

La sindrome di Prader-Willi

Luciano BECCARIA (a), Laura BOSIO (a), Francesca BENZI (a), Palma BREGANI (a), Irune ACHUTEGUI (a), Giuseppe CHIUMELLO (a), Chiara LIVIERI (b), Giuliana TRIFIRÒ (c), Teresa de TONI (d), Lorenzo IUGHETTI (e), Letizia RAGUSA (f), Alessandro SALVATONI (g), Giorgio TONINI (h), Andrea CORRIAS (i) e Antonino CRINÒ (l)

(a) *Clinica Pediatrica III, Centro di Endocrinologia Infantile e dell'Adolescenza, IRCCS Istituto Scientifico H San Raffaele, Università degli Studi, Milano*

(b) *Dipartimento di Scienze Sanitarie Applicate e Psicocomportamentali, Università degli Studi, Pavia*

(c) *Reparto di Endocrinologia, Ospedale "Luigi Sacco", Milano*

(d) *Dipartimento di Pediatria, Università di Genova, Istituto "Giannina Gaslini", Genova*

(e) *Clinica Pediatrica, Università degli Studi, Modena*

(f) *Servizio di Endocrinologia, IRCCS Oasi Maria S.S., Troina, Enna*

(g) *Clinica Pediatrica, Università degli Studi dell'Insubria, Varese*

(h) *Centro di Endocrinologia e Auxologia, IRCCS Istituto per l'Infanzia Burlo Garofolo, Trieste*

(i) *Divisione di Endocrinologia Pediatrica, Ospedale Infantile "Regina Margherita", Torino*

(l) *Divisione di Endocrinologia, IRCCS Ospedale "Bambino Gesù", Roma*

Riassunto. - La sindrome di Prader-Willi (PWS) è la causa più frequente di obesità secondaria ed è caratterizzata da ipotonia neonatale, note dismorfiche, acromicria, ipogonadismo, iposomia, obesità, turbe comportamentali e ritardo mentale. La diagnosi clinica di PWS può essere confermata dalla mancanza del contributo paterno per la regione 15q11-13 (per delezione, disomia uniparentale materna, traslocazione o mutazione dell'*imprinting center*) evidenziabile tramite test di metilazione. L'articolo illustra le tecniche diagnostiche, gli aspetti clinici, metabolici, endocrinologici nonché le più frequenti complicanze che si osservano in tale sindrome. Una diagnosi precoce ed un approccio multidisciplinare consentono in tali pazienti di prevenire l'instaurarsi di una obesità severa e delle sue conseguenti gravi complicanze.

Parole chiave: sindrome di Prader-Willi, genetica, malattie endocrine.

Summary (Prader-Willi syndrome). - Prader-Willi syndrome (PWS) is the most frequent cause of secondary obesity, characterized by neonatal hypotonia, dysmorphic facies, acromicria, hypogonadism, stunted growth, obesity, behavioural disturbances and cognitive impairment. Clinical diagnosis is confirmed by alteration of imprinted genes on the proximal long arm of chromosome 15 (15q11-13) for deletion, translocation, uniparental disomy for maternal chromosome 15 or imprinting center defect. Methylation test is the most reliable test for diagnosis. This issue explains diagnostic tests, clinical, metabolic, endocrinological features, and the most frequent complications observed in this syndrome. Precocious diagnosis and multidisciplinary approach allow in these patients to prevent the severe obesity and linked complications.

Key words: Prader-Willi syndrome, genetics, endocrine disease.

Aspetti clinici e criteri diagnostici

La sindrome di Prader-Willi (PWS) è una malattia genetica causata da una alterazione del cromosoma 15. Colpisce in eguale misura entrambi i sessi con una incidenza di circa 1:10000 nati ma la sua reale prevalenza è comunque sottostimata a causa della scarsa conoscenza della malattia.

La diagnosi infatti viene effettuata ancora con ritardo pur in presenza di criteri clinici diagnostici abbastanza attendibili.

Il quadro clinico è spesso incompleto nei primi anni di vita ed alcuni dei segni caratteristici si manifestano solo negli anni successivi.

In una prima fase, che va dalla nascita fino all'età di 2-3 anni, è caratteristica l'ipotonia neonatale, le difficoltà di alimentazione, il ritardo psicomotorio e il criptorchidismo con ipoplasia dei genitali (nel maschio). Possono essere presenti alcuni tratti somatici caratteristici, che però si renderanno più evidenti con il tempo.

L'ipotonia è presente alla nascita, potendosi peraltro evidenziare già in utero con ridotti movimenti fetali, ed è responsabile di una suzione poco valida che rende a volte necessaria una alimentazione con sondino. Essa comincia a migliorare dopo gli 8-11 mesi di età.

Nella seconda fase, che va dai 3 anni in poi, si assiste ad un aumento incontrollato dell'appetito associato a ridotta sensazione di sazietà che spinge il paziente a

rubare il cibo e ad alimentarsi di tutto quanto possa essere facilmente disponibile (sia in casa che fuori); in pochi anni si instaura una obesità di grado elevato particolarmente resistente al trattamento dietetico e farmacologico.

Essa condiziona la comparsa di gravi complicanze particolarmente respiratorie e cardiovascolari e di alterazioni metaboliche tra cui il diabete mellito non insulino-dipendente e le dislipemie, in grado di peggiorare notevolmente la prognosi di tali pazienti.

Lo sviluppo puberale, in entrambi i sessi, è quasi sempre del tutto assente o ritardato ed è presente un ritardo mentale di grado variabile ma generalmente non grave.

Con il tempo diventano più evidenti le turbe del carattere e del comportamento e si alternano momenti di tranquillità a momenti di irritabilità e scatti d'ira incontrollabili. Generalmente questi atteggiamenti sono scatenati dalle limitazioni dell'introito calorico alle quali i pazienti dovrebbero rigidamente attenersi.

Una peculiare abitudine di questi bambini è quella di "stuzzicarsi" di continuo ogni minima escoriazione della pelle determinando così la formazione di lesioni cutanee croniche che vanno incontro facilmente a sovrainfezioni batteriche.

Può essere presente una instabilità della temperatura corporea e un'elevazione della soglia del dolore. La saliva è densa e viscosa associata a importante carie dentaria. Le mani e/o i piedi possono essere caratteristicamente piccoli (acromicria), sono presenti i problemi ortopedici (scoliosi e cifosi più o meno grave), lo strabismo e una lipodistrofia agli arti inferiori.

La bassa statura è un'altra caratteristica della sindrome e comincia ad evidenziarsi dopo il 6°-7° anno di vita con ulteriore peggioramento durante la pubertà a causa del ridotto *spurt* puberale.

Molte delle caratteristiche della sindrome possono essere riferibili ad una alterazione della regione ipotalamo-ipofisaria anche se non sono state evidenziate particolari lesioni organiche alla TAC o alla risonanza magnetica.

La diagnosi di sindrome di Prader-Willi è inizialmente clinica e si basa sui criteri clinico-anamnestici di Holm e Cassidy (Tab. 1).

Tali criteri sono stati suddivisi in: 8 maggiori (1 punto ciascuno), 11 minori (1/2 punto ciascuno) e 9 aggiuntivi (non fanno punteggio ma aumentano la probabilità della diagnosi).

Tra i criteri maggiori non devono essere incluse le indagini genetiche di biologia molecolare (test di metilazione, FISH, ecc.) che sono invece essenziali per confermare la diagnosi clinica precedentemente sospettata utilizzando i suddetti criteri.

La citogenetica ad alta risoluzione, in passato utilizzata per la diagnosi di PWS, viene effettuata solo per evidenziare alcuni riarrangiamenti cromosomici e in particolare le traslocazioni del cromosoma 15.

Per la diagnosi clinica di PWS è necessario un punteggio superiore a 5 (di cui almeno 4 criteri maggiori) per i soggetti di età inferiore a 3 anni e un punteggio superiore a 8 (di cui 5 criteri maggiori) per i soggetti di età maggiore di 3 anni. Il punteggio che deriva da tale valutazione clinica e anamnestica è risultato altamente correlato con i risultati delle indagini genetiche [1-4].

Aspetti genetici

Sin dal 1976 è stato ipotizzato che anomalie cromosomiche che interessavano il cromosoma 15 potessero essere all'origine della sindrome di Prader-Willi. Nel 1981 Ledbetter *et al.* (*N. Engl. J. Med.* **304**: 325-329) hanno descritto alcuni pazienti portatori di una delezione interstiziale a carico del braccio lungo del cromosoma 15 (15q11-13). Successivamente è stato dimostrato utilizzando il cariotipo ad alta risoluzione che il fenotipo della PWS era dovuto nel 70% dei casi ad una delezione, nel 4% a duplicazioni o traslocazioni, mentre il restante 25% circa presentava un cariotipo normale.

Le tecniche di biologia molecolare hanno confermato che il cromosoma 15 deletato nei pazienti con PWS era sempre quello di origine paterna e che quindi la sindrome è dovuta alla mancanza di contributo paterno per la regione 15q11-q13. Da notare invece che la mancanza del contributo materno per la stessa regione cromosomica dà luogo invece alla sindrome di Angelman che si presenta con un fenotipo completamente differente.

Recentemente è stato isolato il gene SNRPN (*small nuclear ribonucleoprotein polypeptide N*) che sembra coinvolto nella genesi della PWS.

Le alterazioni del cromosoma 15 riscontrate in tale sindrome sono in realtà dovute a 3 differenti meccanismi:

1) delezione della regione 15q11-q13: si riscontra in circa il 70% dei casi nei quali risulta una delezione del frammento q11-q13 sul cromosoma 15. Il cromosoma che presenta la delezione è sempre quello di origine paterna, per cui mancheranno quei geni normalmente funzionanti sul cromosoma 15 paterno necessari per un normale sviluppo;

2) disomia uniparentale materna (*uniparental disomy*, UPD): si riscontra in circa il 28% dei casi. Entrambi i cromosomi 15 sono di origine materna; manca quindi il contributo paterno per l'assenza dell'intero cromosoma 15 dove sono presenti i geni attivi della regione 15q11-q13;

3) mutazione del centro dell'imprinting (IC): tali pazienti non presentano né una delezione né una UPD. Sono casi abbastanza rari (circa l'1-2%). In questi casi l'alterazione è più fine in quanto coinvolge esclusivamente un piccolo frammento che regola l'espressione dei geni circostanti (detto centro dell'*imprinting*). Il funzionamento corretto di questa regione permette l'espres-

Tabella 1. - Criteri di Holm e Cassidy per la diagnosi clinica di sindrome di Prader-Willi*Criteri maggiori (1 punto)*

- Ipotonia neonatale (di origine centrale)
- Problemi alimentari nell'infanzia
- Obesità centrale
- Tratti somatici caratteristici
- Ipogonadismo
- Deficit mentale e ritardato sviluppo psicomotorio
- Problemi comportamentali connessi con l'alimentazione (iperfagia, ricerca ossessiva di cibo)

Criteri minori (1/2 punto)

- Riduzione dei movimenti fetali, letargia, pianto debole
- Caratteristiche comportamentali
- Disturbi del sonno
- Bassa statura
- Ipopigmentazione
- Acromicria
- Mani affusolate con margine ulnare rettilineo
- Anomalie oculari
- Saliva densa e vischiosa con croste agli angoli della bocca
- Difetti nell'articolazione delle parole
- Lesioni cutanee da grattamento (*skin picking*)

Criteri aggiuntivi (non danno punteggio ma rendono la diagnosi più probabile)

- Elevata soglia del dolore
- Diminuito senso del vomito
- Alterazioni della termoregolazione
- Scoliosi
- Cifosi
- Adrenarca precoce
- Osteoporosi
- Abilità nei giochi di pazienza (puzzle)
- Normali indagini neuromuscolari

I criteri aggiuntivi non danno punteggio ma rendono più probabile la diagnosi.

sione dei geni della regione 15q11-q13 di origine paterna. Quando il centro dell'imprinting è mutato i geni che dovrebbero essere espressi dal cromosoma paterno non lo saranno più con la conseguenza finale analoga a quella della delezione o della disomia uniparentale.

Vanno anche ricordate le traslocazioni che interessano il cromosoma 15q11-q13 (circa l'1% dei casi). In tali pazienti è necessario estendere lo studio ai genitori. Il meccanismo attraverso cui questa anomalia determina il fenotipo è sempre riconducibile alla delezione o alla mancanza della regione 15q11-q13 di origine paterna.

In caso di delezione l'anomalia genetica insorge durante la spermatogenesi; in tali casi si determina una perdita della porzione 15q11-q15. In caso di UPD l'alterazione sembra avvenire primitivamente per una non-disgiunzione nella meiosi materna formandosi così uno zigote trisomico, che successivamente perde il cromosoma 15 paterno. Si ha così una disomia uniparentale materna del cromosoma 15.

Non è stata ancora dimostrata una causa esterna all'origine delle alterazioni genetiche riscontrate nella PWS, né si è a conoscenza di fattori di rischio che possa-

no indurre negli spermatozoi il tipo di alterazione genetica responsabile della sindrome.

Le analisi citogenetiche convenzionali (cariotipo ad alta risoluzione) non sono più appropriate per la diagnosi: è infatti possibile che venga evidenziata una delezione al cariotipo in pazienti che in realtà non hanno la PWS e, viceversa, che non si evidenzia la delezione in soggetti in cui le indagini di biologia molecolare risultano positive.

Le analisi molecolari del DNA permettono invece di confermare o escludere la diagnosi di PWS con certezza e sono le seguenti:

1) il test di metilazione viene effettuato mediante tecnica del southern blotting utilizzando la sonda PW71 in grado di rilevare la differente metilazione presente nella regione critica per gli omologhi parentali e si effettua su un campione di sangue del paziente. Esso risulta positivo in tutti i casi di PWS. La negatività del test esclude la diagnosi. Tuttavia il test non è in grado di distinguere i pazienti con delezione da quelli con UPD. E' positivo anche nei soggetti con mutazioni dell'imprinting;

2) FISH (*fluorescence in situ hybridization*) è una tecnica di citogenetica molecolare che utilizza la sonda SNRPN o D15S10 in grado di identificare solo i casi dovuti a delezione del cromosoma 15 e pertanto da sola è in grado di diagnosticare il 70% dei soggetti con PWS;

3) l'analisi dei microsatelliti mediante *polymerase chain reaction* (PCR) è una indagine molecolare che permette il confronto tra loci polimorfici della regione 15q11-q13 del bambino e quelli analoghi di entrambi i genitori consentendo così l'identificazione di un esclusivo contributo materno per la regione in esame (per disomia uniparentale o delezione del cromosoma paterno). Essa è in grado di riconoscere i casi con UPD e quelli con mutazione dell'*imprinting center*. Con tale metodica è però necessario un campione di sangue anche di entrambi i genitori.

Al momento il test di metilazione rappresenta il metodo di scelta per una rapida diagnosi dei pazienti con sospetta sindrome di Prader-Willi.

Il cariotipo è comunque sempre necessario per identificare i casi con riarrangiamenti cromosomici (traslocazioni o cromosomi soprannumerari) che coinvolgono la regione 15q11-q13.

Qualora il test di metilazione risulti patologico si dovrà effettuare una FISH alla ricerca di una delezione. L'assenza di tale alterazione in un paziente con test di metilazione anomalo sarà fortemente suggestivo di UPD. Tale sospetto tuttavia dovrà essere confermato attraverso l'uso dei microsatelliti (PCR), in quanto l'assenza di una delezione o di una disomia uniparentale in un paziente con metilazione anomala sarebbe suggestivo di una mutazione dell'*imprinting center* con conseguente variazione del rischio di ricorrenza familiare (Fig. 1).

E' opportuno inoltre accertare la reale anomalia del cromosoma 15 poiché recentemente alcuni lavori hanno evidenziato delle differenze nel quadro clinico dei pazienti PWS a seconda dell'assetto genetico. In particolare i soggetti con UPD hanno delle caratteristiche facciali meno evidenti rispetto ai pazienti con delezione, non presentano il fenomeno dello *skin picking* né l'ipopigmentazione che frequentemente si ritrova invece nell'altro tipo di pazienti; si ipotizzano inoltre delle differenze riguardo al grado di sviluppo mentale, a particolari attitudini comportamentali ed ad eventuali complicanze [5-13].

Consulenza genetica e rischio di ricorrenza

La sindrome di Prader-Willi è generalmente sporadica. Nel caso di una delezione o una disomia uniparentale il rischio di ricorrenza è dell'1% circa. Una ricorrenza familiare della PWS è stata accertata solo nei casi (per altro rari) di anomalie cromosomiche complesse, nei casi di traslocazione coinvolgenti la regione 15q11-q13 e soprattutto in caso di mutazioni dell'*imprinting center*. In tale situazione bisogna estendere lo studio alla famiglia (ramo paterno) alla ricerca

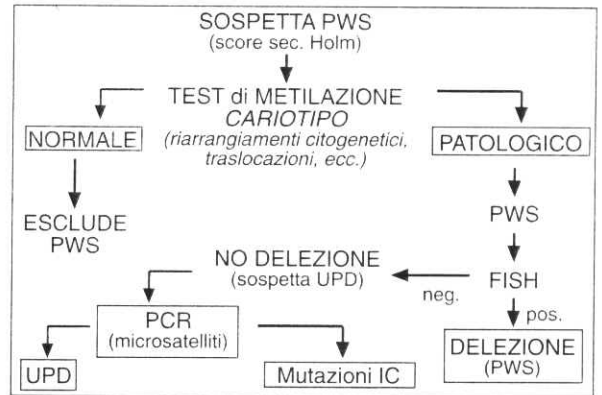


Fig. 1. - Iter diagnostico in caso di sospetta sindrome di Prader-Willi (PWS). FISH: *fluorescence in situ hybridization*; UPD: disomia uniparentale; IC: *imprinting center*.

di una possibile trasmissione di un pattern di metilazione anomala (il rischio di ricorrenza è pari al 50% per ogni successiva gravidanza). Da tutto ciò appare chiaro che le indagini di genetica molecolare hanno pertanto fornito uno strumento sufficientemente preciso al pediatra e al genetista per la definizione diagnostica e la consulenza genetica dei pazienti con sospetto clinico di sindrome di Prader-Willi [5, 12].

Aspetti neonatali

La diagnosi di PWS è spesso difficile da porre in epoca neonatale poiché il quadro clinico nel neonato è diverso da quello tipico delle epoche successive. Infatti il peculiare dismorfismo del volto (diametro bifrontale stretto, occhi a mandorla obliqui, rima buccale triangolare) può essere soltanto accennato e le caratteristiche tipiche della sindrome quali obesità, bassa statura ed acromicria sono assenti [3, 14].

La clinica della PWS in epoca neonatale è caratterizzata da severa ipotonia generalizzata associata a pianto anomalo (Tab. 2). L'ipotonia, già presente durante la vita fetale, spiega la riduzione dei movimenti fetali spesso riferita dalla madre, soprattutto se confrontata con precedenti gravidanze.

Il *timing* del parto è spesso anomalo (alta percentuale di prematurità o postmaturità), probabilmente riconducibile ad alterazioni ipotalamiche. Esiste un aumento di parti operativi (44% di tagli cesarei) a causa di un'alta incidenza di presentazioni anomale (presentazione cefalica soltanto nel 19%), riconducibili alla mancata rotazione da ipotonia fetale. La percentuale di neonati asfittici è 8 volte maggiore che nella popolazione generale per cui può essere necessario ricorrere a manovre rianimatorie e a ventilazione assistita. Possono presentare disturbi della termoregolazione e per l'ipotermia può essere necessario l'uso prolungato di incubatrici.

Tabella 2. - Frequenza delle caratteristiche fenotipiche della sindrome di Prader-Willi in epoca neonatale

Caratteristiche fenotipiche	(%)
Ipotonia	100
Difficoltà di alimentazione	100
Anomalie del pianto	100
Anomalie del naso	100
Anomalie della rima palpebrale	83
Anomalie della rima buccale	75
Anomalie dei padiglioni auricolari	45
Acromicria	33
Criptorchidismo	90
Percentile CC > percentile peso	92
Fontanella anteriore ampia	80

CC: circonferenza cranica

All'esame obiettivo vi può essere una sproporzione tra circonferenza cranica e peso e tra dimensioni della fontanella anteriore e circonferenza cranica. L'ipoplasia dei genitali può sfuggire nelle femmine; nei neonati maschi si osserva spesso criptorchidismo con uno sviluppo penieno apparentemente normale.

La marcata ipotonia determina una ipovalidità della suzione e quindi difficoltà di alimentazione con rallentamento della curva di accrescimento ponderale. Spesso si deve ricorrere all'alimentazione tramite gavage.

In associazione all'ipotonia e alle difficoltà di alimentazione, nel neonato PWS è sempre presente un pianto anomalo con caratteristiche che possono essere diverse (debole, stridente, acuto, non continuativo) ma comunque tali da mettere in sospetto il neonatologo di una possibile patologia.

La PWS deve essere presa in considerazione nella diagnosi differenziale delle ipotonie neonatali (Tab. 3). In tutti i neonati ipotonici, oltre alle indagini specifiche per escludere cause neurologiche o neuromuscolari è opportuna l'esecuzione del test di metilazione che, in considerazione del costo contenuto, permette di formulare una diagnosi precoce di PWS e quindi una gestione attenta e mirata già a partire dall'epoca neonatale al fine di migliorare la qualità di vita ed evitare o ritardare la comparsa di complicanze.

Note sulla composizione corporea

Diversi studi hanno ormai dimostrato che l'obesità, una delle caratteristiche fenotipiche fondamentali della sindrome di Prader-Willi presenta delle caratteristiche peculiari che la differenziano da quella rilevabile in soggetti con obesità semplice.

In particolare la composizione corporea dei pazienti PWS è caratterizzata da un relativo aumento della massa grassa che sembra possedere anche peculiari caratteristiche di distribuzione nell'organismo. Infatti, rispetto ad un gruppo di soggetti non-PWS con analogo grado di

obesità, sembra prevalere in particolare a carico degli arti inferiori mentre l'accumulo di grasso a livello del tronco sembra essere simile o inferiore a quanto osservabile in soggetti con obesità essenziale. Questo dato è stato riscontrato solo di recente in quanto non rilevabile con le sole tecniche antropometriche utilizzate comunemente, ma richiede studi con metodiche per immagini che permettano di mettere in evidenza la quantità di tessuto adiposo presente a livello intra-addominale e sottocutaneo. In tali soggetti è stato inoltre dimostrato un rapporto tra massa adiposa e leptina paragonabile a quello di soggetti obesi non-PWS.

L'aumento della massa adiposa sia in valore assoluto sia in percentuale rispetto ai soggetti obesi è associata ad un quantitativo di massa magra significativamente inferiore specie a livello degli arti. Tale insolito dato differenzia nettamente tali soggetti da quanto rilevabile in generale nel soggetto obeso dove è ampiamente descritto un aumento anche della massa magra, e sembra invece avvicinarlo a particolari situazioni patologiche (es. deficit di GH).

La carenza relativa di massa magra è probabilmente concausa non solo della caratteristica ipotonia, e quindi della tendenza all'inattività, osservabile in tali soggetti, ma determina anche una significativa riduzione del metabolismo basale, e quindi del dispendio energetico giornaliero. Alla ridotta motilità e all'eccessivo apporto calorico si può così aggiungere la riduzione del metabolismo basale tra le cause che promuovono la trasformazione in tessuto adiposo del surplus energetico giornaliero. E' peraltro interessante notare che il dispendio energetico in soggetti con PWS è simile a quello osservabile sia nei soggetti normopeso, sia nei soggetti con obesità essenziale quando il metabolismo energetico venga corretto per il quantitativo di massa magra indicando in tal modo che l'unità funzionale di tessuto magro si comporta in modo simile nei tre tipi di soggetti e che le differenze sono imputabili esclusivamente al quantitativo di massa magra presente in ciascun tipo di soggetto.

Anche la densità e il contenuto minerale dell'osso determinato mediante densitometria sono ridotti rispetto a quanto misurato nei soggetti normali e nei soggetti affetti da obesità semplice. Probabilmente tale riscontro è il risultato della scarsità di massa muscolare, specie a livello degli arti, e della conseguente inattività fisica.

E' possibile che alterazioni dei meccanismi neuroendocrini ipotalamici che intervengono nella produzione di ormone della crescita e di gonadotropine possano giuocano un ruolo importante nel determinare almeno alcune delle caratteristiche fenotipiche di tali soggetti. Peraltro le caratteristiche generali di composizione corporea e il fatto che diventino più evidenti nei ragazzi in età puberale rispetto alle età più giovani, come pure i successi terapeutici segnalati dopo trattamento con ormone della crescita sembra suggerire l'importanza di tali meccanismi [15-21].

Tabella 3. - Diagnosi differenziale della sindrome di Prader-Willi (PWS) in epoca neonatale

Tono muscolare	Riflessi osteotendinei	Suzione/ deglutizione	EMG	Altre manifestazioni	Mortalità
<i>Sindrome di Prader-Willi</i>					
atonìa con miglioramento	prima assenti, poi presenti	ipovalida per settimane o mesi	normale	dismorfismi, ipotermia, criptorchidismo, test di metilazione +	bassa
<i>Distrofia miotonica congenita</i>					
atonìa con miglioramento, poi miotonia	prima assenti, poi presenti	ipovalida per mesi	normale	piede torto, anomalie del diaframma	alta
<i>Sindrome di Zellweger</i>					
atonìa persistente	assenti o deboli	sempre ipovalida	normale	piede torto, epato-megalia, alterazioni oculari, dismorfismi	molto alta
<i>Diplegia atonica</i>					
atonìa con miglioramento in alcuni casi spasticità	iperattività Babinsky positivo	-	normale	convulsioni, sviluppo ritardato	bassa
<i>Atrofia spinale di Werdnig-Hoffmann</i>					
in progressiva diminuzione	deboli poi assenti	valida	patologico	normale sviluppo intellettuale, severa debolezza muscolare	alta
<i>Miopatie congenite</i>					
diminuito senza progressione	assenti o deboli	generalmente valida	patologico		alta
<i>Ipotonia congenita benigna</i>					
diminuito con miglioramento	normali ma difficili da evocare	valida	patologico	normale sviluppo intellettuale, facile affaticabilità	bassa

EMG: elettromiogramma.

Lo sviluppo puberale

Le alterazioni dei genitali e dello sviluppo puberale sono una caratteristica della sindrome di Prader-Willi ma variano a seconda del sesso e dell'età del paziente.

Nel maschio in età prepuberale lo scroto è per lo più ipoplasico ed è quasi costante il criptorchidismo (98-100% dei casi), talora unilaterale ma più spesso bilaterale, già evidente alla nascita. I testicoli possono essere particolarmente piccoli (microrchidia in circa l'80% dei casi) e meno frequentemente si segnala un micropene (41%). Le scarse documentazioni istologiche descritte in letteratura hanno dimostrato nei testicoli criptorchidi di tali pazienti una immaturità dei tubuli seminiferi e un aspetto a sole cellule di Sertoli (*Sertoli-cell only*).

Nel sesso femminile è più difficile riconoscere almeno nei primi anni di vita le alterazioni dei genitali esterni ma in circa il 70% dei casi è evidente una ipoplasia o assenza del clitoride e/o delle piccole labbra.

La maturazione sessuale è quasi sempre alterata in entrambi i sessi. In particolare lo sviluppo puberale è ritardato e quando iniziato spontaneamente risulta rallentato e incompleto. Lo sviluppo dei peli pubici (pubarca) e dei peli ascellari può avvenire in epoca normale o anche precocemente (adrenarca precoce isolato), ma è raro riscontrare nei ragazzi con PWS la comparsa di caratteri sessuali secondari quali la comparsa della barba o della peluria al corpo e al volto o il cambio della voce.

Nella femmina è spesso difficile valutare l'inizio del telarca in quanto l'accumulo di adipe in regione mammaria può simulare la presenza del telarca. Tali pazienti

presentano per lo più una amenorrea primaria ma in circa il 30% dei casi possono avere un menarca spontaneo quasi sempre tardivamente e non seguito da cicli mestruali regolari. L'amenorrea secondaria è infatti la regola in tutte le ragazze con PWS che hanno avuto il menarca.

In entrambi i sessi l'attività sessuale è rara e normalmente tali soggetti sono infertili. L'adrenarca precoce isolato, descritto in alcuni casi, può essere correlato all'obesità. La presenza di alcuni rari casi di pubertà precoce descritti in letteratura pone l'accento sull'eterogeneità delle alterazioni dello sviluppo puberale in tali pazienti.

Nei pazienti con PWS il quadro ormonale è caratterizzato da bassi livelli di testosterone (nel maschio) o di estrogeni (nella femmina) accompagnato a livelli inferiori alla norma di gonadotropine ipofisarie (FSH e LH) (ipogonadismo ipogonadotropinico).

Tale assetto ormonale può essere la conseguenza di una disfunzione della regione ipotalamica, deputata al controllo di varie funzioni endocrine e di numerose funzioni biologiche. Infatti molti sintomi presenti nella PWS, quali l'ipotonia (di origine centrale), l'obesità e i disturbi dell'appetito, i disturbi del sonno, la bassa statura associata a deficit di ormone della crescita, l'elevata soglia del dolore, le alterazioni della termoregolazione, sono correlabili ad una disfunzione ipotalamo-ipofisaria.

La normalizzazione della risposta delle gonadotropine ipofisarie al test con LHRH dopo pretrattamento con clomifene sembra confermare che l'ipogonadismo ipogonadotropinico dipende da una disfunzione ipotalamica.

Alcuni soggetti, particolarmente di sesso maschile, possono sviluppare un ipogonadismo primitivo con elevati livelli di gonadotropine e testosterone ai limiti inferiori della norma. Tale alterazione non è intrinseca alla sindrome e probabilmente è secondaria al danno gonadico prodotto da un criptorchidismo non corretto.

Nei pazienti con PWS è quindi molto importante eseguire una accurata valutazione dell'asse ipotalamo-ipofisi-gonadi. Dopo un preliminare esame clinico e auxologico (secondo gli standard di Tanner) e una valutazione dell'età ossea (radiografia della mano e polso sinistro), si potrà effettuare una ecografia testicolare o della regione pelvica per uno studio più completo delle gonadi. Il test all'LHRH, particolarmente se eseguito in età peripuberale o in epoca successiva, fornirà informazioni sull'asse ipotalamo-ipofisario. La funzionalità testicolare sarà valutata verificando la risposta del testosterone dopo trattamento con hCG per 3 giorni. Il test al clomifene sarà riservato solo a casi particolari mentre il test all'ACTH viene eseguito in presenza di un pubarca precoce. Per uno studio più approfondito della funzionalità ipotalamo-ipofisaria bisogna ricorrere infine ad altri test di stimolo della funzione ipofisaria (TRH test, ecc.) e alla risonanza magnetica nucleare.

Per quanto riguarda il trattamento del criptorchidismo si è concordi nell'intervenire precocemente. In caso di insuccesso della terapia farmacologica con gonadotropine e/o con LHRH analogo per via nasale l'intervento di orchidopessi costituisce la scelta terapeutica più opportuna.

In caso di micropene può essere utile il testosterone a basse dosi per 3-6 mesi o il di-idrotestosterone per uso topico.

La terapia sostitutiva con testosterone nel maschio e con estroprogestinici nella femmina ha lo scopo di indurre la pubertà e di favorire la maturazione dei caratteri sessuali secondari. Tra i vantaggi di tale trattamento ricordiamo la prevenzione dell'osteoporosi e il possibile miglioramento psicologico del paziente. In particolare nel sesso maschile il trattamento ormonale sostitutivo può determinare un comportamento sessuale e fisico più aggressivo e del resto il raggiungimento e il mantenimento della libido e della forza sessuale sono il più delle volte non utili in tali casi. Il trattamento ormonale sostitutivo, pertanto, dovrebbe essere sempre riservato ad alcuni soggetti selezionati e dopo adeguata valutazione delle condizioni cliniche del paziente [22-29].

L'accrescimento staturale e la secrezione di GH

La bassa statura è considerata un segno caratteristico della sindrome di Prader Willi. Studi sulla crescita longitudinale hanno evidenziato che i soggetti con questa sindrome presentano solitamente una lunghezza normale alla nascita e nei primi mesi di vita; successivamente, negli anni della prima e seconda infanzia, si assiste ad un progressivo rallentamento della crescita. Il grado di accrescimento rimane poi costante fino ai 10-13 anni, periodo in cui non si assiste al fisiologico scatto accrescitivo puberale; ne consegue una compromissione dell'altezza definitiva, particolarmente rilevante nei soggetti di sesso maschile. Nelle tabelle di crescita dei soggetti con PWS viene riportata una statura media definitiva nei maschi di cm 154 e nelle femmine di cm 150 e quindi inferiori rispettivamente di circa 20 e 12 cm della statura media definitiva della popolazione generale.

Negli ultimi anni sono stati effettuati numerosi studi per evidenziare le cause dello scarso accrescimento ed è stato ovviamente dato risalto alla funzionalità del sistema endocrino. Un normale incremento staturale è infatti legato soprattutto ad una corretta secrezione dell'ormone della crescita (GH) e degli ormoni tiroidei durante tutta l'età evolutiva e degli ormoni sessuali durante l'età puberale che, fisiologicamente, nella femmina inizia tra 9,2 e 13,5 anni e nel maschio tra 10 e 14 anni.

La secrezione di questi ormoni ed in particolar modo del GH da parte dell'ipofisi e degli ormoni sessuali da parte delle gonadi è regolata da un complesso sistema

neuroendocrino che condiziona il rilascio di particolari sostanze, cosiddette *releasing hormones* o *releasing factors*, da parte dell'ipotalamo. Tra queste, il GHRH (*growth hormone releasing hormone*) stimola l'ipofisi a secernere GH e il LHRH (*luteinizing hormone releasing hormone*) stimola l'ipofisi a secernere due tipi di ormoni, quello follicolo-stimolante - FSH - e quello luteinizzante - LH che, a loro volta, agiscono sui testicoli e sulle ovaie determinando la secrezione di ormoni sessuali (testosterone nel maschio e 17 β -estradiolo nella femmina).

Si ritiene che, per motivi ancora in gran parte sconosciuti, la funzionalità ipotalamica sia frequentemente alterata nei soggetti con PWS e che tale compromissione sia responsabile di gran parte del quadro clinico di tali pazienti ed in particolare dei disturbi dell'accrescimento e della maturazione sessuale.

Se in tali soggetti, la secrezione di ormoni tiroidei è risultata quasi costantemente normale, gli ormoni sessuali sono invece frequentemente ai limiti inferiori della norma o decisamente ridotti (soprattutto nei maschi), determinando un quadro di ipogonadismo con livelli di gonadotropine solitamente ridotti.

Numerose problematiche sussistono invece per quanto riguarda la secrezione di GH. Frequenti sono state le segnalazioni di una riduzione della secrezione di tale ormone sia spontanea sia dopo stimoli specifici anche se la presenza di un notevole sovrappeso possa di per se spiegare tali risultati. In soggetti obesi infatti la risposta del GH alla maggior parte degli stimoli risulta sostanzialmente ridotta. Recenti studi sembrano però indicare la presenza di una mancata risposta anche dopo test con GHRH e piridostigmina, sostanze che riducendo il tono somatostatinergico, sono in grado invece di aumentare notevolmente la secrezione di GH nei soggetti affetti da obesità essenziale. E' da segnalare infine che trial terapeutici con ormone della crescita hanno tendenzialmente dimostrato importanti risultati sia sulla velocità di crescita sia sulla composizione corporea dei soggetti trattati. Per quest'ultimo aspetto bisogna ricordare che il deficit di secrezione di GH provoca, per l'effetto stimolante sulla sintesi proteica proprio di tale ormone, una riduzione della massa magra ed un aumento della massa grassa corporea. L'impiego GH è in grado di aumentare il quantitativo di massa magra nel soggetto PWS come pure nei soggetti con deficit di GH.

Come deve comportarsi un pediatra per valutare l'accrescimento staturale in soggetti con PWS? E' utile considerare periodicamente ogni 6-12 mesi, la statura del paziente e in presenza di una riduzione della velocità di crescita, è consigliabile valutare la secrezione degli ormoni tiroidei e la secrezione spontanea o farmaco-indotta di GH. E' molto importante associare a quest'ultima indagine anche la valutazione dei livelli di somatomedine (IGF-1), sostanze prodotte dal fegato sotto il controllo del GH e necessarie per la sua azione

sull'accrescimento: la presenza di GH ridotto e IGF-1 normali è frequente nei soggetti con obesità essenziale mentre la concomitante presenza di ridotta risposta di GH agli stimoli farmacologici e bassi livelli di IGF-1 è invece fortemente suggestiva per un deficit di GH [24-37].

Le complicanze a lungo termine

Alterazioni del metabolismo glucidico

Una delle più importanti complicanze della sindrome di Prader-Willi è rappresentata dalle alterazioni del metabolismo glucidico. Un recente studio condotto in Italia su di un'ampia casistica ha permesso di rilevare un'intolleranza glucidica nel 13,0% ed un diabete conclamato nel 9,3% dei casi.

Tali percentuali sono decisamente superiori a quanto si osserva nella popolazione pediatrica obesa non affetta da sindrome di Prader-Willi. Il diabete che si osserva in tale condizione può essere assimilabile ad un diabete non insulino-dipendente legato probabilmente al grave sovrappeso ed ad un incontrollato apporto calorico. A differenza però di quanto avviene nell'obesità essenziale, nel soggetto affetto da PW la predisposizione allo sviluppo del diabete è stata riportata più ad una ridotta secrezione che ad una aumentata resistenza insulinica. Dallo studio già citato è emersa anche una maggiore frequenza di alterazioni del metabolismo glucidico in soggetti con grave eccesso ponderale e con familiarità per diabete di tipo 2.

Una volta instauratosi, il diabete può essere controllato con i comuni presidi terapeutici (dieta, ipoglicemizzanti orali e insulina) anche se un buon controllo metabolico risulta quasi sempre problematico a causa della scarsa *compliance* alimentare.

Va comunque sottolineato che la presenza di un'alterazione del metabolismo glucidico costituisce un ulteriore importante fattore di rischio per lo sviluppo di complicanze cardiovascolari a distanza, prima causa di morte in questi soggetti.

Da quanto si è detto emerge l'importanza di un precoce e duraturo controllo del peso nella sindrome di PWS al fine di prevenire un precoce sviluppo di diabete mellito [25, 38-40].

Complicanze cardiovascolari e respiratorie

L'obesità, la principale caratteristica clinica della sindrome di Prader-Willi, è il fattore che maggiormente contribuisce alle complicanze associate a tale sindrome. Ipertensione arteriosa sistemica e patologia cardiovascolare complicano infatti frequentemente l'obesità e necessitano spesso precocemente di trattamento. La gravità di tali manifestazioni è essenzialmen-

te correlata al grado di obesità ed inizialmente i sintomi cardiovascolari possono essere reversibili se si ottiene una riduzione del sovrappeso.

La comparsa di edema ed epatomegalia suggerisce la presenza di "cor pulmonale" (insufficienza ventricolare destra da ipertensione polmonare) accompagnato da cianosi, ortopnea, dispnea da sforzo. In alcuni pazienti sono stati segnalati infarti ed accidenti cerebro-vascolari che hanno portato al decesso anche in giovane età.

La causa più comune di morte prematura è comunque l'insufficienza cardiopolmonare conseguente alla ipoventilazione. La grave obesità può condurre a precoci segni di ipoventilazione con un quadro clinico di insufficienza respiratoria a carattere restrittivo. Le prove di funzionalità respiratoria sono alterate mostrando un quadro disventilatorio di discreta entità, pressioni inspiratorie ed espiratorie massimali alla bocca ridotte, solitamente con normale saturazione dell'emoglobina. E' riportato anche un aumentato numero di apnee ed una diminuita risposta all'ipercapnia durante il sonno (*sleep apnea syndrome*). In molti soggetti sono descritte alterazioni del sonno REM ed una eccessiva sonnolenza durante il giorno (EDS: *excessive daytime sleepiness*). Tali sintomi costituiscono nel loro complesso la tipica sindrome di Pickwick.

Tale condizione è dovuta allo stato di sovrappeso aggravato da alterazioni muscolo scheletriche della gabbia toracica dovute alla presenza di cifosi e scoliosi importanti e all'ipotonìa residua che determina una debolezza dei muscoli respiratori. Inoltre nei pazienti con PWS è stato anche descritto un primitivo disturbo del controllo respiratorio centrale aggravato dallo sviluppo dell'obesità [41-44].

Complicanze ortopediche

Anche se l'osteoporosi legata all'ipogonadismo può portare a fratture per minimi traumi, le complicanze ortopediche sono prevalentemente rappresentate dalle alterazioni della colonna ed in particolare dalla scoliosi [45].

In base a recenti esperienze e secondo i più attuali orientamenti della letteratura dovrebbero essere considerati con maggiore attenzione i segni clinici riferibili alla precoce insorgenza di scoliosi. Tale condizione, fino ad ora valutata come criterio aggiuntivo nel punteggio clinico di Holm, è comunque presente nell'85% dei pazienti. Verosimilmente esito di una ipotonia neonatale solo apparentemente risolta dopo i primi anni di vita, la scoliosi o cifoscoliosi, meno spesso una cifosi isolata, è stata spesso trascurata o individuata solo tardivamente nei bambini o adolescenti con PWS ed ha portato nelle età successive a gravi alterazioni della colonna vertebrale. In questi pazienti obesi ed ipotonici spesso il solo esame clinico non è un metodo del tutto affidabile per individuare la presenza di scoliosi e tutti i pazienti

dovrebbero essere regolarmente sottoposti anche a valutazione radiografica della colonna. Le alterazioni della colonna, se non trattate, possono peggiorare rapidamente e sono spesso così gravi da risultare non correggibili neppure chirurgicamente.

Altre complicanze dovute all'eccessivo incremento ponderale sono le alterazioni della statica degli arti inferiori, ed in particolare del ginocchio e del piede.

Tra le complicanze infine non si possono non citare quelle a carico della cute provocate da grattamento che portano alla sovrapposizione di infezioni fino a veri quadri di cellulite. Talora tali aspetti comportamentali sono causa anche di emorragie rettali, erroneamente interpretate come espressione di una patologia infiammatoria intestinale [43, 46].

Il ritardo mentale e il profilo psicologico

I soggetti con sindrome di Prader-Willi presentano caratteristiche psicologiche specifiche soprattutto a causa di uno sviluppo intellettivo anomalo e di una particolare vulnerabilità emotiva.

A livello intellettivo si notano notevoli variazioni in quanto questi soggetti si collocano da un estremo che comprende i gravi ritardi mentali, all'estremo opposto dove l'intelligenza è quasi nella norma. La Fig. 2 mostra la distribuzione del quoziente intellettivo (QI) di 41 soggetti, dai 4 ai 27 anni in confronto con quello della popolazione normale. Il numero maggiore, quasi il 40%, comprende soggetti con ritardo mentale lieve (QI 51-70). Si tratta di soggetti considerati "educabili" che possono raggiungere un discreto livello di scolarizzazione e possono, se non ci sono controindicazioni per la situazione comportamentale, eseguire semplici attività lavorative. In seconda posizione vi è il gruppo del ritardo mentale medio (26%) con un QI che varia da 35 a 50, che comprende soggetti che possono acquisire una discreta autonomia nelle cure personali ed accedere a

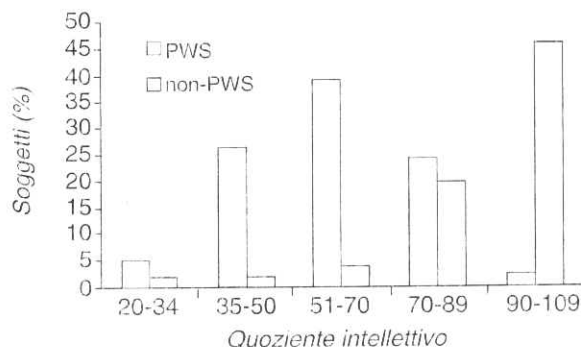


Fig. 2. - Distribuzione del quoziente intellettivo in soggetti con sindrome di Prader-Willi (PWS) e nella popolazione generale.

semplici attività manuali, con stretta supervisione. Il 5% si colloca nella fascia del ritardo mentale grave con un QI inferiore a 35. Il 20% si trova nella fascia "borderline", cioè vicina per difetto al limite inferiore della norma (QI 71-89). Si tratta di soggetti che, se usufruiscono di un'adeguata preparazione scolastica, possono ottenere un diploma che gli permette di impegnarsi in attività nel area del terziario. Solo il 2% restante si colloca nella media (QI 90-109). In quasi tutti i soggetti con PWS si verifica notevole disarmonia rispetto alle diverse aree che si riferiscono al quoziente globale che può rendere particolarmente difficile il rendimento scolastico.

Nella sfera emotiva questi soggetti presentano una notevole fragilità che induce una tendenza a sviluppare anomalie comportamentali (scarso controllo dell'aggressività, atteggiamenti ossessivi e compulsivi, autolesionismo, cocciutaggine, linguaggio ripetitivo). In alcuni possono verificarsi disturbi emotivi significativi che nei casi più gravi, soprattutto nella adolescenza, possono dare luogo a psicosi (Fig. 3).

La compulsività verso il cibo caratteristica di questa sindrome spesso è causa indiretta di tensioni nei rapporti familiari, come pure nell'adattamento scolastico e lavorativo, tensioni che inevitabilmente aggravano la situazione emotiva. Non sono state riscontrate correlazioni tra i livelli di ritardo intellettivo e quelli relativi alla gravità del disturbo emotivo.

Per questa loro notevole vulnerabilità emotiva, tali soggetti si differenziano dai soggetti con gli stessi livelli di ritardo mentale. Una ricerca in cui i soggetti con PWS sono stati confrontati con controlli scelti in base agli stessi livelli di ritardo mentale e al di fuori di patologie specifiche, ha indicato che i primi presentano con maggior frequenza irritabilità e compulsività e sono affetti in maggior misura da patologie psichiatriche.

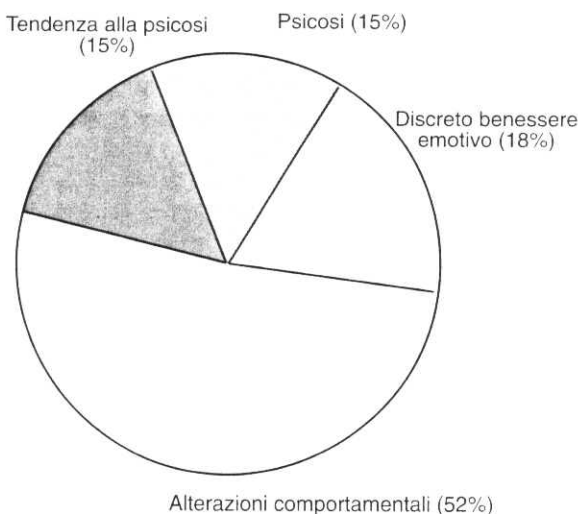


Fig. 3. - Situazione emotiva di adolescenti con sindrome di Prader-Willi (PWS).

Tabella 4. - Programma di intervento psicologico in soggetti con sindrome di Prader-Willi (PWS)

Per tutti i pazienti

- follow up psicologico (valutazioni differenziate in base all'età)
- counselling per i genitori
- supervisione e coordinamento di insegnanti, educatori, riabilitatori

Per gli adolescenti (dai 13 anni in avanti)

- gruppo di formazione per i genitori
- gruppo di attività musicale e corporea
- attività individuale, per socializzazione e svago con volontari

Per i bambini (dai 2 ai 12 anni)

- gruppo di formazione per i genitori
- gruppo di attività corporea e sensoriale

I genitori dei giovani con PWS vivono con notevole sofferenza la situazione del figlio, sia per i limiti difficilmente accettabili, sia per la frequente disarmonia psichica. A causa delle alterazioni emotive che rendono spesso difficile la comprensione del comportamento dei figli e degli atteggiamenti frequentemente contraddittori di questi soggetti, i genitori possono essere facilmente disorientati o esasperati.

E' stato possibile comprendere che la posizione che ciascun paziente con PWS occupa in relazione al suo stato emotivo è dovuta all'interazione di 3 fattori: la fragilità emotiva costituzionale di questa sindrome, l'atmosfera emotiva familiare spesso peggiorata dalle difficoltà comportamentali di tali soggetti, gli stimoli educativi e riabilitativi presenti nelle diverse situazioni socio-ambientali. Ne consegue che la tendenza costituzionale potenziale verso il disturbo psichico può essere limitata o resa più grave dalle caratteristiche affettive-relazionali e socio-ambientali, sempre diverse da caso a caso.

In base a questi dati conclusivi è possibile realizzare un programma rivolto ai giovani con PWS, ai loro genitori, e agli operatori nell'ambito educativo, riabilitativo e lavorativo. Il programma è illustrato nella Tab. 4 e con esso si è osservata una migliore comprensione degli aspetti emotivi da parte di tutte le figure coinvolte nel loro follow up che si ripercuote prima di tutto in una minore tensione familiare, in un migliore inserimento scolastico e sociale da parte dei ragazzi. Tutti questi aspetti sottolineano l'importanza di un programma di supporto psicologico che permetta una migliore comprensione ed accettazione delle varie problematiche di tali pazienti [47-51].

Ringraziamenti

Il lavoro è stato svolto in collaborazione con: *Associazione per l'aiuto a soggetti con Sindrome di Prader-Willi ed alle loro famiglie*, Istituto Scientifico H. San Raffaele, Milano (Presidente: Sig.ra G. Villa).

Lavoro presentato su invito.
Accettato il 15 marzo 1999.

BIBLIOGRAFIA

1. CASSIDY, S.B. 1997. Prader-Willi syndrome. *J. Med. Genet.* **34**(11): 917-923.
2. DONALDSON, M.D., CHU, C.E., COOKE, A., WILSON, A., GREENE, S.A. & STEPHENSON, J.B. 1994. The Prader-Willi syndrome. *Arch. Dis. Child.* **70**(1): 58-63.
3. HOLM, V.A., CASSIDY, S.B., BUTLER, M.G., HANCHETT, J.M., GREENSWAG, L.R., WHITMAN, B.Y. & GREENBERG, F. 1993. Prader-Willi syndrome: consensus diagnostic criteria. *Pediatrics* **91**(2): 398-402.
4. YOUNG, I.D. 1995. Diagnosing Prader-Willi syndrome. *Lancet* **345**: 1590
5. ASHG/ACMG TEST AND TECHNOLOGY TRANSFER COMMITTEE. 1996. Diagnostic testing for Prader-Willi and Angelman syndromes. *Am. J. Hum. Genet.* **58**(5): 1085-1088.
6. CASSIDY, S.B., FORSYTHE, M., HEEGER, S., NICHOLLS, R.D., SCHORK, N., BENN, P. & SCHWARTZ, S. 1997. Comparison of phenotype between patients with Prader-Willi syndrome due to deletion 15q and uniparental disomy 15. *Am. J. Med. Genet.* **68**(4): 433-440.
7. CASSIDY, S.B. & SCHWARTZ, S. 1998. Prader-Willi and Angelman syndromes. Disorders of genomic imprinting. *Medicine* **77**(2): 140-151.
8. CHU, C.E., COOKE, A., STEPHENSON, J.B., TOLMIE, J.L., CLARKE, B., PARRY JONES, W.L., CONNOR, J.M. & DONALDSON, M.D. 1994. Diagnosis in Prader-Willi syndrome. *Arch. Dis. Child.* **71**(5): 441-442.
9. ERDEL, M., SCHUFFENHAUER, S., BUCHHOLZ, B., BARTH-WITTE, U., KOCHI, S., UTERMANN, B., DUBA, H.C. & UTERMANN, G. 1996. Routine screening for microdeletions by FISH in 77 patients suspected of having Prader-Willi syndrome or Angelman syndromes using YAC clone 273A2 (D15S10). *Hum. Genet.* **97**: 784-793.
10. GUNAY-AYGUN, M., HEEGER, S., SCHWARTZ, S. & CASSIDY, S.B. 1997. Delayed diagnosis in patients with Prader-Willi syndrome due to maternal uniparental disomy 15. *Am. J. Med. Genet.* **71**: 106-110.
11. LINDGREN, A.C., GRANDELL, U., RITZÈN, E.M. & ANVRET, M. 1996. Diagnosis of the Prader-Willi syndrome by proving the absence of the unmethylated PW71 DNA fragment. *Acta Paediatr.* **85**: 195-198.
12. WEVRICK, R. & FRANCKE, U. 1996. Diagnosing test for the Prader-Willi syndrome by SNRPN expression in blood. *Lancet* **348**: 1068-1069.
13. WHARTON, R.H. & LOECHNER, K.J. 1996. Genetic and clinical advances in Prader-Willi syndrome. *Curr. Opin. Paediatr.* **8**(6): 618-24.
14. AUGHTON, D.J. & CASSIDY, S.B. 1990. Physical features of Prader-Willi syndrome in neonates. *Am. J. Dis. Child.* **144**: 1251-1254.
15. BRAMBILLA, P., BOSIO, L., MANZONI, P., PIETROBELLI, A., BECCARIA, L. & CHIUMELLO, G. 1997. Peculiar body composition in patients with Prader-Willi syndrome. *Am. J. Clin. Nutr.* **65**(5): 1369-1374.
16. BUTLER, M.G., MOORE, J., MORAWIECKI, A. & NICOLSON, M. 1998. Comparison of leptin protein levels in Prader-Willi syndrome and control individuals. *Am. J. Med. Genet.* **75**(1): 7-12.
17. DAVIES, P.S.W. & JUOGHIN, C. 1992. Assessment of body composition in the Prader-Willi syndrome using bioelectrical impedance. *Am. J. Med. Genet.* **44**: 75-78.
18. DAVIES, P.S.W. & JOUGHIN, C. 1993. Using stable isotopes to assess reduced physical activity of individuals with Prader-Willi syndrome. *Am. J. Ment. Retard.* **98**(3): 349-353.
19. LINDGREN, A.C., MARCUS, C., SKWIRUT, C., ELIMAM, A., HAGENÅS, L., SCHALLING, M., ANVRET, M. & LÖNNQVIST, F. 1997. Increased leptin messenger RNA and serum leptin levels in children with Prader-Willi syndrome and nonsyndromal obesity. *Pediatr. Res.* **42**(5): 593-596.
20. PIETROBELLI, A., ALLISON, D.B., FAITH, M.S., BECCARIA, L., BOSIO, L., CHIUMELLO, G., CAMPFIELD, L.A. & HEYMSFIELD, S.B. 1998. Prader-Willi syndrome: relationship of adiposity to plasma leptin levels. *Obes. Res.* **6**(3): 196-201.
21. SCHOELLER, D.A., LEVITSKY, L.L., BANDINI, L.G., DIETZ, W.W. & WALCZAK, A. 1988. Energy expenditure and body composition in Prader-Willi-Syndrome. *Metabolism* **37**: 115-120.
22. CRINÒ, A., CIAMPALINI, P., CORBI, S., SPERA, S., BECCARIA, L., BENZI, F., CORRIAS, A., LIVIERI, C., PIASENTI, C., SALVATONI, A., TONINI, G. & TRIFIRÒ, G. 1998. Hypogonadism and pubertal development in Prader-Willi syndrome. In: *Proceedings of 3rd Prader-Willi syndrome international scientific workshop and conference*. Lido di Jesolo, 21-24 May 1998.
23. KAULI, R., PRAGER-LEWIN, R. & LARON, Z. 1978. Pubertal development in the Prader-Willi syndrome. *Acta Paediatr. Scand.* **67**: 763-767.
24. JEFFCOATE, W.J., LAURANCE, B.M., EDWARDS, C.R.W. & BESSER, G.M. 1980. Endocrine function in the Prader-Willi syndrome. *Clin. Endocrinol.* **12**: 81-89.
25. LEE, P.D.K. 1995. Endocrine and metabolic aspects of Prader-Willi syndrome. In: *Management of Prader-Willi syndrome*. L.R. Greenswag & R.C. Alexander (Eds). Springer-Verlag, New York. p. 32-57.
26. MÜLLER, J. 1997. Hypogonadism and endocrine metabolic disorders in Prader-Willi syndrome. *Acta Paediatr.* **423**: 58-59.
27. RITZÈN, E.M. 1992. Endocrine physiology and therapy in Prader-Willi syndrome. In: *Prader-Willi syndrome and other chromosome 15q deletion disorders*. S.B. Cassidy (Ed.). Springer-Verlag, Berlin. (Nato ASI series, series H: cell biology, 61). p. 153-169.
28. TOSHIRO, N., TOMONOBU, H. & NOBUTAKE, M. 1995. Longitudinal studies of gonadal function in Prader-Willi syndrome. In: *Proceedings of the 2nd Prader-Willi syndrome international scientific workshop and conference*. Oslo, 15-18 June 1995.
29. VANELLI, M., BERNASCONI, S., CARONNA, N., VIRDIS, R., TERZI, C. & GIOVANNELLI, G. 1984. Precocious puberty in a male with Prader-Willi syndrome. *Acta Helv. Paediatr.* **39**: 373-377.
30. ANGULO, M., CASTRO MAGANA, M., MAZUR, B., CANAS, J.A., VITOLLO, P.M. & SARRANTONIO, M. 1996. Growth hormone secretion and effects of growth hormone therapy on

- growth velocity and weight gain in children with Prader-Willi syndrome. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **9**(3): 393-400.
31. BECCARIA, L., BOSIO, L., SANZARI, A., AIMARETTI, G., GHIGO, E. & CHIUMELLO, G. 1996. GH secretion in Prader-Labhardt-Willi syndrome: somatotrope responsiveness to GHRH is enhanced by arginine but not by pyridostigmine. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* **9**(6): 577-583.
 32. BECCARIA, L., BENZI, F., SANZARI, A., BOSIO, L., BRAMBILLA, P. & CHIUMELLO, G. 1996. Impairment of growth hormone responsiveness to growth hormone releasing hormone and pyridostigmine in patients affected by Prader-Labhardt-Willi syndrome. *J. Endocrinol. Invest.* **19**(10): 687-692.
 33. BOSIO, L., BECCARIA, L., CORRIAS, A., CRINÒ, A., CIAMPLAINI, P., LIVIERI, C. & SALVATONI, A., TONINI, G., DE TONI, T., DE SIMONE, M. & CHIUMELLO, G. 1995. Efficacy of GH therapy in patients affected by Prader Willi syndrome: results of a multicenter Italian study. In: *Proceedings of the 2nd Prader Willi syndrome international scientific workshop and conference*. Oslo, 15-18 June 1995.
 34. EIHOLZER, U., GISIN, R., WEINMANN, C., KRIEMLER, S., STEINERT, H., TORRESANI, T., ZACHMANN, M. & PRADER A. 1998. Treatment with human growth hormone in patients with Prader-Labhart-Willi syndrome reduces body fat and increases muscle mass and physical performance. *Eur. J. Pediatr.* **157**(5): 368-677.
 35. HOLM, V.A. 1995. Growth charts for Prader-Willi syndrome. In: *management of Prader-Willi syndrome*. L.R. Greenswag & R.C. Alexander (Eds). Springer-Verlag, New York, p. 335-338.
 36. LINDGREN, A.C., HAGENÅS, L., MÜLLER, J., BLICHFELDT, S., ROSENBORG, M., BRISMAR, T. & RITZÉN, E.M. 1998. Growth hormone treatment of children with Prader-Willi syndrome affects linear growth and body composition favourably. *Acta Paediatr.* **87**(1): 28-31
 37. SWAAB, D.F. 1997. Prader-Willi syndrome and the hypothalamus. *Acta Paediatr. Suppl.* **423**: 50-54.
 38. BASSALI, R., HOFFMAN, W.H., CHEN, H. & TUCK-MULLER, C.M. 1997. Hyperlipemia, insulin dependent diabetes mellitus, and rapidly progressive diabetic retinopathy and nephropathy in Prader-Willi syndrome with del(15)(q11.2q13). *Am. J. Med. Genet.* **71**(3): 267-270.
 39. BECCARIA, L., SALVATONI, A., CRINÒ, A., LIVIERI, F., TONINI, G., CORRIAS, A., TRIFIRÒ, G. & CHIUMELLO, G. 1999. Glucose tolerance in Prader-Labhart-Willi syndrome. *J.P.E.M.* (in press).
 40. SCHUSTER, D.P., OSEI, K. & ZIPF, W.B. 1996. Characterization of alterations in glucose and insulin metabolism in Prader-Willi subjects. *Metabolism* **45**(12): 1514-1520.
 41. GREENSWAG, L.R. 1987. Adults with Prader-Willi syndrome: a survey of 232 cases. *Dev. Med. Child. Neurol.* **29**: 145-152.
 42. HÁKONARSON, H., MOSKOVITZ, J., DAIGLE, K.L., CASSIDY, S.B. & CLOUTIER, M.M. 1995. Pulmonary function abnormalities in Prader-Willi syndrome. *J. Pediatr.* **126**(4): 565-570.
 43. LAURANCE, B.M., BRITO, A. & WILKINSON, J. 1981. Prader-Willi syndrome after age 15 years. *Arch. Dis. Child.* **56**: 181-186.
 44. SCHLÜTER, B., BUSCHATZ, D., TROWITZSCH, E., AKSU, F. & ANDLER, W. 1997. Respiratory control in children with Prader-Willi syndrome. *Eur. J. Pediatr.* **156**(1): 65-68.
 45. REES, D., JONES, M.W., OWEN, R. & DORGAN, J.C. 1989. Scoliosis surgery in the Prader-Willi syndrome. *J. Bone Joint Surg. Br.* **71**: 685-688.
 46. BHARGAVA, S.A., PUTNAM, P.E., KOCOSHIS, S.A., ROWE, M. & HANCHETT, J.M. 1996. Rectal bleeding in Prader-Willi syndrome. *Pediatrics* **97**(2): 265-267.
 47. AASHAMAR, C. 1998. Children with PW syndrome, Down syndrome and William-Beuren syndrome and their behavioural characteristics, IQ, short time memory and behavioural phenotype. In: *Proceedings of the 3rd Prader-Willi syndrome international scientific workshop and conference*. Lido di Jesolo, 21-24 May 1998.
 48. BREGANI, P. 1998. *Emotional profile in Prader-Willi*. In: 3rd Prader-Willi Syndrome International Scientific Workshop and Conference. Lido di Jesolo 21-24 May 1998.
 49. CLARKE, D.J. 1998. Emotional, behavioural and psychiatric aspects of Prader-Willi syndrome. In: *Proceedings of the 3rd Prader-Willi syndrome international scientific workshop and conference*. Lido di Jesolo, 21-24 May 1998.
 50. CLARKE, D.J., BOER, H., CHUNG, M.C., STURMEY, P. & WEBB, T. 1996. Maladaptive behavior in Prader-Willi syndrome in adult life. *J. Intellect. Disabil. Res.* **40**: 159-165.
 51. VAN LIESHOUT, C.F., DE MEYER, R.E., CURFS, L.M., KOOT, H.M. & FRYNS, J.P. 1998. Problem behaviors and personality of children and adolescents with Prader-Willi syndrome. *J. Pediatr. Psychol.* **23**(2): 111-120.