. Wakeling EL. Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child*. 2011;96(12):1156–1161.
2. Wakeling EL, Brioude F, Lokulo-Sodipe O, O'Connell SM, Salem J, Blik J, Canton AP, Chrzanowska KH, Davies JH, Dias RP, Dubern B, Elbracht M, Giabicani E, Grimberg A, Grønskov K, Hokken-Koelega AC, Jorge AA, Kagami M, Linglart A, Maghnie M, Mohnike K, Monk D, Moore GE, Murray PG, Ogata T, Petit IO, Russo S, Said E, Toumba M, Tümer Z, Binder G, Eggermann T, Harbison MD, Temple IK, Mackay DJ, Netchine I. Diagnosis and

management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(2):105–124.

3. Eggermann T, Spengler S, Bachmann N, Baudis M, Mau-Holzmann UA, Singer S, Rossier E. Chromosome 11p15 duplication in Silver-Russell syndrome due to a maternally inherited translocation t(11;15). *Am J Med Genet A*. 2010;152A(6):1484–1487.
4. Vals MA, Kahre T, Mee P, Muru K, Kallas E, Žilina O, Tillmann V, Öunap K. Familial 1.3-Mb 11p15.5p15.4 Duplication in three generations causing Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Mol Syndromol*. 2015;6(3):147–151.
5. Azzi S, Salem J, Thibaud N, Chantot-Bastaraud S, Lieber E, Netchine I, Harbison MD. A prospective study validating a clinical scoring system and demonstrating phenotypical-genotypical correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet*. 2015;52(7):446–453.
6. Meyer R, Soellner L, Begemann M, Dicks S, Fekete G, Rahner N, Zerres K, Elbracht M, Eggermann T. Targeted next generation sequencing approach in patients referred for Silver-Russell syndrome testing increases the mutation detection rate and provides decisive information for clinical management. *J Pediatr*. 2017;187:206–212.e1.
7. Abi Habib W, Brioude F, Edouard T, Bennett JT, Lienhardt-Roussie A, Tixier F, Salem J, Yuen T, Azzi S, Le Bouc Y, Harbison MD, Netchine I. Genetic disruption of the oncogenic HMG2-PLAG1-IGF2 pathway causes fetal growth restriction. *Genet Med*. 2018;20(2):250–258.
8. Begemann M, Zirn B, Santen G, Wirthgen E, Soellner L, Büttel HM, Schweizer R, van Workum W, Binder G, Eggermann T. Paternally inherited IGF2 mutation and growth restriction. *N Engl J Med*. 2015;373(4):349–356.
9. Russo S, Calzari L, Mussa A, Mainini E, Cassina M, Di Candia S, Clementi M, Guzzetti S, Tabano S, Miozzo M, Sirchia S, Finelli P, Prontera P, Maitz S, Sorge G, Calcagno A, Maghnie M, Divizia MT, Melis D, Manfredini E, Ferrero GB, Pecile V, Larizza L. A multi-method approach to the molecular diagnosis of overt and borderline 11p15.5 defects underlying Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Clin Epigenetics*. 2016;8(1):23.
10. Takenouchi T, Awazu M, Eggermann T, Kosaki K. Adult phenotype of Russell-Silver syndrome: a molecular support for Barker-Brenner's theory. *Congenit Anom (Kyoto)*. 2015;55(3):167–169.
11. Searle C, Johnson D. Russel-Silver syndrome: a historical note and comment on an older adult. *Am J Med Genet A*. 2016;170A(2):466–470.
12. Smeets CC, Renes JS, van der Steen M, Hokken-Koelega AC. Metabolic health and long-term safety of growth hormone treatment in Silver-Russell syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2017;102(3):983–991.
13. Ryan TD, Gupta A, Gupta D, Goldenberg P, Taylor MD, Lorts A, Jefferies JL. Dilated cardiomyopathy in a 32-year-old woman with Russell-Silver syndrome. *Cardiovasc Pathol*. 2014;23(1):21–27.
14. Leunissen RW, Kerkhof GF, Stijnen T, Hokken-Koelega AC. Effect of birth size and catch-up growth on adult blood pressure and carotid intima-media thickness. *Horm Res Paediatr*. 2012;77(6):394–401.
15. Imboden MT, Welch WA, Swartz AM, Montoye AH, Finch HW, Harber MP, Kaminsky LA. Reference standards for body fat measures using GE dual energy x-ray absorptiometry in Caucasian adults. *PLoS One*. 2017;12(4):e0175110.
16. Imboden MT, Swartz AM, Finch HW, Harber MP, Kaminsky LA. Reference standards for lean mass measures using GE dual energy x-ray absorptiometry in Caucasian adults. *PLoS One*. 2017;12(4):e0176161.
17. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F; American Heart Association; National Heart, Lung, and Blood Institute. Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. *Circulation*. 2005;112(17):2735–2752.

18. Bertino E, Spada E, Occhi L, Coscia A, Giuliani F, Gagliardi L, Gilli G, Bona G, Fabris C, De Curtis M, Milani S. Neonatal anthropometric charts: the Italian neonatal study compared with other European studies. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2010;**51**(3):353–361.
19. Tanner JM, Whitehouse RH, Takaishi M. Standards from birth to maturity for height, weight, height velocity, and weight velocity: British children, 1965. I. *Arch Dis Child.* 1966;**41**(219):454–471.
20. Fredriks AM, van Buuren S, van Heel WJ, Dijkman-Neerinx RH, Verloove-Vanhorick SP, Wit JM. Nationwide age references for sitting height, leg length, and sitting height/height ratio, and their diagnostic value for disproportionate growth disorders. *Arch Dis Child.* 2005;**90**(8):807–812.
21. Lean ME, Han TS, Morrison CE. Waist circumference as a measure for indicating need for weight management. *BMJ.* 1995;**311**(6998):158–161.
22. Bohr AD, Laurson K, McQueen MB. A novel cutoff for the waist-to-height ratio predicting metabolic syndrome in young American adults. *BMC Public Health.* 2016;**16**(1):295.
23. Leung AA, Nerenberg K, Daskalopoulou SS, McBrien K, Zarnke KB, Dasgupta K, Cloutier L, Gelfer M, Lamarre-Cliche M, Milot A, Bolli P, Tremblay G, McLean D, Tobe SW, Ruzicka M, Burns KD, Vallée M, Prasad GV, Lebel M, Feldman RD, Selby P, Pipe A, Schiffrin EL, McFarlane PA, Oh P, Hegele RA, Khara M, Wilson TW, Penner SB, Burgess E, Herman RJ, Bacon SL, Rabkin SW, Gilbert RE, Campbell TS, Grover S, Honos G, Lindsay P, Hill MD, Coutts SB, Gubitza G, Campbell NR, Moe GW, Howlett JG, Boulanger JM, Prebtani A, Larochelle P, Leiter LA, Jones C, Ogilvie RI, Woo V, Kaczorowski J, Trudeau L, Petrella RJ, Hiremath S, Drouin D, Lavoie KL, Hamet P, Fodor G, Grégoire JC, Lewanczuk R, Dresser GK, Sharma M, Reid D, Lear SA, Moullec G, Gupta M, Magee LA, Logan AG, Harris KC, Dionne J, Fournier A, Benoit G, Feber J, Poirier L, Padwal RS, Rabi DM; CHEP Guidelines Task Force. Hypertension Canada's 2016 Canadian hypertension education program guidelines for blood pressure measurement, diagnosis, assessment of risk, prevention, and treatment of hypertension. *Can J Cardiol.* 2016;**32**(5):569–588.
24. Binder G, Liebl M, Woelfle J, Eggermann T, Blumenstock G, Schweizer R. Adult height and epigenotype in children with Silver-Russell syndrome treated with GH. *Horm Res Paediatr.* 2013;**80**(3):193–200.
25. Leunissen RW, Kerkhof GF, Stijnen T, Hokken-Koelega A. Timing and tempo of first-year rapid growth in relation to cardiovascular and metabolic risk profile in early adulthood. *JAMA.* 2009;**301**(21):2234–2242.
26. Wakeling EL, Amero SA, Alders M, Blik J, Forsythe E, Kumar S, Lim DH, MacDonald F, Mackay DJ, Maher ER, Moore GE, Poole RL, Price SM, Tangeraas T, Turner CL, Van Haelst MM, Willoughby C, Temple IK, Cobben JM. Epigenotype-phenotype correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet.* 2010;**47**(11):760–768.
27. Binder G, Seidel AK, Martin DD, Schweizer R, Schwarze CP, Wollmann HA, Eggermann T, Ranke MB. The endocrine phenotype in silver-russell syndrome is defined by the underlying epigenetic alteration. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;**93**(4):1402–1407.
28. Mericq V, Martinez-Aguayo A, Uauy R, Iñiguez G, Van der Steen M, Hokken-Koelega A. Long-term metabolic risk among children born premature or small for gestational age. *Nat Rev Endocrinol.* 2017;**13**(1):50–62.
29. Einhorn D, Reaven GM, Cobin RH, Ford E, Ganda OP, Handelsman Y, Hellman R, Jellinger PS, Kendall D, Krauss RM, Neufeld ND, Petak SM, Rodbard HW, Seibel JA, Smith DA, Wilson PW. American College of Endocrinology position statement on the insulin resistance syndrome. *Endocr Pract.* 2003;**9**(3):237–252.
30. Silver HK, Kiyasu W, George J, Deamer WC. Syndrome of congenital hemihypertrophy, shortness of stature, and elevated urinary gonadotropins. *Pediatrics.* 1953;**12**(4):368–376.

## Capitolo 3: Aspetto cognitivo nei soggetti SRS

### 3.1. Ritardo dello sviluppo psicomotorio

Il ritardo motorio descritto in questi pazienti è dovuto alla disproporzione tra macrocefalia e la scarsa massa muscolare che rende difficili la deambulazione e un precoce controllo del capo. La bassa statura fa sì che questi bambini vengano trattati come bambini più piccoli dei coetanei; inoltre la statura inferiore alla norma rende almeno nei piccoli pericolosa l'attività sportiva con i coetanei, tutti fattori che ostacolano il buon trofismo muscolare. Il palato ogivale stretto tende ad appiattire la tuba di Eustachio e causare infezioni frequenti con rischio di ipoacusia trasmissiva che contribuisce al ritardo del linguaggio. Una percentuale significativa presenta un'insufficienza velopalatina, altro fattore responsabile del ritardo del linguaggio

### 3.2. Deficit di attenzione/iperattività

Disturbi dello spettro autistico sono stati descritti in bambini con UPD7.

Un ritardo globale dello sviluppo in soggetti con SRS può essere dovuto alla coesistenza di più fattori:

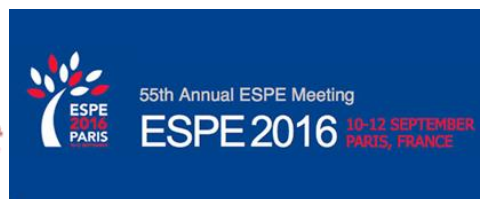
- 1) Nei soggetti con UPD7 dalla mancata espressione del gene FOXP2 espresso sul cromosoma paterno coinvolto nella regolazione della prassia motoria e del linguaggio.
- 2) Ipoglicemia. È nota infatti l'esistenza di una stretta correlazione tra ipoglicemia e ritardo psicomotorio soprattutto se tali episodi si verificano nei primi mesi di vita.
- 3) È noto che i bambini nati piccoli per età gestazionale (soprattutto i bambini very small for gestational age) hanno un aumento rischio di difficoltà scolastiche e di disturbi dell'attenzione rispetto ai controlli nati di peso adeguato.
- 4) Possibili alterazioni strutturali. Studi effettuati su animali hanno dimostrato il ruolo dell'IGF2 nello sviluppo del sistema nervoso centrale (soprattutto nello sviluppo dei ventricoli laterali, di ippocampo e amigdala).

L'unico studio riportato in letteratura ([Kelly Y C Lai. Archives of Disease in Childhood 1994](#)) in cui non viene però riportata alcuna distinzione tra i due gruppi molecolari ha mostrato come il 32% dei pazienti SRS presenti un QI inferiore a 70, il 20% dei pazienti affetti presenti un QI borderline compreso tra 70-85. Circa il 48% dei soggetti presenta disturbi del linguaggio. La disprassia verbale sembrerebbe correlata a una mutazione in eterozigosi di FOXP2 localizzato sul cromosoma 7q32. Nei bambini con

mUPD7 sono descritti casi di mioclonia la cui patogenesi è correlata alla perdita del gene epsilon-sarcoglicano localizzato sul cromosoma 7.

### **3.4. Dati francesi**

Riporto di seguito l'abstract del lavoro eseguito presso l'ospedale pediatrico Armand Trousseau di Parigi. Tale lavoro è stato presentato come al congresso ESPE (European Society for Paediatric Endocrinology), Paris 9th-11th September 2016 e alla terza edizione della Imprinting Disorder School, Bèhous France 1-3 Maggio 2016.



**Giuseppa Patti, Virginie Coutinho Malainho, Georges Dellatolas, Beatrice Dubern, Diane Doummar, Irene Netchine.**

#### **Cognitive Evaluation in Silver Russell Children.**

Obiettivo primario: valutare lo sviluppo cognitivo in un'ampia coorte di pazienti SRS

Obiettivo secondario: comparare i due gruppi 11p15 e UDP7 Criteri di inclusione: bambini con SRS

confermata dalla presenza di anomalie molecolari 11p15 o UPD7. Popolazione e Metodi: La popolazione si compone 30 pazienti di nazionalità francese (20 con 11p15 e 10 con UPD7) di età compresa tra 3 e 17 anni (età media 7 anni e 6 mesi) seguiti presso l'unità operativa di endocrinologia Pediatrica dell'ospedale Trousseau dal 2010 al 2015. Tutti i soggetti sono stati sottoposti a visita endocrinologica pediatrica e successivamente a valutazione cognitiva. Le abilità cognitive sono state valutate mediante Wechsler Intelligence Scales (WISC-IV, WPPSI-III, WAIS-III) con valutazione dei seguenti parametri: QI totale, VCI (Verbal Comprehension Index), PRI (Perceptive Reasoning Index), PSI (Processing Speed Index), WMI (Working Memory Index). I dati sono stati analizzati mediante il software SAS versione 9.3 (SAS, Institute Inc. Cary, NC, USA). È stata eseguita un'analisi descrittiva dei dati e correlazioni mediante t-test, Fisher exact test e Pearson test.

Risultati: Abbiamo valutato la funzione cognitiva in 30 soggetti con SRS (18 maschi e 12 femmine, 20

pazienti nel gruppo 11p15 e 10 nel gruppo UPD7).

Il punteggio medio NH scoring è 6 nel gruppo 11p15 e 4,7 nel gruppo UPD7 . La terapia con Growth hormone (GH) è stata eseguita nell' 86,6% dei soggetti. L'età media all'inizio della terapia con GH è di 3,3 anni con un range da 1 a 7 anni ( età media 3,2 anni nel gruppo UPD7 e 3,4 anni nel gruppo 11p15 ). 11 pazienti (42%) hanno presentato episodi di ipoglicemia (glicemia <2,4 mmol/L). Nessun soggetto ha presentato convulsioni correlate a ipoglicemia. 13 pazienti (43%) hanno necessitato nutrizione enterale (gastrostomy tube feeding and/or nasogastric tube), 4/10 nel gruppo UPD7 e 9 su 20 nel gruppo 11p15. Il QI totale medio risulta di 93,4 nel range normale (90,7 nel gruppo UPD7 e 94,7 nel gruppo 11p15). L'indice di comprensione verbale (VCI) risulta significativamente inferiore nel gruppo UPD7 rispetto al gruppo 11p15 (Mean=90.7; SD=15.2 versus Mean=106.1; SD=18.8; p=0.04), così come lo score Copy of figures (Mean=6.3; SD=3.1 versus Mean=9.1; SD=2.9; p=0.05). La necessità di logopedia è più frequente nel gruppo UPD7 (90% versus 40%; p=0.02), così come la necessità di psicoterapia (70% versus 15%; p=0.005). E' stata riscontrata una correlazione significativa tra basso peso alla nascita e basso QI totale (r=0.39;p=0.05). I bambini con storia di ipoglicemia presentavano un PRI score (Mean=86.6; SD=14.4) minore rispetto ai soggetti che non hanno presentato episodi di ipoglicemia (Mean=100.9; SD=15.3; p=0.03). 2 soggetti nel gruppo UPD7 presentano mioclonie. Nello stesso gruppo 2 soggetti hanno presentato iperattività e disturbi del comportamento con necessità di terapia con Risperidone.



*III Imprinting Disorder School, Bèhous France 1-3 maggio 2016*

## Riferimenti Bibliografici

Wakeling EL, Brioude F, Lokulo-Sodipe O, O'Connell SM, Salem J, Blik J, Canton AP, Chrzanowska KH, Davies JH, Dias RP, Dubern B, Elbracht M, Giabicani E, Grimberg A, Grønskov K, Hokken-Koelega AC, Jorge AA, Kagami M, Linglart A, Maghnie M, Mohnike K, Monk D, Moore GE, Murray PG, Ogata T, Petit IO, Russo S, Said E, Toumba M, Tümer Z, Binder G, Eggermann T, Harbison MD, Temple IK, Mackay DJ, Netchine I. Diagnosis and management of Silver-Russell syndrome: first international consensus statement. *Nat Rev Endocrinol* 2016.

Russo S, Calzari L, Mussa A, Mainini E, Cassina M, Di Candia S, Clementi M, Guzzetti S, Tabano S, Miozzo M, Sirchia S, Finelli P, Prontera P, Maitz S, Sorge G, Calcagno A, Maghnie M, Divizia MT, Melis D, Manfredini E, Ferrero GB, Pecile V, Larizza L. A multi-method approach to the molecular diagnosis of overt and borderline 11p15.5 defects underlying Silver-Russell and Beckwith-Wiedemann syndromes. *Clin Epigenetics*. 2016 1;8:23.

Wakeling EL. Silver-Russell syndrome. *Arch Dis Child*. 2011 Dec;96(12):1156-1161.

Azzi S, Salem J, Thibaud N, Chantot-Bastarud S, Lieber E, Netchine I, Harbison MDA prospective study validating a clinical scoring system and demonstrating phenotypical-genotypical correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet*. 2015 ;52(7):446-453.

Dias RP, Nightingale P et al. Comparison of the clinical scoring systems in Silver-Russell syndrome and development of modified diagnostic criteria to guide molecular genetic testing. *J Med Genet*. 2013;50(9):635-639.

Kelly Y C Lai, David Skuse, Richard Stanhope, Peter Hindmarsh. Cognitive abilities associated with the Silver-Russell syndrome. *Archives of Disease in Childhood* 1994; 71: 490-496

Aarnoudse-Moens CS, Weisglas-Kuperus N, van Goudoever JB, Oosterlaan J. Meta-analysis of neurobehavioral outcomes in very preterm and/or very low birth weight children. *Pediatrics*. 2009;124(2):717-728.

Boguszewski M, Rosberg S, Albertsson-Wikland K. Spontaneous 24-hour growth hormone profiles in prepubertal small for gestational age children. *J Clin Endocrinol Metab*. 1995;80(9):2599-606

Guettard E, Portnoi MF, Lohmann-Hedrich K, et al. Myoclonus-dystonia due to maternal uniparental disomy. *Arch Neurol* 2008; 65 : 1380- 5 .

Wakeling E L, Amero SA, Alders M, et al. Epigenotype-phenotype correlations in Silver-Russell syndrome. *J Med Genet* 2010 ; 47 : 760 –768 .

Ranke MB, Lindberg A. Growth hormone treatment of short children born small for gestational age or with Silver-Russell syndrome: results from KIGS (Kabi International Growth Study), including the first report on final height. *Acta Paediatr Suppl*. 1996;417:18-26

Ranke MB, Lindberg A; KIGS International Board. Height at start, first-year growth response and cause of shortness at birth are major determinants of adult height outcomes of short children born small for gestational age and Silver-Russell syndrome treated with growth hormone: analysis of data from KIGS. *Horm Res Paediatr*. 2010;74(4):259-66.

J. Liu, P. Spe´der & A. H. Brand. Control of brain development and homeostasis by local and systemic insulin signaling. *Diabetes, Obesity and Metabolism* 2014 16 (Suppl. 1): 16–20

Abdelhedi F, El Khattabi L, Cuisset L, Tsatsaris V. Neonatal Silver-Russell syndrome with maternal uniparental heterodisomy, trisomy 7 mosaicism, and dysplasia of the cerebellum. *Am J Clin Pathol*. 2014 ;142(2):248-253.



- Heinke Pülhorn , Jonathan Pesic-Smith, Peter Cowley, Mary Murphy. Cerebral aneurysms and accelerated atherosclerosis in Russell-Silver syndrome: a new subtype? Case report. *J Neurosurg.* 2015 ;123(2):467-469.
- Chen DY, Stern SA, Garcia-Osta A. A critical role for IGF-II in memory consolidation and enhancement. *Nature* 2011. 27;469:491-497.
- Stern SA, Chen DY, Alberini CM. The effect of insulin and insulin-like growth factors on hippocampus- and amygdala-dependent long-term memory formation. *Learn Mem.* 2014 16;21(10):556-63.
- Abdelhedi F, El Khattabi L, Cuisset L. Neonatal Silver-Russell syndrome with maternal uniparental heterodisomy, trisomy 7 mosaicism, and dysplasia of the cerebellum. *Am J Clin Pathol.* 2014;142(2):248-253.
- Bartholdi D, Krajewska-Walasek M, Ounap K, Gaspar H, Chrzanowska KH, Ilyana H, Kayserili H, Lurie IW, Schinzel A, Baumer A. Epigenetic mutations of the imprinted IGF2-H19 domain in Silver-Russell syndrome (SRS): results from a large cohort of patients with SRS and SRS-like phenotypes. *J Med Genet.*2009;46:192–197
- Netchine I, Rossignol S, Dufourg MN, Azzi S, Rousseau A, Perin L, Houang M, Steunou V, Esteva B, Thibaud N, RauxDemay MC, Danton F, Petriczko E, Bertrand AM, Heinrichs C, Carel JC, Loeuille GA, Pinto G, Jacquermont ML, Gicquel C, Cabrol S, Le Bouc Y. 11p15 ICR1 imprinting center region 1 loss of methylation is a common and specific cause of typical Russel-Silver syndrome: clinical scoring system and epigenetic-phenotypic correlations. *J Clin endocrinol Metab.*2007;92:3148–154.
- Feuk L, Kalervo A, Lipsanen-Nyman M, Skaug J, Nakabayashi K. Absence of a paternally inherited FOXP2 gene in developmental verbal dyspraxia. *Am J Hum Genet.* 2006 Nov;79(5):965-972.

## **Capitolo 4. Studio**

### **4.1 Razionale Dello Studio**

Il ruolo dell'IGF2 nello sviluppo cerebrale e i casi di mioclonia/disturbi del comportamento riportati in soggetti con UPD7, fanno porre l'ipotesi che questi pazienti possano presentare alterazioni morfologiche e possibilmente funzionali a livello del SNC. In virtù dell'esiguità dei dati sullo sviluppo cognitivo e dell'assenza di dati neuroradiologici, il presente studio ha l'obiettivo di valutare lo sviluppo cognitivo nei bambini con suddetta sindrome e di ricercare la presenza di alterazioni anatomiche cerebrali

### **4.2. Obiettivi**

#### **Obiettivo Primario**

Descrivere il fenotipo clinico, cognitivo e neuroradiologico di bambini SRS seguiti presso l'IRCCS Gaslini di Genova da novembre 2015 a novembre 2018.

#### **Obiettivo Secondario**

1. Descrivere la correlazione genotipo-fenotipo della patologia in un'ampia casistica di pazienti.
2. Descrivere la correlazione tra reperti neuroradiologici e fenotipo clinico/cognitivo

### **4.3. Disegno dello studio**

Studio spontaneo, osservazionale, prospettico

#### **Criteri di inclusione**

Soggetti con diagnosi di Sindrome di Silver Russell confermata geneticamente (11p15 LOM, UPD7, duplicazione cromosoma 11)

#### **Criteri di esclusione**

Soggetti con SRS associata a comorbidità

Soggetti con diagnosi clinica non confermata geneticamente

#### 4.4. Procedura Dello Studio

Dopo firma del consenso informato da parte dei genitori o dei legali rappresentanti, tutti i casi sono stati sottoposti a:

- Valutazione clinica da parte di medico pediatra endocrinologo
- Valutazione cognitiva ( Dott.ssa Letizia Demori) con somministrazione della seguente batterie di test:

- WPPSI – III, per età compresa tra 2.6 – 7.3 (Weschler D., 2008– Giunti O.S.) – diviso in due gruppi di età 2.6 – 3.11 e 4.00 – 7.3, con diverse batterie di subtest per ogni fascia di età. Per i 2.6 – 3.11 i dati forniscono: un QI Verbale (QIV), un QI di Performance (QIP), un QI Totale (QIT) e Punteggio totale di Linguaggio Generale (LG); mentre per la fascia 4.00 – 7.3 i dati forniscono anche un QI di Velocità di Processamento (QVP).

- WISC – IV, per età compresa tra 6.00 – 16.11 (Weschler D., 2012 – Giunti O.S.) – i dati danno forniscono informazioni relative a un QI Totale e a quattro componenti dell'Intelligenza, quali: Indice di Comprensione Verbale (ICV), Indice di Ragionamento Visuo-Percettivo (IPR), Indice di Memoria di Lavoro (IML) e un Indice di Velocità di Elaborazione (IVE).

- WAIS – IV, per età compresa tra 16.00 e l'età adulta (Weschler D., 2013– Giunti O.S.), i dati danno forniscono informazioni relative a un QI Totale e a quattro componenti dell'Intelligenza, quali: Indice di Comprensione Verbale (ICV), Indice di Ragionamento Visuo-Percettivo (IPR), Indice di Memoria di Lavoro (IML) e un Indice di Velocità di Elaborazione (IVE).

- Imaging neuroradiologico con studio di Risonanza Magnetica dell'encefalo a 3T (Philips) nei pazienti ed in un gruppo di controlli appaiati per età e sesso con esecuzione delle seguenti tecniche avanzate:

- La morfometria basata sui voxel (VBM voxel based morphometry) per lo studio della volumetria cerebrale globale e la segmentazione della sostanza bianca e della sostanza grigia, con particolare attenzione alla volumetria ippocampale
- Imaging con tensore di diffusione (DTI, diffusion tensor imaging) con almeno 60 direzioni, con analisi degli scalari del tensore (FA, MD, RD, AD), trattografia deterministica e/o probabilistica e connettività strutturale
- Imaging funzionale con sequenze BOLD: resting-state fMRI per lo studio della connettività funzionale con approccio voxel-based e/o seed-based e con applicazione della teoria dei grafi

Per pazienti non collaboranti o < 5-6 anni è stata eseguita sedazione superficiale durante l'esame RMN. La raccolta dei dati neuroradiologici è stata curata dalla dott.ssa Mariasavina Severina e dal dott. Domenico Tortora. U.O. Neuroradiologia IRCCS Gaslini.

#### **4.5. Analisi dei dati e statistica**

E' stata effettuata una analisi descrittiva, i dati sono stati espressi come media e deviazione standard (SD) 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 il t test non parametrico di Mann-Whitney per le variabili continue. L'associazione tra le variabili categoriche è stata effettuata usando il test  $\chi^2$  o il Fisher's exact test.

Un valore  $p < 0,05$  è stato considerato statisticamente significativo, e tutti i valori di  $p$  sono basati su test a due code. L'analisi statistica è stata effettuata utilizzando SPSS per Windows (SPSS Inc., Chicago, Illinois USA).

#### **Aspetti Etici e Regolatori**

Lo studio è stato approvato dal Comitato Etico Istituto Gaslini- seduta ottobre 2016

#### 4.6. Popolazione

La popolazione è composta da 38 soggetti ( 20 femmine, 18 maschi) con diagnosi di SRS confermata geneticamente (18 soggetti con UPD7, 18 soggetti con 11p15 LOM e 2 con duplicazione del cromosoma 11) di età compresa tra 0.9 e 48 anni, con una media di  $11.77 \pm 10.1$  anni.

In totale nel corso dei tre anni sono stati valutati 39 soggetti con diagnosi clinica di malattia ( punteggio NH  $\geq 4$ ). Di questi solo un paziente con punteggio NH di 5 è risultato negativo per 11p15LOM e UPD7. In tale paziente lo studio di exome sequencing ha consentito l'identificazione della mutazione IGF2 descritta recentemente in associazione a fenotipo SRS ([Begemann M, NEJM 2015](#))

#### 4.7. Risultati Valutazione Clinica

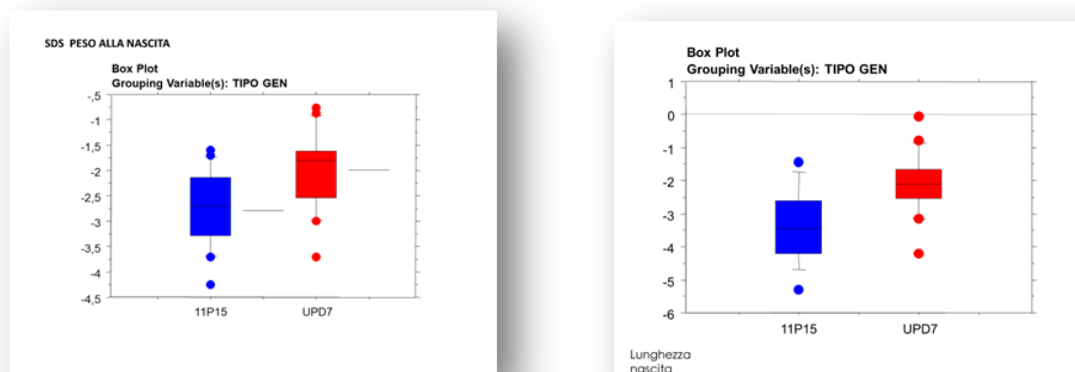
Dalla valutazione clinica sono emersi i seguenti dati:

Dati alla nascita: EG media  $36.6 \pm 2.7$  SD, Peso medio alla nascita  $-2.36 \pm 0,8$  SD con una differenza significativa tra i due gruppi ( media  $-1.9 \pm 0.75$  nel gruppo UPD7 vs media  $-2.7 \pm 0.73$  nel gruppo 11p15 LOM). Nel gruppo 11p15LOM tutti i soggetti sono nati SGA; di contro nel gruppo UPD7 il 33% dei soggetti sono nati AGA. Tutti i soggetti presentavano macrocefalia relativa alla nascita. 2 soggetti entrambi con 11p15LOM sono nati da procreazione medicalmente assistita ( ICSI e FIVET rispettivamente). In 25 casi veniva segnalato IUGR in gravidanza e in 2 casi oligodramnios.

Caratteristiche cliniche: Il 16% dei soggetti presenta anomalie oculari maggiori ( 2 casi di ptosi palpebrale, 1 caso di opacità del cristallino, 1 caso di coloboma associato a macroftalmia, 1 caso di ipoplasia del nervo ottico e 1 caso di strabismo). 2 soggetti presentano anomalie cardiache ( DIA severo, destrocardia); 2 casi anomalie renali ( rene ectopico). È stato inoltre riscontrato 1 caso di 2 malformazione uterina (utero bicorni) e in 2 casi colesteatoma e polipo del condotto uditivo in soggetti con 11p15LOM. In un caso è stato riscontrato RGE severo con necessità di fundoplicatio secondo Nissen. In 5 casi è stata necessaria nutrizione mediante SNG/PEG. Il punteggio NH è risultato pari a 6 nel gruppo 11p15LOM, di  $4,61 \pm 0.52$  nel gruppo UPD7 e pari a 5 nei 2 soggetti con

duplicazione del cromosoma 11 ( assenza di asimmetria/dismetria in entrambi i casi).

L'altezza media all'ultima valutazione era di  $-2.44 \pm 1.5$  SD ( $-2,43 \pm 1,33$  nel gruppo 11p15 e  $-1,9 \pm 1,6$ ) con un BMI medio di  $-1.8 \pm 1.7$  DS ( media  $-1,8 \pm 2,6$  SD nel gruppo 11p15;  $-2,1 \pm 1,14$  nel gruppo UPD7). Il 54% dei soggetti hanno eseguito terapia con GH con una durata media di  $4,4 \pm 2,8$  anni. 3 bambini con UPD7 presentano disturbi del comportamento e 1 paziente adulta UPD7 presenta stato ansioso/depressivo per cui è in terapia attualmente con paroxetina. 3 pazienti adulte hanno avuto gravidanze caratterizzate tutte da incontinenza uterina con necessità di cerchiaggio: 1 paziente con 11pLOM ha portato a termine la gravidanza, una seconda paziente con 11p15LOM ha portato a termine una gravidanza dopo un aborto a 13 sett, la terza paziente con duplicazione cr11 ha invece avuto 2 aborti.



**Fig.1.** Box Plot. Peso e lunghezza alla nascita nei due gruppi 11p15LOM e UPD7.

#### **4.8. Risultati valutazione cognitiva:**

I risultati di valutazione cognitiva eseguiti su 31 soggetti hanno mostrato un QI medio di  $86,5 \pm 17$ ; un indice di comprensione verbale medio (ICV) di  $89,2 \pm 15$ , un indice di ragionamento percettivo (IRP) medio di  $85,8 \pm 16,7$ , indice di memoria di lavoro (IML) di  $91,3 \pm 18$ ; indice di velocità di elaborazione di  $93,2 \pm 19,3$  con valori significativamente maggiori di QI, ICV, IRP nel gruppo 11p15 rispetto al gruppo UPD7 nella fascia di età compresa tra i 6-16,11 anni (tab.1; fig.2). L'unico paziente al momento valutato con duplicazione 11p15 presenta un ritardo cognitivo, in accordo con quanto riportato in letteratura.



**Tab.1. Confronto tra i due gruppi 11p15LOM vs UPD7 nelle diverse fasce di età.**

	11P15			UPD7		
	Gruppo1	Gruppo2	Gruppo3	Gruppo1	Gruppo2	Gruppo3
	N=4	N=7	N=4	N=6	N=5	N=4
EG	37±2.9	36±3.7	39.2±1.7	36.6±1.9	35.4±2.4	36.7±1.5
Peso Sds nascita	-2.8±1.1	-2.4±0.7	-3.4±0.1	-1.8±1	-1.9±0.7	-2.4±0.7
CC Sds nascita	-0.02±0.9	-0.83±0.4	0.12	-0.97±1.2	-0.46±0.3	-0.23±1
Età psico	4.3±0.9	10±3.1	29.8±12.5	4.1±1.3	7.1±1.6	21.2±4.5
QI	81.2±5.1	100±11	92.2±27.8	80.7±16.8	82.2±6.8	82±22.9
ICV	87.2±6.7	102.9±7.2	94±13.8	83.2±22.6	88.8±7.3	77±15.8
IRP	81±9.1	97.1±13.6	93.7±32.6	80.5±11.9	79.8±10.7	82.5±15.6
IML	89.2±19.5	98.3±10.2	96.5±25.5	91.8±18.3	84±16.1	92.7±25.8
IVE	71.5±2.1	100.7±20.3	92.2±18.2	70±21.2	97±14.7	99±19.6

Gruppo 1 (2.6-7 anni)

Gruppo 2 (6-16.11 anni)

Gruppo 3 (16 anni in su)

Nessuna differenza statisticamente significativa per Gruppo 1 tra le due mutazioni

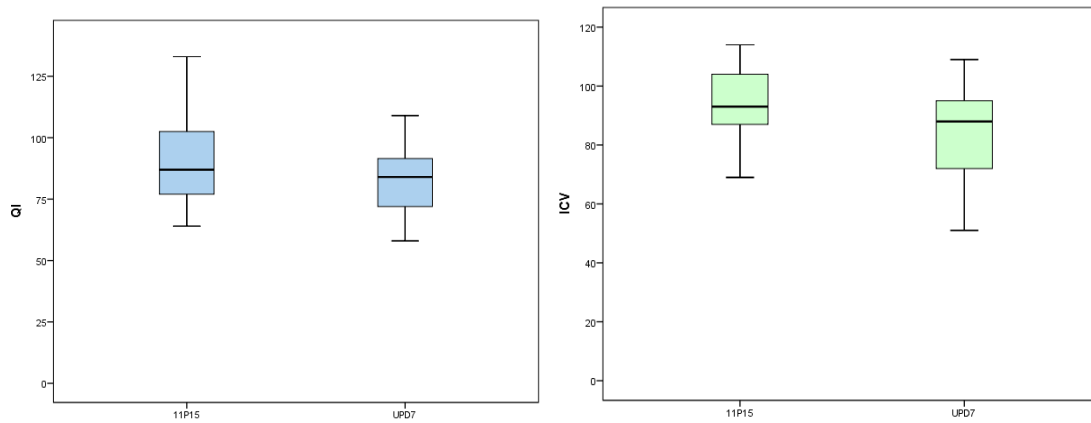
Nel gruppo 2 differenza statisticamente significativa per QI (p=0.01), ICV (p=0.01) e IRP (p=0.013)

Nessuna differenza statisticamente significativa per Gruppo 3 tra le due mutazioni

### **Dati descrittivi valutazione psicologica ( Dott.ssa Letizia Demori)**

Dei 31 partecipanti il 59,3% ( 76% nel gruppo UPD7 e 41% nel gruppo 11p15LOM) ha manifestato segni, sintomi e cadute specifiche che rientrano all'interno dell'ADHD, mentre il 18,18% ha manifestato caratteristiche e punteggi che cadono all'interno del disturbo specifico dell'apprendimento (DSA).

All'osservazione clinica il gruppo con UPD7 manifestava in modo più marcato immaturità, impulsività, iperattività e disattenzione soprattutto nel gruppo di età prescolare, nella fascia di età 6.00-16.11 queste caratteristiche hanno mostrato un trend che tendeva a scemare quindi in miglioramento con l'avanzare dell'età, ma pur sempre tipicamente presente



**Fig.2** Box Plot IQ e ICV nei due gruppi UPD7 e 11p17LOM

#### 4.9. Dati valutazione Neuroradiologica.

I risultati di valutazione RMN 3T eseguiti su 26 soggetti hanno mostrato:

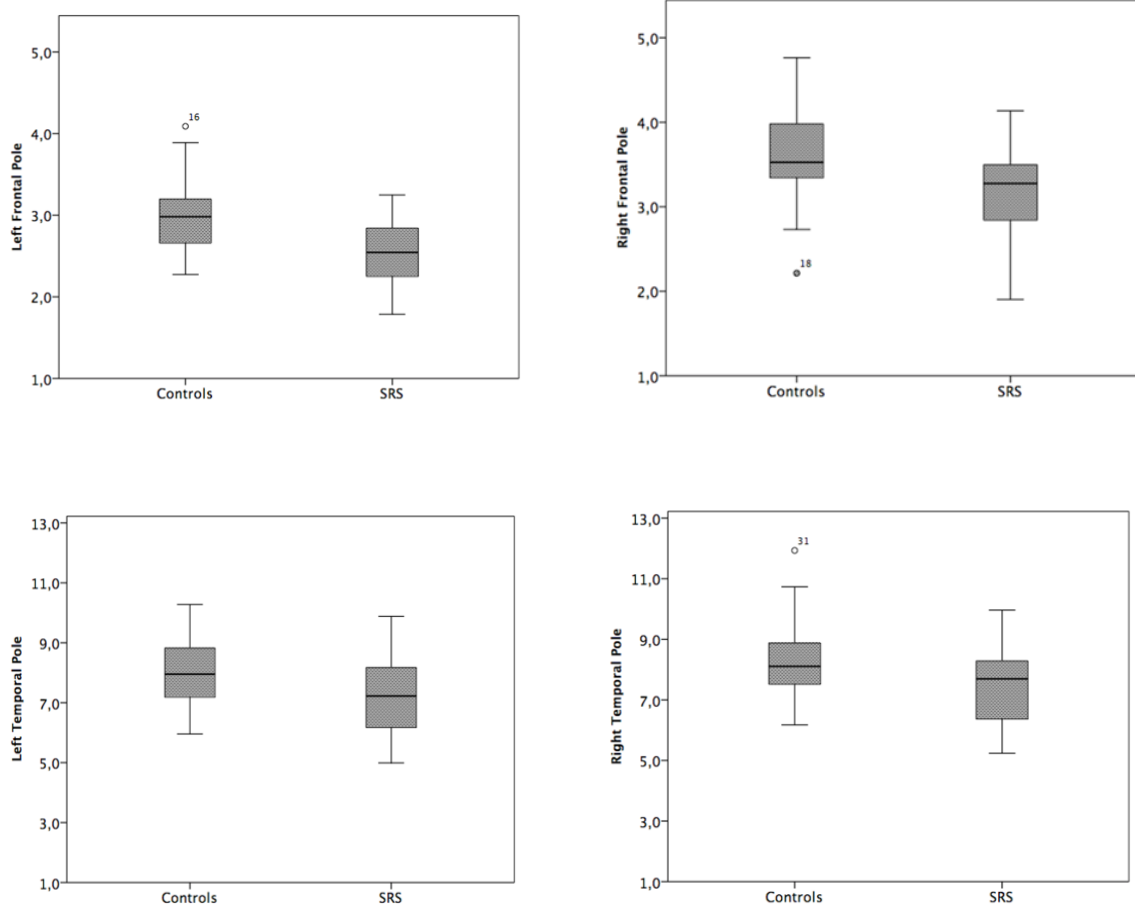
- l'assenza di anomalie morfologiche maggiori in soggetti SRS

Lo studio di volumetria ha mostrato:

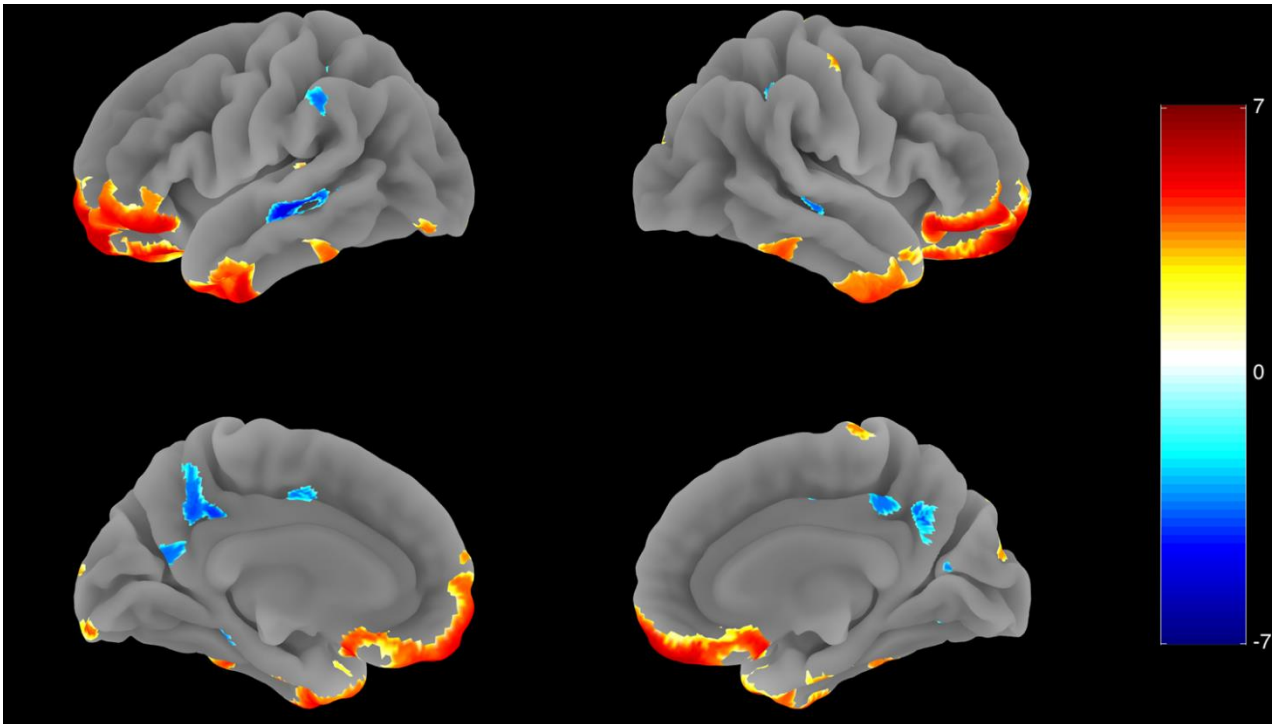
- un volume di sostanza grigia inferiore nei pazienti SRS rispetto ai controlli sani in corrispondenza delle regioni fronto-basali e temporale bilaterali ( dato corretto per total intracranial volume) ( fig. 3; fig.4).
- non è stata riscontrata differenza significativa di volumi di grigia tra i due gruppi molecolari
- nessuna differenza di volume di sostanza bianca nei pazienti rispetto ai controlli

Le analisi di correlazione hanno evidenziato:

- una correlazione significativa con rapporto direttamente proporzionale tra QI e volume della sostanza grigia nelle regioni frontale sx e temporo-occipitali bilaterali e tra IML e volume sostanza grigia a livello dell'ippocampo.



**Fig.3.** Confronto volume sostanza grigia SRS vs controlli.



**Fig.4.** Rappresentate in rosso le aree in cui i volumi di sostanza grigia sono significativamente maggiori nei controlli rispetto ai pazienti SRS

## **Riferimenti Bibliografici:**

Begemann M1, Zirn B, Santen G, Wirthgen E, Soellner L, Büttel HM, Schweizer R, Eggermann T. Paternally Inherited IGF2 Mutation and Growth Restriction. *N Engl J Med.* 2015. 23;373(4):349-56

Weschler D., (2012). WISC – IV, Weschler Intelligent Scale for Children – Quarta Edizione. Giunti O.S. Firenze.

Weschler D., (2008) WAIS – IV, Weschler Adult Intelligence Scale. Quarta Edizione.

Giunti O.S. Firenze.

Korkman M., Kirk U., Kemp S., (2007). Nepsy-II. Second Edition. Giunti O.S. Firenze.

Beery K.E., Buktenica N.A. (2000). VMI. Developmentl Test of Visuo-Motor Integration. Giunti O.S. Firenze.

Cornoldi C., Cazzola C. (2004). Prove AC – MT 11-14. Test di valutazione delle abilità di calcolo e problem solving. Edizioni Erikson. Trento.

Dunn L.M., Ph Leota, Dunn M. (2000). PPVT-R – Peabody Picture Vocabulary Test. Edizioni Omega. Torino.

Sannio Fancello G., Vio C. e Cianchetti C. (2006). TOL. Torre di Londra. Test di valutazione delle Funzioni Esecutive (Pianificazione e Problem Solving). Edizioni Erikson. Trento.

Cornoldi C., Pra Baldi A., Friso G., Giacomini A., Giofrè D e Zaccaria S. (2010). MT Avanzate 2. Prove MT avanzate di Lettura e Matematica 2 per il biennio della Scuola Secondaria di II Grado. Giunti O.S. Firenze

Cornoldi C. e Candela M. (2015). Prove di lettura e di scrittura MT-16-19. Batteria per la verifica degli apprendimenti e la diagnosi di Dislessia e Disortografia. Edizioni Erikson. Trento.

## **Discussione**

Le conoscenze e l'approccio clinico alla SRS sono migliorati negli ultimi anni grazie al Primo Consensus internazionale sulla sindrome. Tuttavia la rarità della patologia fa sì che molti aspetti rimangano ancora poco conosciuti.

I nostri dati se da un lato forniscono delle conferme di quanto riportato nel Consensus Internazionale sottolineando:

- La differenza significativa dei parametri auxologici neonatali tra i due gruppi molecolari presente sia nei pazienti italiani che nei pazienti francesi
- La necessità di una valutazione ecocardiografica, eco addome ed eco pelvi ( nelle donne) per le possibili malformazioni associate così come di uno screening oculistico/ ORL per il rischio di anomalie oculari e ipoacusia.

Dall'altro forniscono delle novità.

La prima novità che emerge dalla valutazione dei punteggi NH nei tre gruppi molecolari è la constatazione che tutti i pazienti analizzati con 11p15LOM hanno un punteggio di 6.

Questo dato rappresenterebbe il presupposto per una modifica dell'algoritmo diagnostico previsto dal Consensus.

L'algoritmo diagnostico previsto dal Consensus e riportato nel nostro articolo di Medico e Bambino prevede come prima indagine lo studio di metilazione in quanto la 11p15LOM è l'anomalia molecolare più frequente e l'esecuzione dello studio UPD7 solo in seconda battuta.

La constatazione che nessuno dei pazienti con 11p15LOM da noi analizzati ha un punteggio inferiore 5 rende ragionevole l'esecuzione in prima battuta dello studio UPD7 in tutti i soggetti con uno score pari a 4.

Altro dato rilevante è il rilievo di genetica positiva in tutti i soggetti con diagnosi clinica di malattia (score  $\geq 4$ ). L'unico soggetto risultato negativo per 11p15LOM e UDP7 ha peraltro presentato una mutazione IgF2 descritta in associazione a fenotipo SRS.

Tale dato rende valida l'ipotesi che l'utilizzo corretto del nuovo score NH di malattia in associazione agli studi di exome-sequencing riducano drasticamente la percentuale di casi idiopatici.

Dai dati della valutazione cognitiva/psicologica emerge la necessità di una valutazione cognitiva e successiva presa in carico psicologica/potenziamento didattico nelle aree deficitarie in epoca prescolare soprattutto nei soggetti con UPD7 e la necessità di una valutazione psicomotoria/logopedica nei primi anni di vita.

I dati neuroradiologici sono al momento preliminari e non consentono pertanto di trarre conclusioni a parte l'esclusione di anomalie morfologiche maggiori. A tal proposito il lavoro successivo che ci prefiggiamo nei prossimi mesi è che l'analisi degli studi di diffusione insieme all'incremento del numero del campione possa consentire di trarre nuove considerazioni.