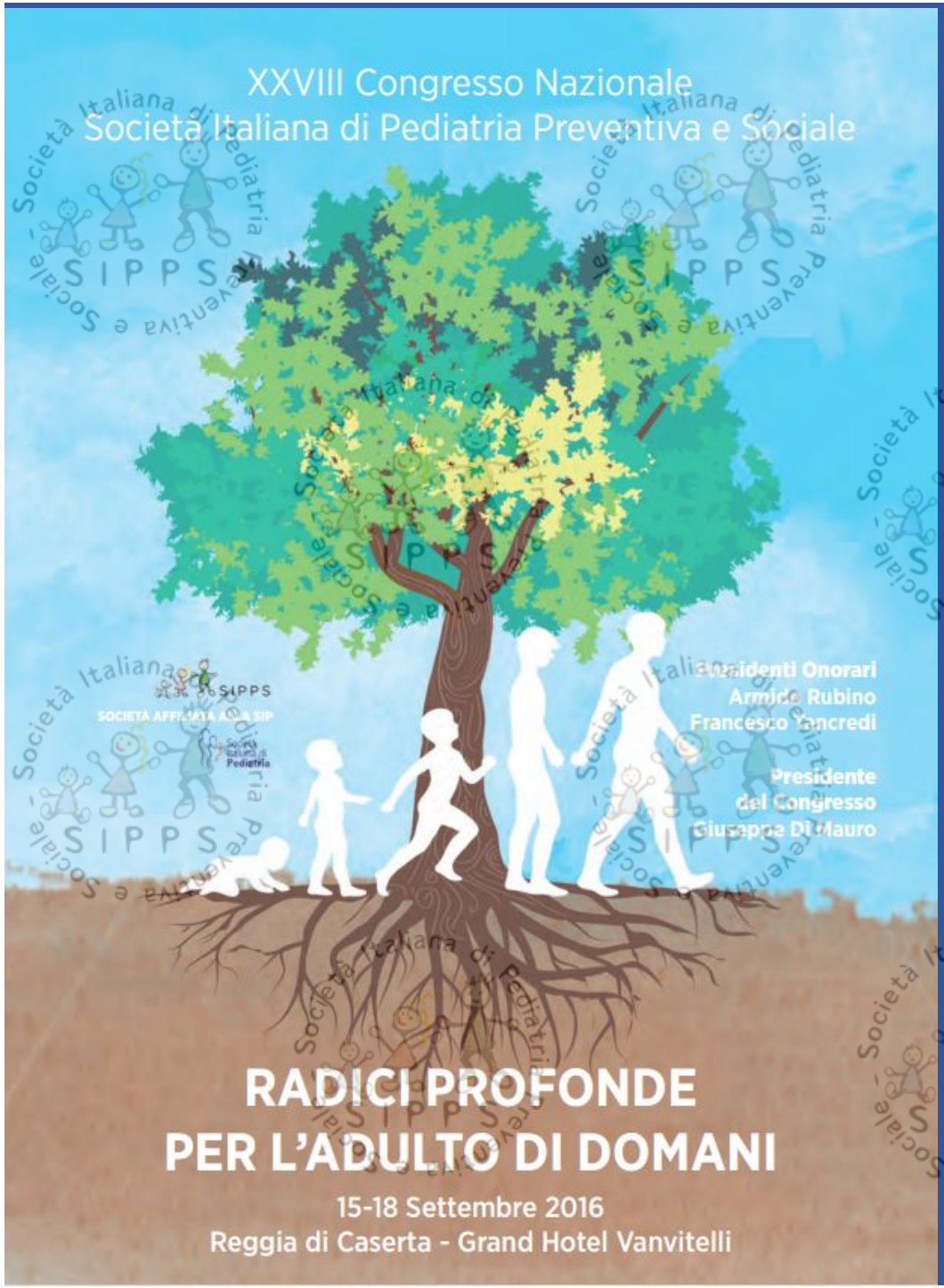


Quando il fenotipo non è compatibile con il genotipo

Laura Perrone

Dipartimento della Donna, del Bambino, di Chirurgia Generale e Specialistica

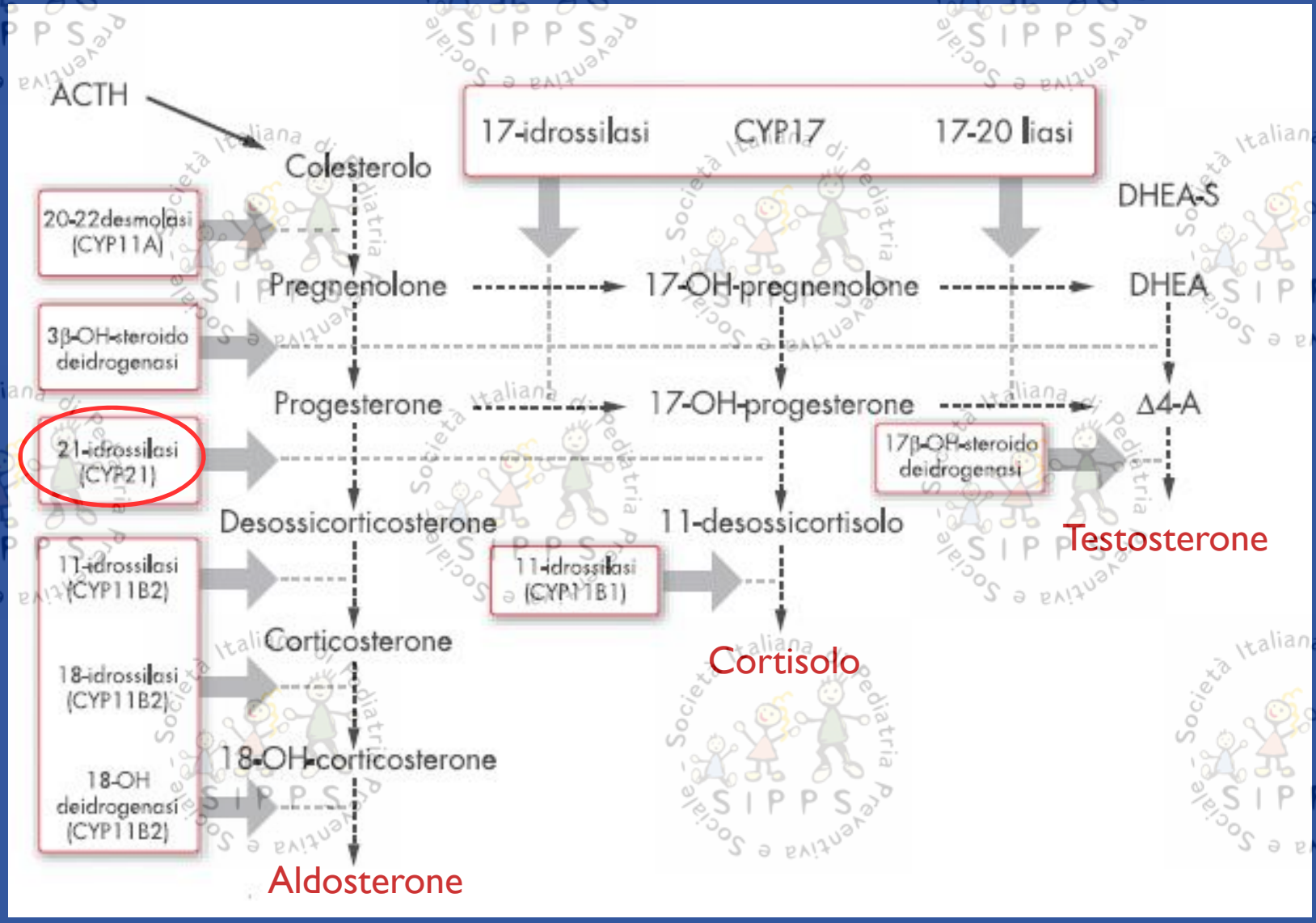
Seconda Università degli Studi di Napoli

Che cos'è la sindrome adreno genitale (SAG)?

- Per SAG si intende un quadro clinico legato a un difetto di una delle tappe enzimatiche della steroidogenesi

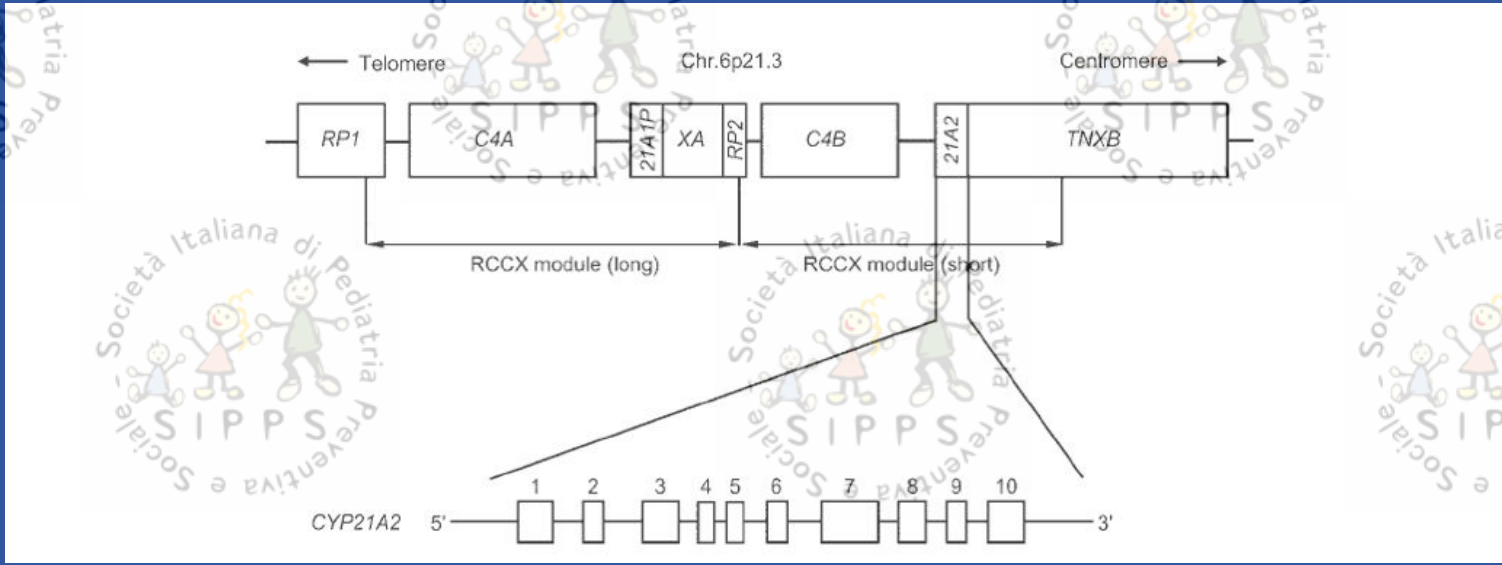
- Malattia ereditaria a trasmissione Autosomica Recessiva

STEROIDOGENESI



DEFICIT DI 21-IDROSSILASI

- ✓ E' responsabile del 95% dei casi di SAG
- ✓ L'enzima è codificato da due geni: CYP21A2 e lo pseudogene (CYP21A1P), localizzati nella regione del HLA di classe III, sul braccio corto del cromosoma 6 (locus 6p21.3)

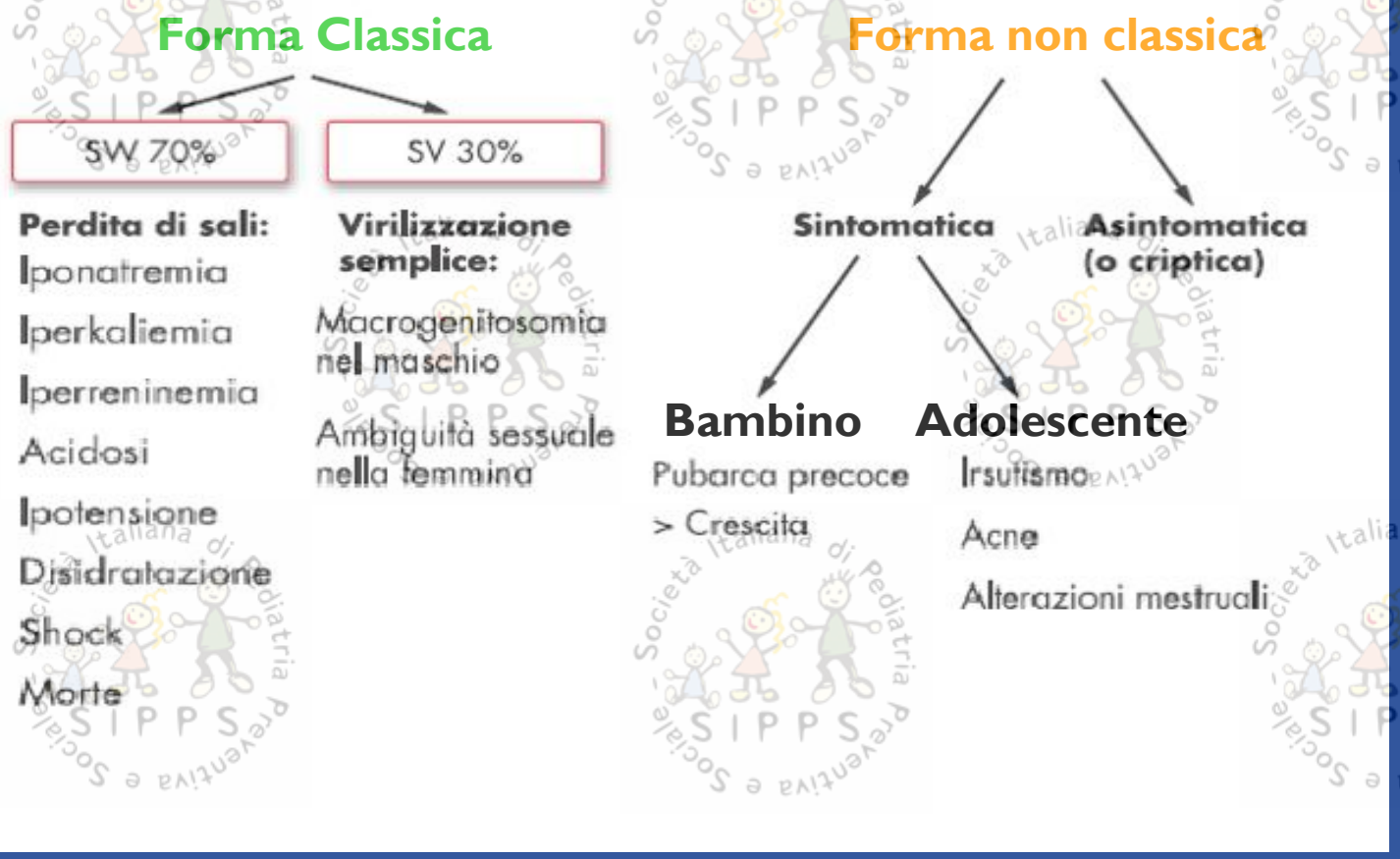


EPIDEMIOLOGIA

La malattia viene distinta in due forme:

- Forma classica, con presentazione neonatale, distinta ulteriormente in forma con Perdita di Sali (SW) e Virilizzante Semplice (SV). Colpisce tra 1:10000 e 1:15000 nati vivi nella popolazione generale
- Forma non classica, ad esordio tardivo, con fenotipo estremamente variabile a seconda del sesso. Ha un'incidenza di 1:1000 nella popolazione Caucasica

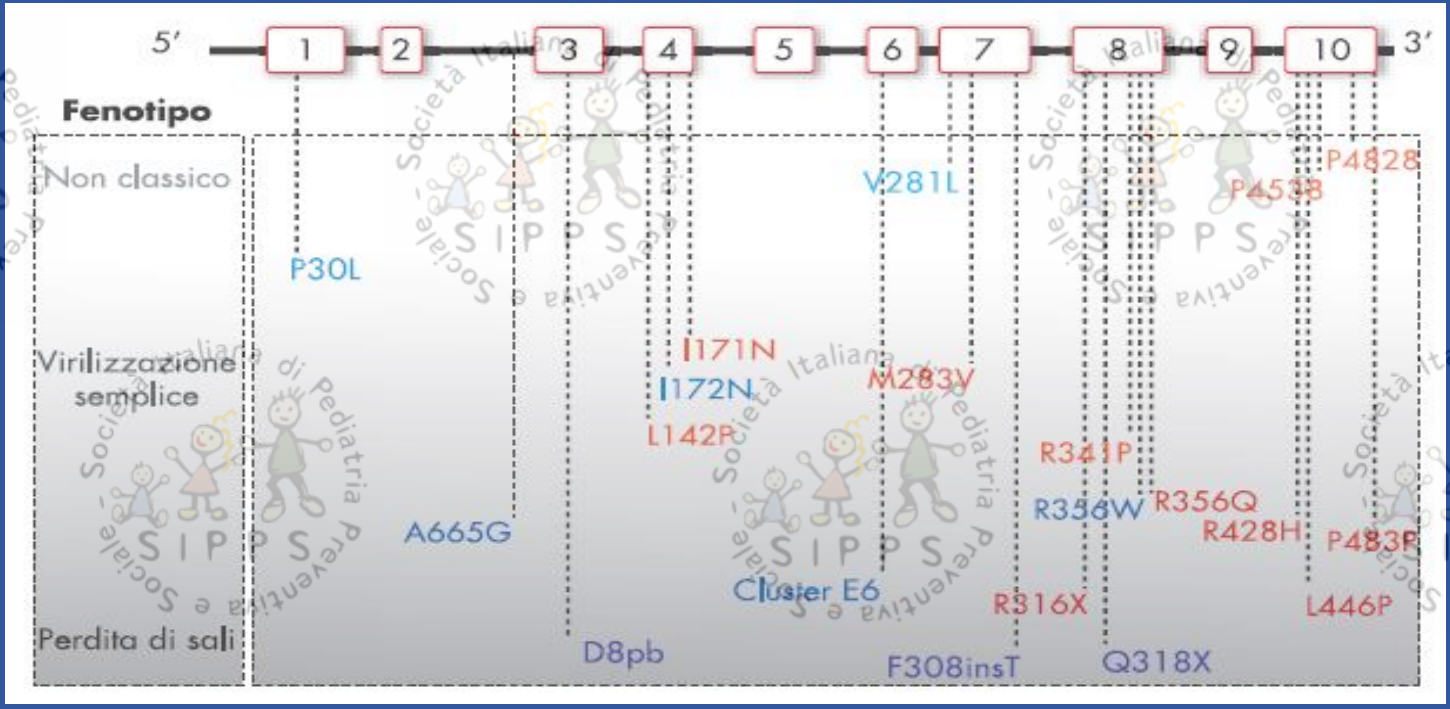
PRESENTAZIONE CLINICA



GENETICA

Eterogeneità genetica → Variabilità fenotipica

Mutazioni diverse → Differente attività enzimatica residua



CASO CLINICO

Giunge alla nostra osservazione all'età di 18 mesi per follow-up clinico e terapeutico…

Terapia in corso per SAG:

- ***Hydrocortisone : 5 mg/die***
- ***Florynef : 0.025 mg***

Caso clinico

Piccolo di 5 anni e 8 mesi con diagnosi prenatale di SAG classica con perdita di sali, ma…

Anamnesi familiare

Il fratello maggiore del probando all'età di 15gg veniva ricoverato per la presenza di:

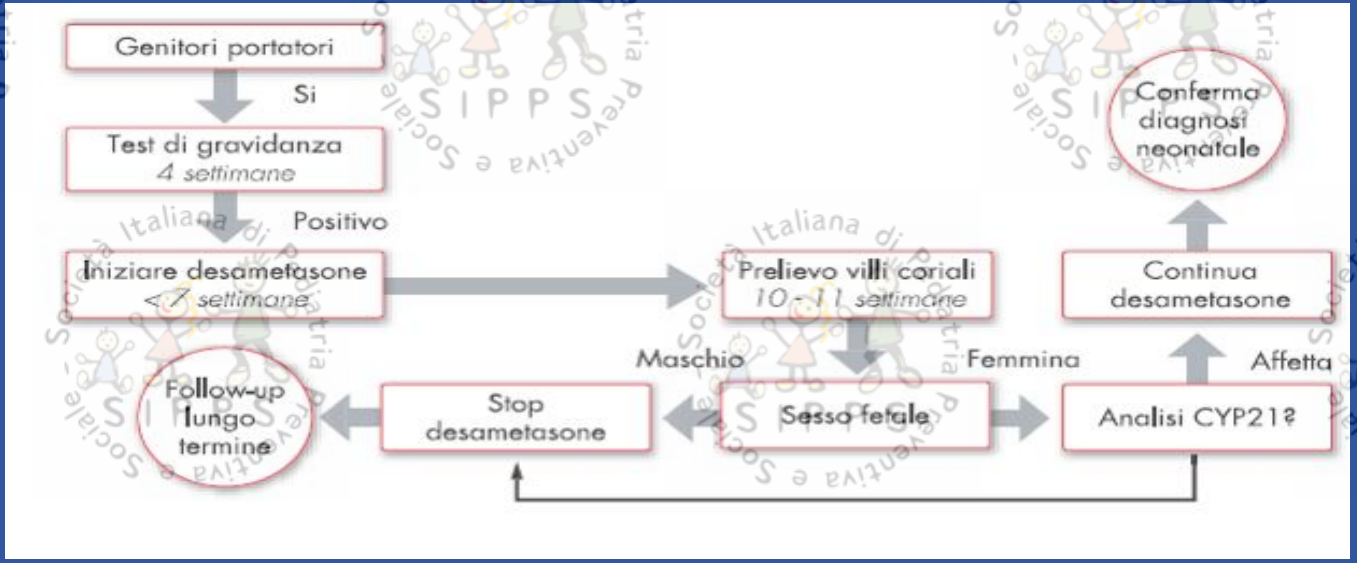
- Iperpigmentazione dello scroto
- Disidratazione grave
- Iponatremia e Iperpotassiemia

Diagnosi genetica di SAG classica con Perdita di Sali

Eterozigote composto per due mutazioni una di origine paterna *g.655A/C>G* ed un'altra di origine materna *p.Q318X*

Gestione prenatale

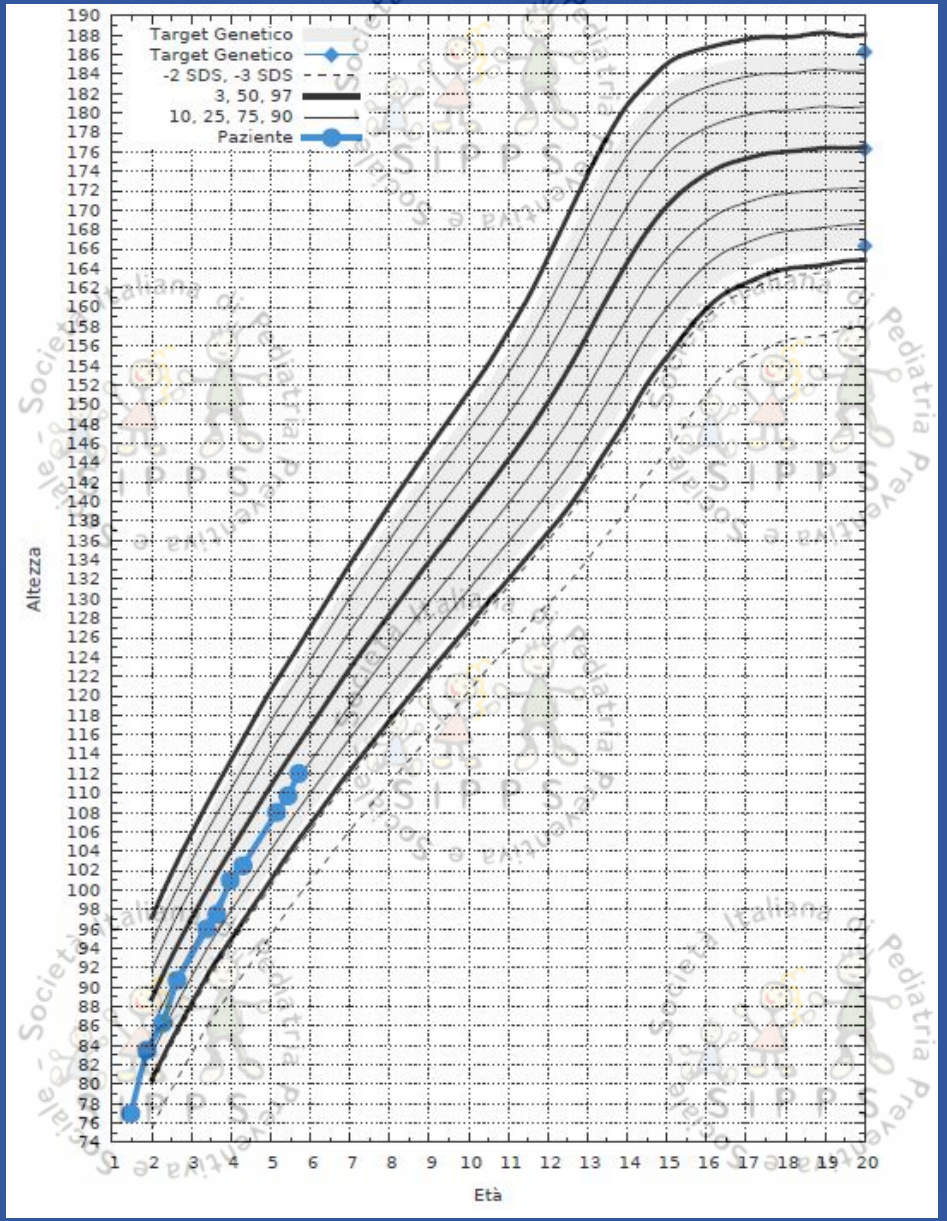
- Durante la gravidanza successiva la madre ha praticato uno screening prenatale per SAG tramite villocentesi
- L'indagine è risultata positiva per mutazione e pertanto è stata posta diagnosi di SAG per il feto
- Inoltre avendo il feto un cariotipo di tipo maschile non è stata intrapresa alcuna terapia sostituiva per la madre



5 anni e 8 mesi

- ✓ Crescita sempre regolare
- ✓ Valori estremamente bassi del 17OH-progesterone nonostante…
- ✓ Terapia con idrocortisone a dosaggio basso per la patologia (5mg/mq/die vs 10-15 mg/mq/die)

➡ Ripete indagine molecolare a conferma della diagnosi prenatale



Nuova Indagine Genetica

- ✓ Metodica: amplificazione genica (PCR) e sequenziamento diretto
- ✓ Conferma la presenza di entrambe le mutazioni in eterozigosi rilevate nel fratello affetto
- ✓ Continua terapia sostitutiva a basso dosaggio in contrasto con il follow-up clinico-laboratoristico…

Fenotipo vs Genotipo ???

Considerata l'incongruenza tra il quadro clinico-laboratoristico del paziente e la patologia si decide di eseguire una ulteriore indagine genetica con metodica codificante per un allele wild-type

L'indagine genetica evidenzia la presenza di tre alleli del gene CYP21A2: due alleli mutati più una duplicazione in trans

quantitativa (MLPA) per ricercare eventuali duplicazioni del gene CYP21A2…

Il paziente non è affetto!!!

Come si spiega tale fenomeno?

Erroneous prenatal diagnosis of congenital adrenal hyperplasia owing to a duplication of the *CYP21A2* gene

O Lekarev[1], K Tafuri[2], AH Lane[2], G Zhu[1], JM Nakamoto[3], AM Buller-Burckle[3], TA Wilson[2] and MI New[1]

Congenital adrenal hyperplasia (CAH) is an autosomal recessive disorder where steroidogenesis in the adrenal cortex is impaired. The most common form is caused by 21-hydroxylase deficiency (21OHD). Classical 21OHD is characterized by glucocorticoid and mineralocorticoid deficiency and by overproduction of adrenal androgens. The diagnosis rests on biochemical and genetic analyses. In families with history of CAH, prenatal genetic diagnosis is offered. We herein present a case of an infant whose parents were identified to carry mutations on the *CYP21A2* gene. The fetal DNA analysis demonstrated that the fetus carried a paternal exon 8 (Q318X) mutation and a maternal exon 8 (R356X) mutation. The fetus was presumed to be affected with CAH, yet his clinical presentation at birth was not consistent with the diagnosis. Repeated genetic analysis identified a paternal *CYP21A2* gene duplication with Q318X mutation on one copy of *CYP21A2*. We conclude that a duplication of the *CYP21A2* gene should be suspected when clinical and hormonal findings do not support the genetic diagnosis. Furthermore, because individuals with Q318X mutation frequently have a duplication of the *CYP21A2* gene, when Q318X is detected, it is important to distinguish the severe point mutation in single gene copy alleles from the non-deficient variant in gene-duplicated alleles.

Journal of Perinatology (2013) 33, 76–78; doi:10.1038/jp.2012.5

Mutazione Q318X

Duplicazione di CYP21A2

Aplotipo trimodulare e mutazione Q318X

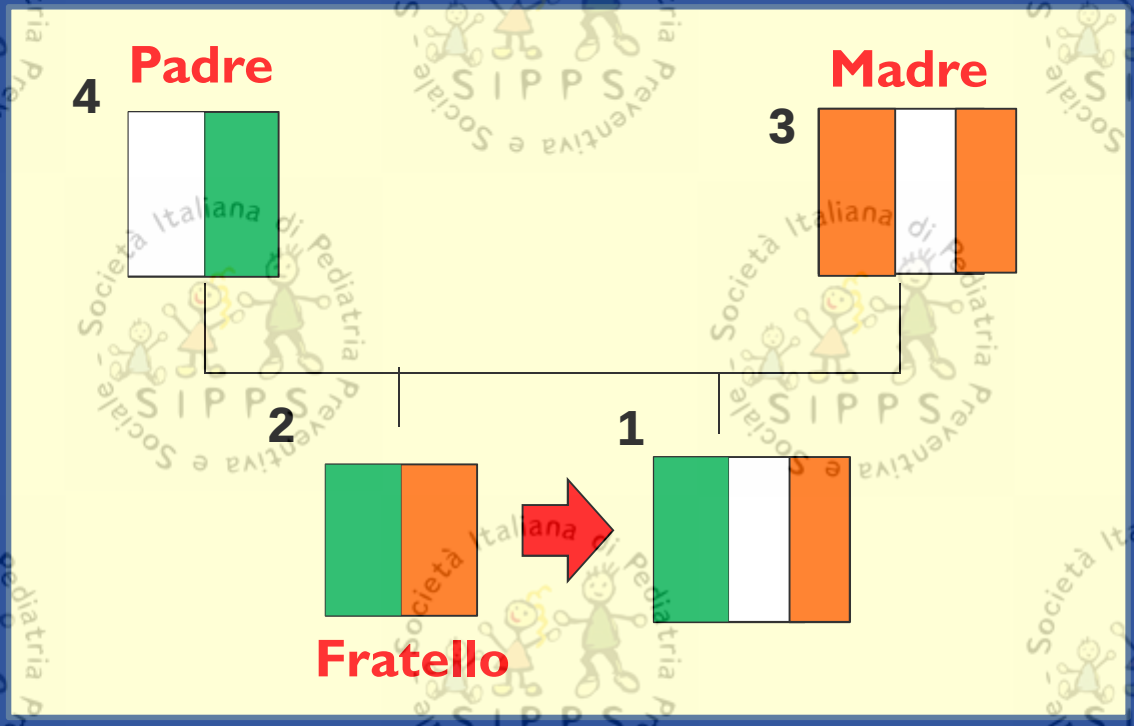
Circa l'84% degli individui che presenta
un
ha

I s
Q
se
te
cli

La duplicazione del gene garantisce la presenza di un *allele funzionalmente normale*!!!

Kleinle S et al "Duplications of the functional CYP21A2 gene are primarily restricted to Q318X allels:evidence for a founder effect" J Clin Endocrinol Metab 2009

Perché i due fratelli hanno un fenotipo differente…



p.Q318X

g. 655A/C>G

Wild-type

1. **Tre alleli CYP21A2**: il gene duplicato porta la mutazione p.Q318X di origine materna, l'altro allele la mutazione g.655A/C>G
2. **Due alleli CYP21A2**: eterozigote composto, una di origine paterna g.655A/C>G ed un'altra di origine materna p.Q318X senza duplicazione
3. **Tre alleli CYP21A2**: la mutazione p.Q318X è presente su entrambi gli alleli ma uno dei due è portatore della duplicazione
4. **Due alleli**: Mutazione g. 655A/C>G in eterozigosi

CONCLUSIONI

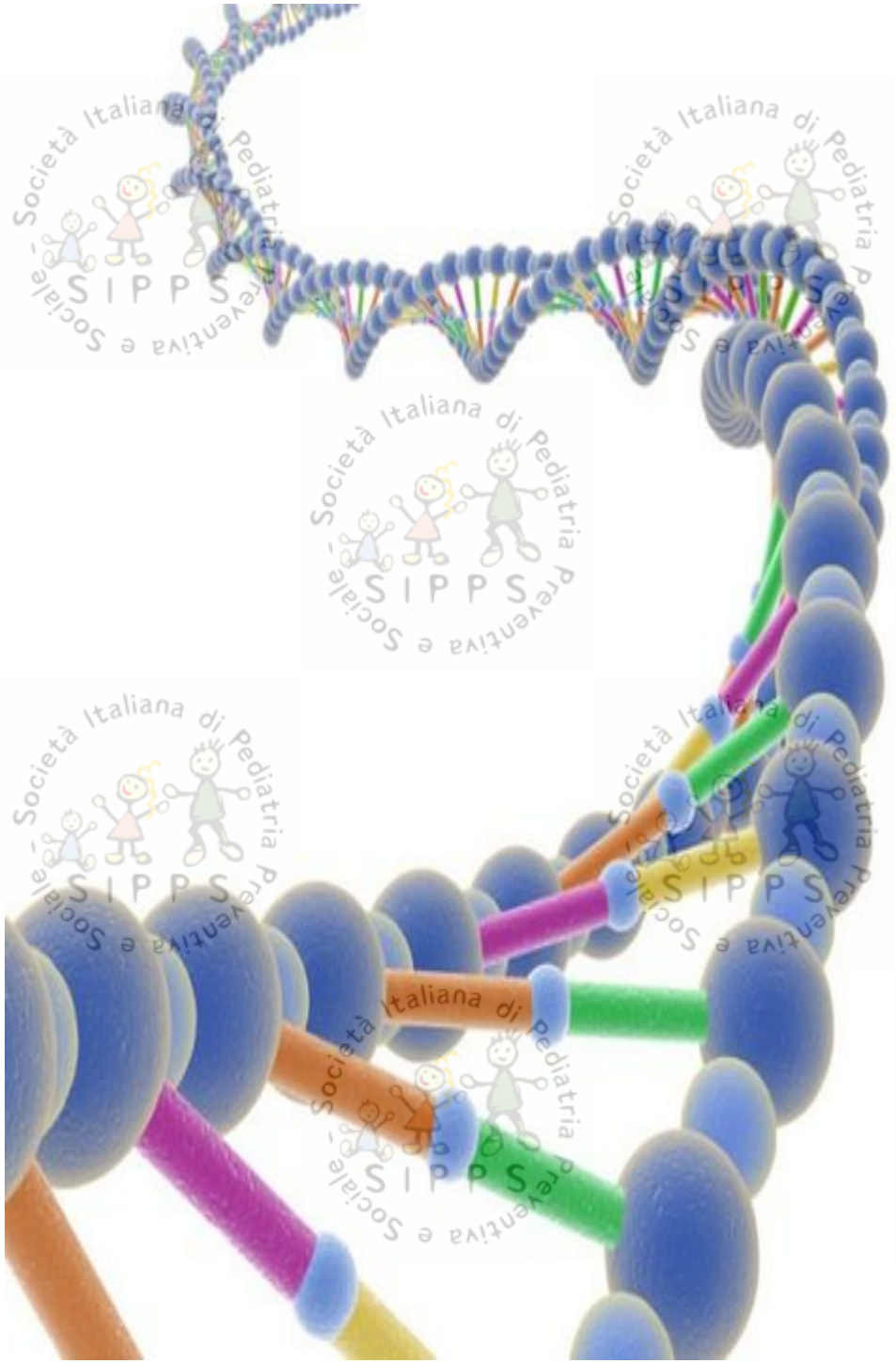
✓ Il gene funzionale CYP21A2 e il suo pseudogene CYP21A1P sono localizzati in una regione estremamente polimorfa del genoma , ad alto tasso di ricombinazioni.

✓Tale complessità si riflette nella grande variabilità clinica della condizione e nella difficoltà di eseguire una corretta diagnosi genetica.

CONCLUSIONI

- ✓ Pertanto è necessario eseguire il test genetico in centri specializzati, in grado di offrire le migliori metodiche d'indagine.

- ✓ Se vi è discordanza tra diagnosi genetica e quadro clinico-laboratoristico è importante ripetere l'esame genetico, integrando il sequenziamento genico con la MLPA in presenza della mutazione Q318X.



GRAZIE PER L'ATTENZIONE!