

M. Baffico(1), M. Baldi(1), I. Mura(1), F. Dagna Bricarelli(1), W. Insegno(3), U. Passamonti(2), M. Lituania (2)

(1) Laboratorio di Genetica, E.O.Ospedali Galliera, Genova

(2) S.S.D. Fisiopatologia preconcezionale e prenatale E.O.Ospedali Galliera, Genova

(3) S.S.Diagnostica prenatale, Ospedale Evangelico Internazionale, Genova

Introduzione

L'acondroplasia (OMIM #100800), la più comune osteocondrodiplosia non letale (prevalenza alla nascita 1:25000 nati), è una malattia a trasmissione autosomica dominante con penetranza completa, dovuta ad un difetto dell'ossificazione encondrale che porta ad un ritardo di accrescimento delle ossa lunghe, con conseguente bassa statura disarmonica. È prevalentemente sporadica ed è associata con età paterna avanzata. I soggetti acondroplasi presentano micromelia rizomelica, macrocefalia con bozze frontali prominenti e gli arti corti e tozzi rispetto al resto del corpo. Altre caratteristiche sono la radice del naso infossata, la mano e le dita corte e tozze ("mano a tridente") e la parte inferiore della colonna vertebrale curvata in avanti (lordosi lombare). Il gene dell'acondroplasia, localizzato in 4p16.3, codifica per il recettore dei fattori di crescita dei fibroblasti di tipo 3 (FGFR3) e in esso sono state individuate le più comuni mutazioni responsabili della malattia. In circa il 98% dei pazienti è presente la sostituzione di glicina in arginina in posizione 380 della proteina (Gly380Arg); altre mutazioni molto rare sono Gly375 Cys e Gly346Glu. A livello ecografico, l'accorciamento degli arti e la tipica "facies" di solito iniziano ad apparire soltanto dopo la 22^o- 24^o settimana di gestazione.

Le craniosinostosi, con una incidenza complessiva di circa 1:2000, 2500 nati vivi, sono dovute alla prematura fusione delle suture craniche; sono state descritte circa 100 diverse forme con trasmissione genetica, nella maggior parte, autosomica dominante. L'etiologia e la patogenesi sono eterogenee e spesso esse risultano associate a malformazioni dello scheletro e di organi interni. Alcune di queste sono causate da mutazioni nei geni per i recettori dei fattori di crescita dei fibroblasti (FGFR). Tra le craniosinostosi non sindromiche, una delle più frequenti, la craniosinostosi di Muenke, è causata da mutazioni al codone 250 della proteina FGFR3 (P250R, P250L). La diagnosi prenatale delle craniosinostosi si basa soprattutto sull'identificazione di anomalie associate e sull'analisi molecolare del DNA fetale, che attuabile soltanto in alcune forme sindromiche e in famiglie ben documentate.

Riportiamo il caso di un feto, alla 32^o settimana gestazionale, in cui l'esame ecografico evidenziava una forma atipica di acondroplasia eterozigote associata a craniosinostosi.

Caso riportato

Una donna di 37 anni era giunta all'esame ecografico routinario del III trimestre alla 32^o settimana gestazionale + 3 giorni; l'esito indicava presenza di arti superiori ed inferiori corti sia nel segmento prossimale che distale, presenza di polidramnios e biometria cranica al 90^o centile. Una seconda ecografia veniva eseguita alla 33^o settimana + 1 giorno. Veniva confermata brevità degli arti in tutte le ossa lunghe (tutte sotto il 5^o centile), torace piatto, bozze parietali prominenti, ponte nasale appiattito, mano con aspetto a tridente con dita di uguale lunghezza, vertebre corte e piatte (Fig.1) (Fig.2). A livello cerebrale e addominale e negli archi posteriori non venivano riscontrate anomalie. Tutti questi segni suggerivano una displasia scheletrica non-letale: acondroplasia associata a craniosinostosi, con coinvolgimento soprattutto delle suture coronali.

Il cariotipo, precedentemente eseguito per età materna, alla 17^o settimana, era risultato normale, 46XY. Anche il dettagliato esame ecografico alla 21^o+1 settimana non aveva mostrato alcuna anomalia. I genitori erano non consanguinei, sani e di statura normale; normale era anche la figlia precedente.

Dopo consulenza genetica, la decisione dei genitori fu di interrompere la gravidanza, presso struttura esterna al territorio nazionale. L'esame postmortem fisico e radiografico del feto confermava la descrizione ecografica precedente.

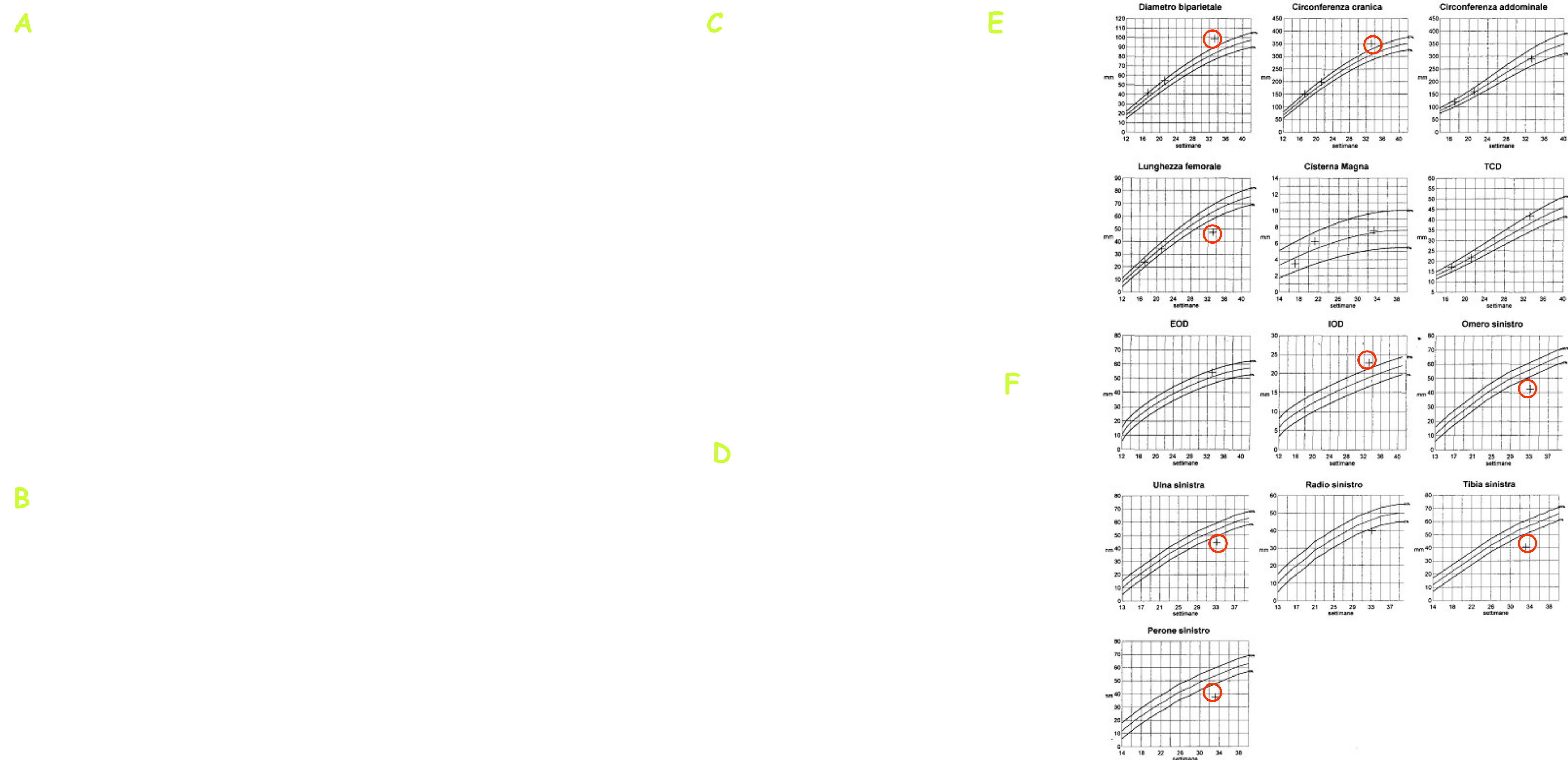


Fig. 1 Ecografia effettuata alla 33^o settimana + 1 giorno. A) sezione sagittale della testa fetale: si evidenzia la prominente delle bozze frontali e ponte nasale piatto; B) mani piccole, tozze, a tridente; C) sezione assiale della testa fetale a livello del BPD: si evidenziano bozze parietali e la precoce saldatura delle suture coronali (indicate da freccia); e D) sezione assiale della testa fetale a livello del crevelletto. La freccia indica la zona della craniosinostosi. Radiografia fetale eseguita dopo l'espletamento del parto, in proiezione antero-posteriore (E) e latero-laterale (F).

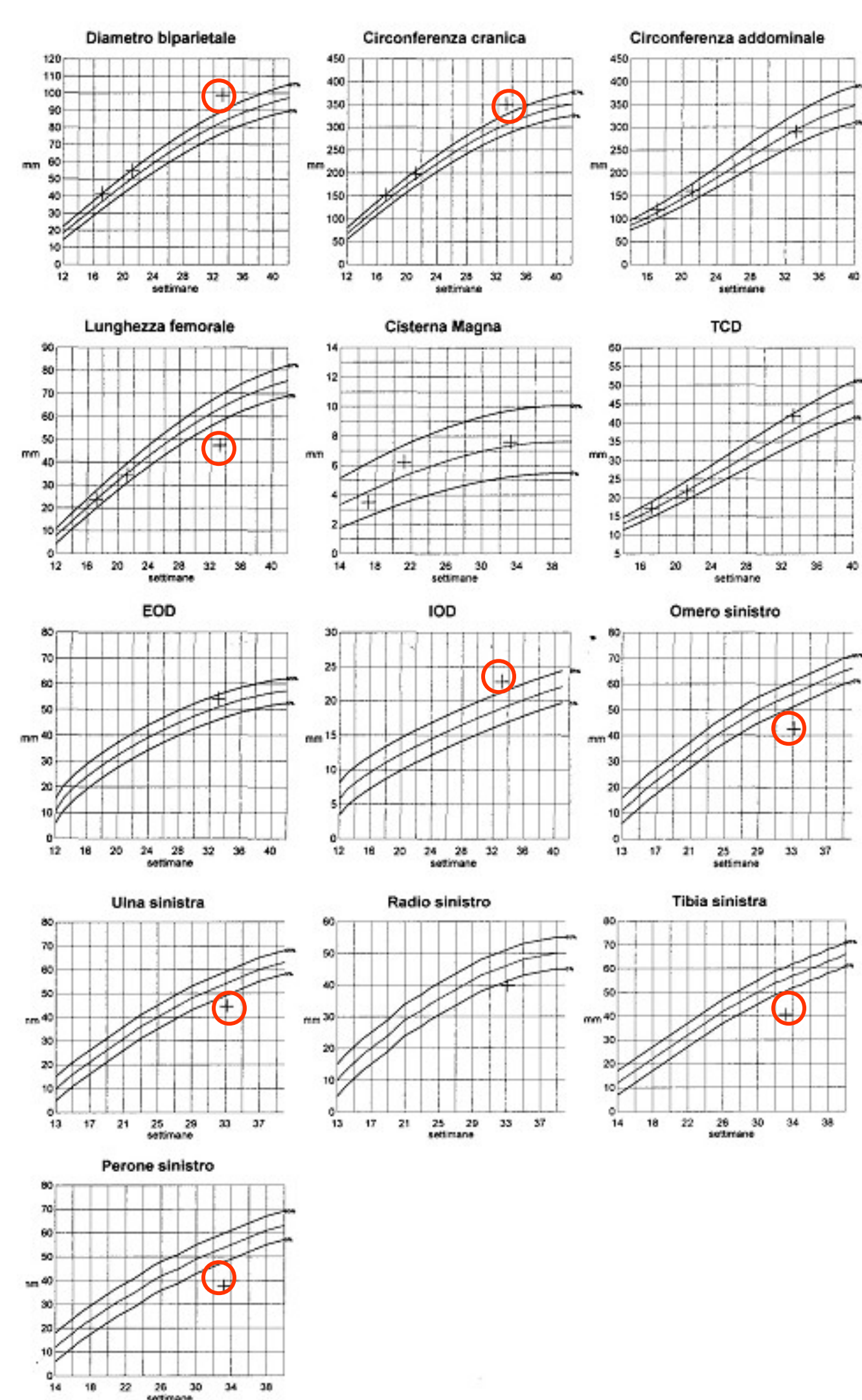


Fig. 2 Curve di accrescimento alla 33^o settimana + 1 giorno. I valori cerchiati di rosso indicano la biometria patologica

Risultato dell'analisi molecolare

L'esame ecografico suggeriva una displasia scheletrica non letale. Nonostante la peculiarità dell'aspetto del cranio, la presenza di femori estremamente corti indirizzava alla ricerca delle mutazioni del gene FGFR3, associate ad acondroplasia, iniziando dalla più frequente G380R. Il DNA fetale fu isolato direttamente da liquido amniotico. L'analisi della sequenza nucleotidica dell'esone 10 mostrava la presenza in eterozigosi della mutazione C>G al nucleotide 1138, molto più rara della mutazione G>A nt1138; anche in questo caso, tuttavia, la sostituzione aminoacidica risultante è G380R. Rilevato che il feto presentava la mutazione classica dell'acondroplasia, l'analisi della sequenza veniva estesa ai geni FGFR2 ed esone 7 del FGFR3, per la ricerca delle mutazioni descritte in diverse craniosinostosi. All'esone 7 del FGFR3 era presente la mutazione C>T al nucleotide 749 che porta alla sostituzione aminoacidica P250L, precedentemente trovata in un paziente con craniosinostosi di Muenke. L'analisi di restrizione confermava le due mutazioni.

Entrambe le varianti furono identificate nel feto come mutazioni "de novo", risultando infatti assenti nel DNA dei genitori.

Discussione

Abbiamo riportato il caso di un feto con acondroplasia e associata craniosinostosi. Dall'analisi molecolare del gene FGFR3 risultavano due mutazioni distinte: la mutazione tipica dell'acondroplasia, G380R, e una seconda mutazione de novo, P250L. La mutazione P250L è localizzata nella regione "linker" tra il secondo e il terzo dominio extracellulare "Ig-like" della proteina FGFR3. Il nucleotide sostituito, 749C, è un noto "hot spot" di mutazioni nel FGFR3. P250L fu descritta una sola volta in un paziente con craniosinostosi isolata (plagiocefalia). Sebbene l'espressività possa essere lieve non si discosta molto dal fenotipo causato dalla mutazione più frequente P250R; pertanto gli autori considerano entrambe le forme cliniche come craniosinostosi di Muenke. Solo di recente (Karadimas et al., 2006 Pren Diag 26:258-261) è stato riportato il primo caso, evidenziato in diagnosi prenatale, di acondroplasia, dovuta alla mutazione G380R, associata a craniosinostosi coinvolgente suture multiple (cranio a trifoglio). Tuttavia, gli autori presentavano soltanto il dato ecografico di questo secondo aspetto fenotipico. Nel nostro caso, l'estesa indagine molecolare permetteva di individuare la mutazione causa della craniosinostosi. Purtroppo, la mancata disponibilità di tessuto fetale per lo studio del cDNA non consentiva di determinare la segregazione delle due mutazioni, presumibilmente, avvenute indipendentemente.

Poiché il meccanismo patogenetico di entrambe le mutazioni si esprime con un guadagno di funzione, è possibile ipotizzare che esse possano interagire modulando l'espressione fenotipica. La mutazione P250L, sia in trans in eterozigosi composta, sia in cis nel contesto di un allele mutante complesso, spiegherebbe il sottotipo clinico particolare del feto da noi esaminato. La rarità delle displasie scheletriche non letali con un simile fenotipo combinato complica la consulenza genetica, soprattutto in sede prenatale, rendendo difficile formulare una prognosi. Ulteriori segnalazioni di casi clinici analoghi aiuterebbero a definire più chiaramente la correlazione genotipo-fenotipo.

I dati riportati suggeriscono che se in sede ecografica, oltre all'evidenza dei segni tipici dell'acondroplasia, sono presenti anomalie delle suture craniche è opportuno estendere l'analisi molecolare per l'identificazione di eventuali fenotipi più complessi.

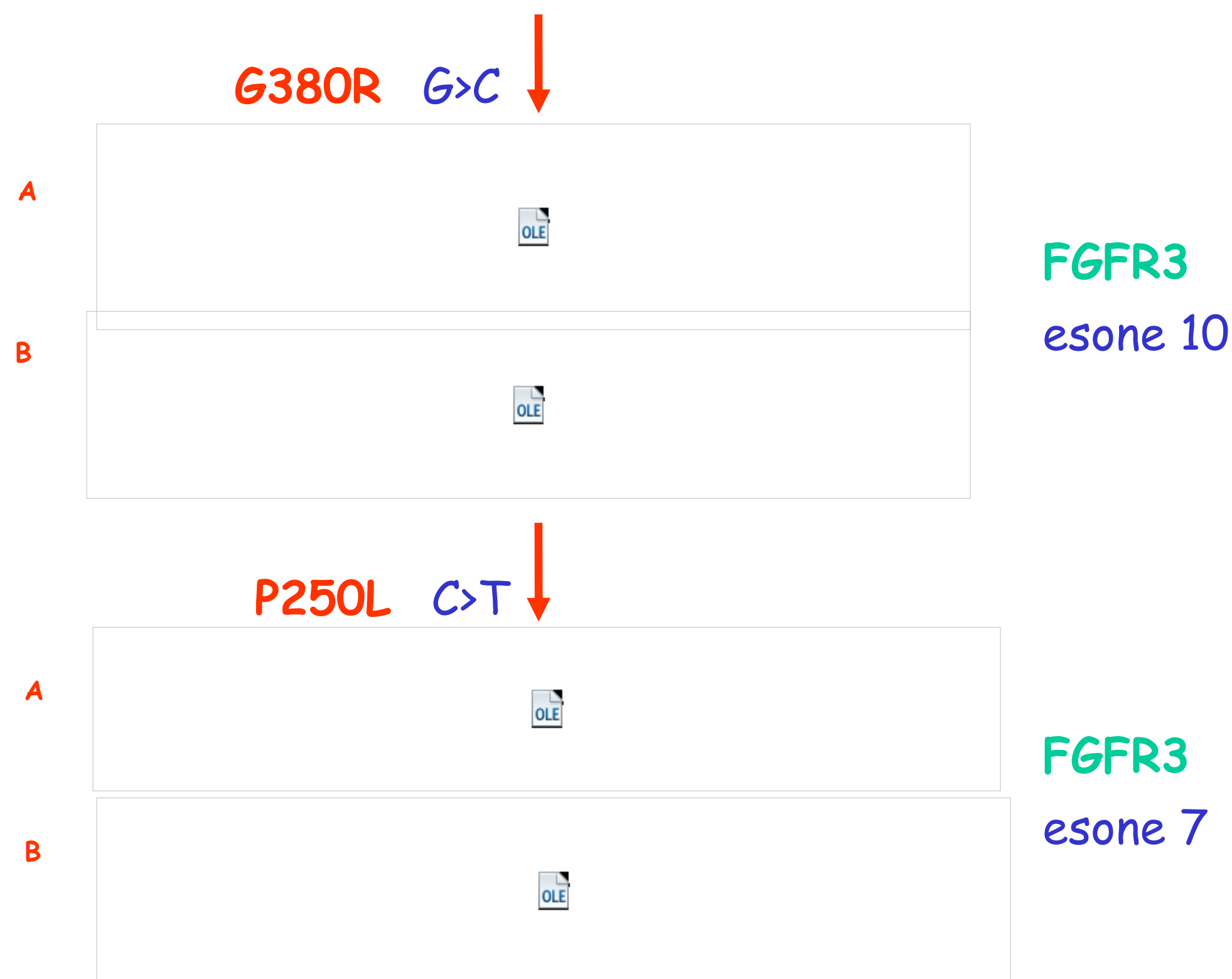


Fig. Elettroferogrammi dell'analisi di sequenza degli esoni 10 e 7. Entrambi mostrano: (A) la sequenza del DNA fetale con indicata la mutazione (B) la sequenza di controllo normale