

**Master en Condicionantes Genéticos, Nutricionales y
Ambientales del Crecimiento y Desarrollo**

**Could a patient with *SMC1A* duplication be
classified as a human cohesinopathy?**

Trabajo de Fin de Master

Curso 2012-2013

Alumna:

Carolina Baquero Montoya

Universidad de Zaragoza

Tutor:

Feliciano Ramos Fuentes

Catedrático de la Facultad de Medicina, Zaragoza

AGRADECIMIENTOS

A mi tutor Feliciano J Ramos, por creer en mí y apoyarme en todo momento,

Al Profesor Juan Pié, por sus enseñanzas y consejos,

A mis amigas y colegas del Laboratorio de Genética y Genómica Funcional, por su inmensa ayuda, paciencia y apoyo,

A mi familia,

GRACIAS

INDICE

Resumen.....	5
Justificación del tema.....	6
Memoria científica del proyecto investigativo.....	10
Separata artículo publicado.....	10
Could a patient with <i>SMC1A</i> duplication be classified as a human cohesinopathy?.....	11
Memoria de la práctica del proyecto de investigación.....	22
Separatas presentaciones en congresos.....	22
Aparición de casos familiares del SCdL.....	23
Duplication of <i>SMC1A</i> leads to Cornelia de Lange spectrum phenotype.....	27
Separatas posters presentados en congresos.....	32
Somatic mosaicism in a Cornelia de Lange syndrome patient with <i>NIPBL</i> mutation identified by Exom Sequencing.....	33
Severe asymmetrical limb involvement in a Cornelia de Lange proband with a new <i>NIPBL</i> mutation.....	36
Second <i>SMC3</i> mutation confirms this gene as a cause of Cornelia de Lange syndrome.....	38
Separatas seminarios GENUUD.....	40
Bone mass in male and females children and adolescents with Down syndrome.....	41
B-Vitamin status and intake in European adolescents. A review of	

the literature.....	42
Body composition changes during interventions to treat overweight and obesity in children and adolescents: A descriptive review.....	43
Aspectos perinatales, crecimiento y tipo de lactancia de los recién nacidos pequeños para la edad gestacional.....	44
Iron and vitamin status biomarkers and its association with physical fitness in adolescents: The HELENA study.....	46
Maternal postnatal depression and child growth: A European cohort study.....	48
Prevalencia de la lactancia materna durante el primer año de vida en Aragón: Estudio CALINA.....	50
Sex differences in the endocrine system in response to protein intake early in life.....	51
Bibliografía.....	53

RESUMEN

Los desordenes causados por mutaciones en los genes codificantes de las subunidades y de las proteínas reguladoras del complejo de cohesinas, son llamadas colectivamente cohesinopatías. La más conocida es el Síndrome de Cornelia de Lange (SCdL), la cual es un desorden multisistémico del desarrollo caracterizado por dismorfia facial, malformaciones en las extremidades, alteraciones cognitivas y del crecimiento. Mutaciones en cinco genes, subunidades codificantes del complejo de cohesinas (*SMC1A*, *SMC3*, *RAD21*) y sus reguladores (*NIPBL*, *HDAC8*), son responsables del ~ 70% de los casos de SCdL.

Aquí, se describe un varón de 16 años con dismorfia facial, retraso en el crecimiento, discapacidad intelectual, hirsutismo y manos pequeñas, quien tiene un Marcador Cromosómico Supernumerario (*small Supernumerary Marker Chromosome* (sSMC)) presente en forma de mosaico. El sSMC está compuesto de dos segmentos duplicados que abarcan 17 genes, incluyendo el gen *SMC1A*, en las regiones Xp11.22 y Xp11.21q11.1.

En este trabajo se realizó una comparación clínica entre nuestro paciente y el previamente reportado con duplicación de *SMC1A*, además con cuatro varones portadores de sSMC similares, reportados en las bases de datos, sugiriendo que todos ellos comparten rasgos clínicos relacionados con las cohesinopatías. Aunque este paciente no tiene el fenotipo craneofacial clásico del SCdL, presenta retraso del crecimiento pre- y postnatal, discapacidad intelectual y anomalías musculoesqueléticas leves, los cuales son rasgos frecuentemente encontrados en los desordenes de las cohesinas.

JUSTIFICACION DEL TEMA

Las cohesinopatías son desordenes causados por mutaciones en las proteínas estructurales o reguladoras del complejo de cohesinas (1). El complejo de cohesinas es esencial en el funcionamiento de muchos procesos biológicos, entre los que están: Segregación cromosómica, reparación del DNA, expresión génica, y formación de la estructura de la cromatina (1). El complejo tiene una forma de anillo muy conservada que rodea la cromatina y está formado por diferentes componentes estructurales (proteínas) primarios: SMC1A, SMC3, RAD21 y antígenos estromales (SA-1+2+3) y secundarios: ESCO2, HDAC8, PDS5A/B, WAPL, MAU2 y NIPBL (Figura 1). Estos dos últimos, NIPBL y MAU2, conforman un complejo heterodimérico denominado "kollerin", que regula la carga y la descarga del anillo de cohesinas a la cromatina (2-4).

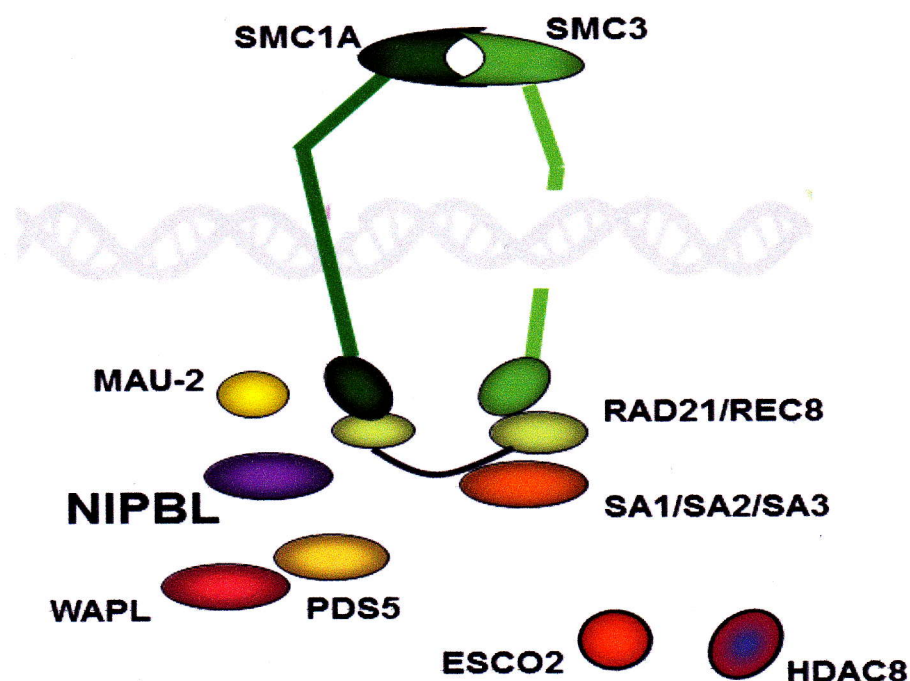


Figura 1. El complejo de las cohesinas está formado por cuatro subunidades en forma de anillo. Dos de ellas son las proteínas del mantenimiento estructural (Structural Maintenance of Chromosomes –SMC–), SMC1A y SMC3, y dos subunidades no SMC (RAD 21 y la proteína STAG), que interactúan con un amplio número de proteínas incluyendo NIPBL, ESCO2 y HDAC8.

La cohesinopatía más conocida es el Síndrome de Cornelia de Lange (SCdL) (OMIM # 122470, 300590, 610759, 614701, 300882), una patología del desarrollo de origen genético, caracterizada por rasgos faciales distintivos, defectos de reducción en las extremidades superiores e inferiores, retraso del desarrollo pre- y postnatal,

discapacidad intelectual y alteraciones del comportamiento (5) (Figura 2 a1-2). En la mayoría de los pacientes aparecen además desordenes de diferentes sistemas, como el gastrointestinal, cardiovascular, neurológico, oftalmológico y auditivo (6). Dentro de las características craneofaciales clásicas se encuentran la sinofridia, pestañas largas con cejas arqueadas, puente nasal deprimido con narinas antevertidas, *philtrum* largo y liso, labio superior delgado y micrognatia (Figura 2), las cuales permiten además el reconocimiento del síndrome (6). La prevalencia del síndrome se estima entre 1/45.000 - 1/62.000 recién nacidos vivos (7).

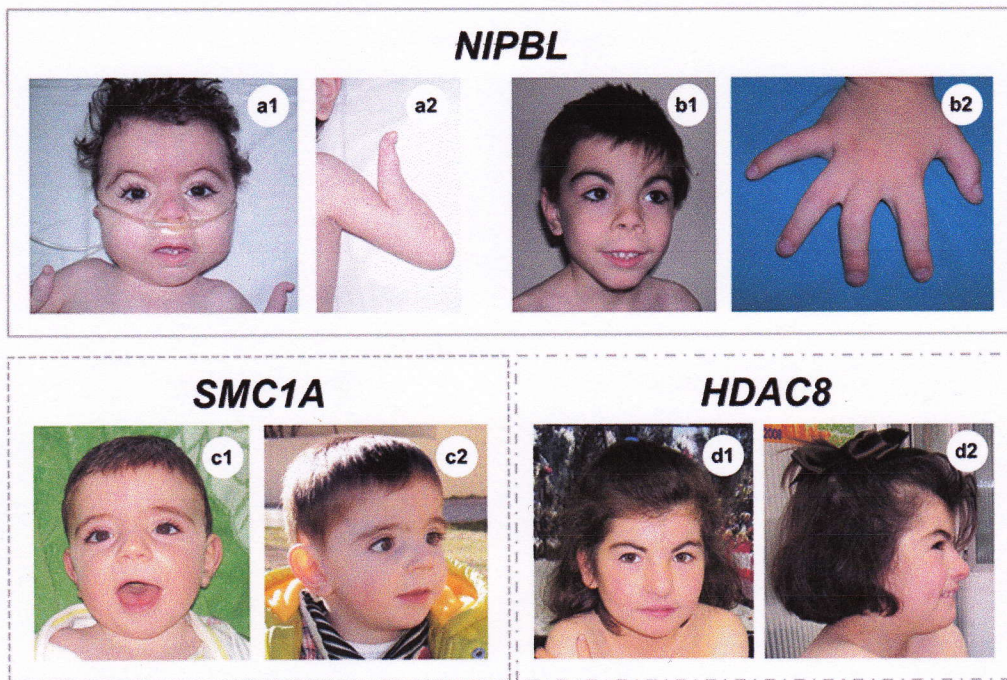


Figura 2. a1 – 2 Fenotipo grave de una paciente portadora de una mutación en *NIPBL*, nótese el defecto de reducción de las extremidades. b1-2 Fenotipo leve de un paciente con mutación en *NIPBL*, el cual no tiene alteraciones en las extremidades. c1-2 Fenotipo de un paciente portador de una mutación en *SMC1A*, el cual destaca por su poca afectación. d1-2 Fenotipo de una paciente portadora de una mutación en *HDAC8*, en la cual se pueden observar discretas diferencias como la nariz tubular y ausencia de las narinas antevertidas.

Actualmente se han identificado 5 genes asociados al fenotipo del síndrome: *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21* y *HDAC8* (8-13) (Figura 2 a1-2, b1-2, c1-2 y d1-2). Todos ellos codifican componentes estructurales o reguladores del complejo de cohesinas (8-11). Las mutaciones en estos genes son heredadas de forma autosómica dominante (*NIPBL*, *SMC3* y *RAD21*) o ligadas al X (*SMC1A* y *HDAC8*) (8-13). Aproximadamente un 60% de pacientes tienen mutación en *NIPBL*, localizado en el cromosoma 5p13 (8, 11, 14). Un porcentaje mucho menor de los pacientes tiene mutaciones en *SMC1A* (~ 4-6%) (10, 11), localizado en Xp11 y hasta la fecha solo un

varón con fenotipo leve, ha sido identificado como portador de una mutación en *SMC3* (11) en el cromosoma 10q25. La reciente descripción de mutaciones en *RAD21* (<1%) (12), localizado en 8q24.11 y en *HDAC8* ubicado en Xq13.1 (13) han sido relacionados con el SCdL. Sin embargo persiste un alto porcentaje de individuos sin diagnóstico genético (~30 %), lo que hace sospechar de la existencia de más genes implicados o de otras alteraciones moleculares causales, como por ejemplo duplicaciones o deleciones.

Mutaciones en el gen *ESCO2* (Figura 1) son responsables de otra cohesinopatía, el síndrome de Roberts/SC-Focomelia, caracterizado por retraso del crecimiento intrauterino, anomalías craneofaciales, discapacidad intelectual y malformaciones en extremidades, que van desde tetra-focomelia simétrica bilateral hasta hipomelia secundaria a acortamiento mesomérico (15). Otros desordenes de las cohesinas son el síndrome de Varsovia y la discapacidad intelectual ligada al X con α -talasemia (1), causadas por mutaciones en los genes *DDX11* y *ATRX*, respectivamente. Si bien todas ellas tienen características fenotípicas distintivas, todas comparten hallazgos como la discapacidad intelectual, el retraso del crecimiento y desarrollo y las anomalías en las extremidades (16).

El uso de nuevas técnicas de diagnóstico molecular como los *CGH-Arrays* (*Comparative Genomic Hybridization Arrays*) y la secuenciación masiva (*Next Generation Sequencing -NGS-*) permitirán identificar alteraciones moleculares como microdeleciones o microduplicaciones y genes causales adicionales relacionados con las cohesinopatías (17). Los *CGH-Arrays* permiten la detección de desequilibrios de ~ 3 a 5 Mb, y actualmente están indicados como estudios complementarios al cariotipo de alta resolución en pacientes con discapacidad intelectual, trastornos del espectro autista y anomalías congénitas múltiples sin filiar. Sin embargo, cuentan con desventajas como la imposibilidad para detectar alteraciones moleculares menores a 400 Kb así como mutaciones puntuales (18). Con respecto a la NGS, su aplicación facilitará el estudio de forma inmediata de grandes grupos de genes, permitiendo, de una forma rápida, la confirmación del diagnóstico y la posibilidad de establecer correlaciones genotipo-fenotipo (17).

El genoma humano tiene un gran número de variaciones en el número de copias (duplicaciones, deleciones y reordenamientos cromosómicos), las cuales abarcan el ~12% del genoma y son responsables del 14.5% de las alteraciones moleculares de genes implicados en enfermedades humanas (19). Las alteraciones en

el número de genes sensibles a la dosis han sido relacionadas con múltiples enfermedades genéticas, como por ejemplo la enfermedad de Charcot-Marie-Tooth tipo 1A, la neuropatía hereditaria con susceptibilidad a la parálisis por presión, la enfermedad de Parkinson, la enfermedad de Alzheimer, los trastornos del espectro autista y la esquizofrenia (19).

Hasta la fecha sólo se han descrito duplicaciones en *NIPBL* y *SMC1A*, sin embargo los pacientes portadores de éstas no ha sido diagnosticados de SCdL o como afectos de cohesinopatías. En este trabajo se reporta el segundo paciente portador de una duplicación en *SMC1A*, que tiene una afectación multisistémica y una alteración molecular que, aunque no presenta un cuadro clínico compatible con SCdL clásico, lo incluye dentro de los desórdenes de las cohesinas.

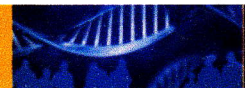
SEPARATA ARTÍCULO PUBLICADO

**MEMORIA CIENTÍFICA DEL PROYECTO DE
INVESTIGACIÓN**

Título

**COULD A PATIENT WITH *SMC1A* DUPLICATION BE
CLASSIFIED AS A HUMAN COHESINOPATHY?**

Clin Genet 2013; DOI: 10.1111/cge.12194



Short Report

Could a patient with *SMC1A* duplication be classified as a human cohesinopathy?

Baquero-Montoya C, Gil-Rodríguez MC, Teresa-Rodrigo ME, Hernández-Marcos M, Bueno-Lozano G, Bueno-Martínez I, Remeseiro S, Fernández-Hernández R, Bassecourt-Serra M, Rodríguez de Alba M, Queralt E, Losada A, Puisac B, Ramos FJ, Pié J. Could a patient with *SMC1A* duplication be classified as a human cohesinopathy? Clin Genet 2013. © John Wiley & Sons A/S. Published by John Wiley & Sons Ltd, 2013

The disorders caused by mutations in genes encoding subunits and accessory proteins of cohesin complex are collectively termed as cohesinopathies. The best known cohesinopathy is Cornelia de Lange Syndrome (CdLS), which is a multisystem developmental disorder characterized by facial dysmorphism, limb malformations, growth and cognitive impairment. Mutations in five genes, encoding subunits of the cohesin complex (*SMC1A*, *SMC3*, *RAD21*) and its regulators (*NIPBL*, *HDAC8*), are responsible for ~70% of CdLS cases. We describe a 16-year-old boy with facial dysmorphism, growth retardation, intellectual disability, hirsutism and small hands, who has a small Supernumerary Marker Chromosome (sSMC) present in mosaic form. sSMC is composed of two duplicated segments encompassing 17 genes including *SMC1A* gene, at the regions Xp11.22 and Xp11.21q11.1. Clinical comparison between our patient with a previously reported individual with a *SMC1A* duplication and four male carriers of similar sSMC reported in databases, suggest that they all share clinical features related to cohesinopathies. Although our patient does not have the classical CdLS craniofacial phenotype, he has pre and postnatal growth retardation, intellectual disability and mild musculoskeletal anomalies, features commonly seen in patients with cohesinopathies.

Conflict of interest

All authors declare no conflict of interest.

**C Baquero-Montoya^{a,b},
MC Gil-Rodríguez^a,
ME Teresa-Rodrigo^a,
M Hernández-Marcos^a,
G Bueno-Lozano^b,
I Bueno-Martínez^{a,b},
S Remeseiro^c, R
Fernández-Hernández^d,
M Bassecourt-Serra^e,
M Rodríguez de Alba^f, E
Queralt^d, A Losada^c, B Puisac^a,
FJ Ramos^{a,b} and J Pié^a**

^aUnit of Clinical Genetics and Functional Genomics, Departments of Pharmacology-Physiology and Pediatrics, Medical School, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain, ^bService of Pediatrics, Hospital Clínico Universitario "Lozano Blesa", Zaragoza, Spain, ^cChromosome Dynamics Group, Molecular Oncology Programme, Spanish National Cancer Research Center (CNIO), Madrid, Spain, ^dCell Cycle Group, Cancer Epigenetics and Biology Program (PEBC), Institut d'Investigacions Biomèdiques de Bellvitge (IDIBELL), L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain, ^eDepartment of Molecular Genetics, Hospital Universitario "Miguel Servet", Zaragoza, Spain, and ^fDepartment of Genetics, Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

Key words: CdLS – Cornelia de Lange Syndrome – human cohesinopathy – small Supernumerary Marker Chromosome – *SMC1A* duplication – sSMC

Corresponding author:
Juan Pié, MD, PhD, Unit of Clinical Genetics and Functional Genomics, Departments of Pharmacology-Physiology, University of Zaragoza, Medical School, c/ Domingo Miral s/n, Zaragoza E-50009, Spain
Tel.: +34 976 76 16 77;
fax: +34 976 76 17 00;
e-mail: juanpie@unizar.es

Cohesinopathies are disorders caused by mutations in structural or regulatory proteins of cohesin complex (1). The core cohesin complex consists of four-subunit ring-like complex, formed by two structural maintenance of chromosomes (SMC) proteins (SMC1A and SMC3) and two non-SMC subunits (RAD21 and a STAG protein) (1), which interact with a wide number of proteins, most notably NIPBL, ESCO2, and HDAC8 (2). Among the functions of this complex are chromosome segregation, DNA repair and gene expression as well as chromosome conformation (1). The best known cohesinopathy is Cornelia de Lange Syndrome (CdLS; OMIM 1227470, 300590, 610759, 614701, and 300882) (3). Mutations in five genes, encoding components of the cohesin complex (*SMC1A*, *SMC3* and *RAD21*) and its regulators (*NIPBL* and *HDAC8*) have been found in CdLS patients (4–9). Other known cohesinopathies, are Roberts-SC phocomelia, Warsaw Breakage Syndrome and X-linked intellectual disability with α -thalassemia (1). Even though each of them has distinctive craniofacial features, they share common phenotypic findings including intellectual disability, growth retardation and limb abnormalities (1).

Here, we report on the second case with duplication in *SMC1A*. It is well known that duplications produce a milder disorder, indeed the first reported proband, who carried *SMC1A* duplication, did not have phenotypic findings suggestive of CdLS (10). Our patient is the second reported case with *SMC1A* duplication, who has a multisystem involvement and a molecular alteration. Although his craniofacial features did not resemble CdLS, he can be included within the cohesin disorders.

Materials and methods

Clinical description

The patient is the second child of a healthy and unrelated 35-year-old father and a 31-year-old mother. There was no family history of congenital defects or intellectual disability. Intrauterine growth retardation was detected in prenatal ultrasound. He was born at 38 weeks of gestation by vaginal delivery. Apgar score was 9 in the first minute and 10 at 5 min. Birth weight was 2330 g, length 44 cm and head circumference 31 cm (<3rd centile for gestational age). At birth, the craniofacial features included microcephaly, synophrys, arched and bushy eyebrows, long eyelashes, broad nasal bridge, prominent philtrum, down-turned corners of the mouth, micro-retrognathia, low-anterior hairline and hirsutism (Fig. 1a–d). He also had brachydactyly, bilateral fifth finger clinodactyly, small hands and feet (<3rd centile) and hyperextensible joints (Fig. 1e–f). Ophthalmologic evaluation revealed hypermetropia with normal retina. Brain evoked auditory response and echocardiogram were normal. No symptoms of

gastroesophageal reflux disease were present. Abdominal ultrasound showed cortical atrophy on the left kidney with vesicoureteral reflux (which spontaneously resolved at 6 years of age) and a bladder diverticulum. At age 5, the patient showed a significant global developmental delay and began with seizures. At the last evaluation, at the age of 15 years, his weight was 42 kg (<3rd centile), height 158 cm (<3rd centile) and head circumference 51.5 cm (<3rd centile). He had learning disabilities with an IQ of 57, according to the Wechsler Adult Intelligence Scale. He also had extreme shyness, autistic-like features and attention deficit-hyperactivity disorder. A more detailed clinical description of the patient is provided in Table 1.

Cytogenetic analysis

High-resolution cytogenetic analysis using GTG banding was performed from cultured peripheral blood lymphocytes of the patient and his parents following standard procedures.

Array comparative genomic hybridization (aCGH)

Peripheral blood DNA samples from the patient and his parents were tested with the qChip Post oligonucleotide microarray (Quantitative Genomic Medicine Laboratories, Barcelona, Spain). This aCGH has 60,000 probes mainly located in pericentromeric and subtelomeric regions, as well as regions associated to syndromes caused by recurrent genomic alterations, with 35 kb overall median probe spacing and giving a resolution of 100–125 kb. After hybridization, slides were scanned and analyzed for relative gain or loss of fluorescent signals from hybridization of the probands and reference DNAs. Genomic region analyses were performed according to the human reference sequence build 36.1 (hg18) with the GENOMIC WORKBENCH software.

Fluorescence in situ hybridization (FISH) analysis

To confirm results of aCGH, FISH analyses were performed on interphase nuclei and metaphase chromosome spreads from fibroblast of the patient by standard procedures. Four different probes were used: (i) CEP X (DXZ1) spectrum green and (ii) CEP Y (DYZ3) spectrum orange, both probes hybridized according to the manufacturer's instructions (Abbott Molecular, Des Plaines, IL), (iii) bacterial artificial chromosomes (BAC) clone RP11-619J22 (chrX: 53,34–53,50 Mb; spectrum red labeled) located at Xp11.22 and overlapping *SMC1A* locus, and (iv) clone RP11-431N15 (chrX: 56,57–56,75 Mb; spectrum green labeled) mapping to Xp11.21. BAC clones were hybridized following Abbott protocol for sequence-specific probes and using the LSI/WCP buffer (Abbott Molecular).

Could a patient with *SMC1A* duplication be classified as a human cohesinopathy?



Fig. 1. Phenotype of the patient. Frontal views of the patient at the age of (a) 4, (b) 6 and (c–d) 16. (e) Left hand at the age of 6 years. (f) Roentgenogram of the left hand at the age of 16 years.

Immunoblot analysis

Primary fibroblasts were cultured in Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) supplemented with 10% fetal calf serum. Cells were collected by trypsinization, counted, washed once in cold PBS, resuspended in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) loading buffer and sonicated. After boiling, samples were run in 7.5% Bis/Tris gels followed, by Western blotting with antibodies against cohesin subunits (11) and tubulin (Sigma-Aldrich, Madrid, Spain, DM1A).

Results

Cytogenetic analysis

High-resolution G-banding in the patient showed 47, XY, +mar karyotype (Fig. 2a), which means a small Supernumerary Marker Chromosome. Parents had normal karyotypes.

aCGH

The qChip post oligonucleotide microarray revealed a gain in copy number at the Xp11.22 region spanning ~1.1 Mb, encompassing the *SMC1A*, *KDM5C*, *IQSEC2*, *RIBC1*, *HSD17B10*, *HUWE1*, *PHF8*, *FAM120C* and *WNK3* genes [arr Xp11.22(53,177,039-54,294,634)x2 hg18] (Fig. 2b). A second ~6.3 Mb duplication was detected as well [arr Xp11.21q11.1(56,191,696-62,515,210)x2 hg18], which contained the following genes: *MIR98*, *KLF8*, *UBQLN2*, *SPIN2B*, *SPIN2A*, *FAAH2*, *ZXDB*, *ZXDA*. These duplications were *de novo* mutations as the parents of the proband tested negative for both duplications.

FISH analysis

FISH analyses performed on interphase nuclei spreads from patient's fibroblasts using a probe from the chromosome X centromere showed the presence of 47,XY+der(X)(Xp11.1→q11.1)[48]/46,XY[52] mosaicism (data not showed). Metaphase FISH analyses with the same probe revealed a distinct signal on the sSMC, confirming that it was originated from chromosome X (Fig. 2ci–iii). Hybridization with BAC clone probes from Xp11.22 and Xp11.21 showed that both duplicated regions were located on sSMC, therefore bearing an additional copy of the *SMC1A* gene. (Fig. 2cii–ii').

Immunoblot analysis

We checked protein levels of several subunits of the cohesion complex in whole cell extracts prepared from fibroblasts of the patient, his parents and additional male and female healthy probands (Fig. 3a). We could not detect significant differences in the protein levels of *SMC1A* among the samples (Fig. 3b).

Discussion

Our patient was initially evaluated due to multiple congenital anomalies, pre and postnatal growth retardation and global developmental delay. Shortly after birth, a G-banded karyotype revealed 47,XY,+mar. Afterwards an aCGH was performed for a better characterization of the sSMC, the result showed a first duplication at the Xp11.22 region spanning ~1.1 Mb, encompassing nine genes, including *SMC1A* (Fig. 2b; Table S1). A second duplication was subsequently found, located at Xp11.21q11.1, which is not currently related with pathological clinical signs (12).

FISH analyses allow to locate the duplicated segments inside sSMC, derived from the X chromosome but without the *XIST* gene (Fig. 2c). Therefore, the clinical findings found in the patient could be the result of a functional disomy of known genes contained in it (13). To further investigate the correlation between the pathological duplication and the patient's phenotype, we carried out a database search of the clinical features of reported individuals with duplications of these genes. Seven out of nine duplicated genes were related to clinical signs found in the proband (Table S1) (14–18). Although his phenotype seems to be caused mainly due to the pathogenic effect of *SMC1A* (6, 7, 19, 20), other duplicated genes also brain expressed might contribute to the neurological involvement (14–18). Despite the clinical findings, we did not find a significant increase of the *SMC1A* protein levels in the patient's fibroblasts (Fig. 3). Similar analyses were performed in *SMC1A*-mutated probands, which were also inconclusive (21). Additionally, the mosaic status of the patient could make the detection of differences more difficult (22).

It is well known that duplications produce a milder phenotype compared to mutations in the same gene (10). The *SMC1A* duplication, in our case, does not result in the typical craniofacial features that may allow us to classify him as CdLS. However, he shares some of the clinical findings, also described in cohesinopathies,

Table 1. Clinical comparison between CdLS and SMC1A duplication phenotypes

Clinical findings	CdLS (1, 3, 7)	Previous case with SMC1A duplication (10)	Our case
Birth and growth parameters			
Birth weight	<3 rd centile	–	<3 rd centile
Birth length	<3 rd centile	–	<3 rd centile
Birth HC	<3 rd centile	–	<3 rd centile
Weight	<3 rd centile	–	<3 rd centile
Height	<3 rd centile	–	<3 rd centile
HC	<3 rd centile	–	<3 rd centile
Craniofacial features			
Eye			
Synophrys	+	–	+
Arched eyebrows	+	–	+
Bushy eyebrows		N/A	+
Long eyelashes	+	+	+
Nose			
Depressed nasal bridge	+	+	+
Philtrum			
Prominent	+	N/A	+
Mouth			
Thin upper lip	+	N/A	–
Downturned corners	+	N/A	+
Micrognathia	+	N/A	+
Ear			
Low set	+	+	–
Skull			
Microcephaly	+	+	+
Neurologic, developmental and behavior manifestations			
Hypotonia/hypertonia	+	+	+
Seizures	+	+	+
Intellectual disability	+	+	+
Behavior disorders			
Autistic-like features	+	–	+
Aggression	+	+	–
Anxiety	+	+	+
ADHD	+	N/A	+
Global developmental delay	+	+	+
Musculoskeletal anomalies			
Small hands	+	–	+
Fifth finger clinodactyly	+	+	+
Proximally placed thumb	+	N/A	–
Single palmar crease	+	N/A	–
Small feet	+	N/A	–
Second to third toe syndactyly	+	N/A	–
Limited elbow extension	+	N/A	–
Broad chest	+	N/A	+
Widely spaced nipples	+	N/A	+
Ophthalmologic abnormalities			
Palpebral ptosis	+	N/A	–
Myopia	+	N/A	–
Hypermetropia	+	N/A	+
ENT anomalies			
Sensorineural hearing loss	+	N/A	–
Dermatologic manifestations			
Hirsutism	+	+	+
Congenital heart disease	+	N/A	–
Gastrointestinal manifestations			
GERD	+	N/A	–
Genitourinary malformations			
VUR	+	+	+
Hypoplastic kidneys	+	–	+
Bladder diverticula	–	–	+
Other findings			
Recurrent infections	–	+	+

ADHD, attention deficit hyperactivity disorder; CdLS, Cornelia de Lange Syndrome; ENT, ear–nose–throat; GERD, gastroesophageal reflux disease; HC, head circumference; N/A, not available; +, present; –, not present; VUR, vesicoureteral reflux.

Could a patient with *SMC1A* duplication be classified as a human cohesinopathy?

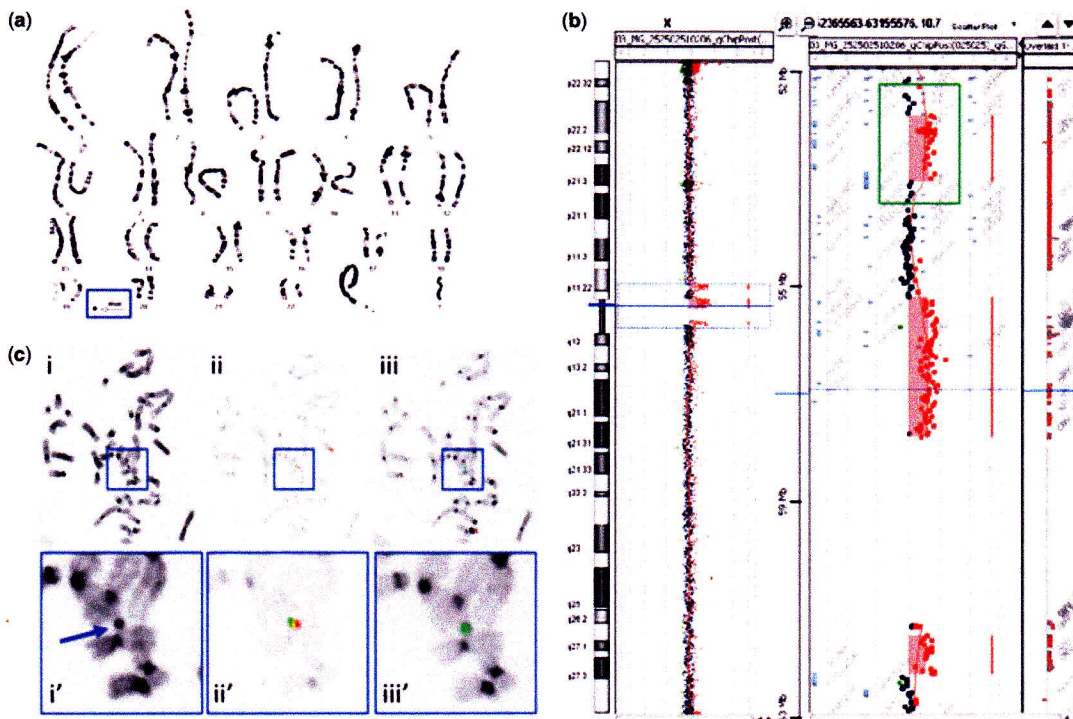


Fig. 2. (a) High-resolution G banding showing the 47,XY,+mar karyotype. The blue rectangle shows the sSMC. (b) aCGH detected two gains of 1.1 Mb (nine genes) and 6.3 Mb (eight genes). The green rectangle shows the duplicated region containing the *SMC1A* gene. (c) FISH analyses performed on metaphase chromosomes from the patient's fibroblasts using the centromere-X probe showed green signals on both the normal chromosome X and sSMC (indicated with a blue arrow) (panels i, i', iii and iii'). FISH analysis with the centromere-Y probe showed a consistent red signal (panel iii). Hybridization with BAC clones, RP11-619J22 (red) at Xp11.22 mapping to the *SMC1A* region and RP11-431N15 at Xp11.21 (green), indicated that both duplicated regions are inserted into sSMC (panels i, i', ii and ii'). Panels i', ii', and iii' are higher magnification of the selected areas from i, ii, and iii panels, respectively.

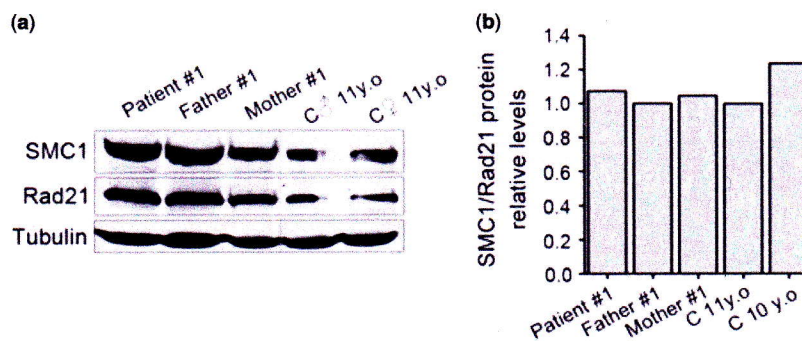


Fig. 3. *SMC1A* protein levels in fibroblasts. (a) Immunoblot analysis of whole cell extracts prepared from primary fibroblasts with antibodies against *SMC1*, *RAD21* and tubulin as loading control. Samples correspond to the patient, his parents and two healthy controls from both sexes. (b) Signals were quantified with Li-Cor Imaging System and the abundance of *SMC1* with respect to *RAD21* was plotted relative to one of the samples (father).

like pre and postnatal growth retardation, intellectual and behavior impairments and minor musculoskeletal anomalies (Table 1).

To date, a single duplication including *SMC1A* has been reported in an individual with intellectual disability but his phenotype remains uncertain, maybe because of the large size of the imbalance (174 genes) (10). Yet, comparisons between that case and ours were made (Table 1) (10). Among the differences found,

our case was dysmorphic, he had pre and postnatal growth retardation, minor musculoskeletal anomalies and extreme shyness; features not reported in the first patient (Table 1) (10). But we found similarities as well, such as intellectual disability, developmental delay, behavior impairment, seizures and renal malformations (Table 1). The coincident neurological involvement supports the hypothesis that the brain is the organ most sensitive to cohesin disruption. Moreover, the detected

discrepancies might be the result of the larger duplication size found in the first reported individual (2).

The recent availability of sSMC databases (12) makes possible to look for patients with similar duplications inside marker chromosomes. Thus, we identified four probands with Xp duplication, which included the *SMC1A* gene. Interestingly, all of them had several of the typical features of cohesin disorders (12, 13, 23, 24), but none of them has been encompassed within a specific disorder (Table S2).

Finally, we propose that although individuals with *SMC1A* duplication cannot be classified as CdLS, they could be included within the cohesinopathies, since their phenotypes share common features with most of these disorders. Additionally, the involvement of the cohesin complex's genes should be considered in patients with unexplained intellectual disability, behavior impairments, growth retardation or musculoskeletal anomalies, either by analysis of mutations or by copy number variations.

Supporting Information

The following Supporting information is available for this article:

Table S1. Clinical features of duplicated genes related to the clinical features found in the proband

Table S2. Overview of the clinical features of reported males with a sSMC derived from the X chromosome

Additional Supporting information may be found in the online version of this article.

Acknowledgements

We sincerely thank the patient and his family for participating in this study. We also thank Quantitative Genomic Medicine Laboratories (qGenomics, Barcelona, Spain) for their technical assistance. This study was funded by grant from The Spanish Ministry of Health - Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) (Ref.# PS09-01422), the Diputación General de Aragón (Grupo Consolidado B20), European Social Fund (Construyendo Europa desde Aragón), University of Zaragoza (Ref.# PIF-UZ_2009-BIO-02), Ministerio de Economía y Hacienda (SAF2010-21517), and Fundació la Marató de TV3.

References

- Liu J, Krantz ID. Cornelia de Lange syndrome, cohesin, and beyond. *Clin Genet* 2009; 76: 303–314.
- Mannini L, Liu J, Krantz ID, Musio A. Spectrum and consequences of *SMC1A* mutations: the unexpected involvement of a core component of cohesin in human disease. *Hum Mutat* 2010; 31: 5–10.
- Kline AD, Krantz ID, Sommer A et al. Cornelia de Lange syndrome: clinical review, diagnostic and scoring systems, and anticipatory guidance. *Am J Med Genet A* 2007; 143A: 1287–1296.
- Krantz ID, McCallum J, DeScipio C et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in *NIPBL*, the human homolog of *Drosophila melanogaster* Nipped-B. *Nat Genet* 2004; 36: 631–635.
- Tonkin ET, Wang TJ, Lisgo S, Bamshad MJ, Strachan T. *NIPBL*, encoding a homolog of fungal *Scc2*-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-B, is mutated in Cornelia de Lange syndrome. *Nat Genet* 2004; 36: 636–641.
- Musio A, Selicorni A, Focarelli ML et al. X-linked Cornelia de Lange syndrome owing to *SMC1L1* mutations. *Nat Genet* 2006; 38: 528–530.
- Deardorff MA, Kaur M, Yaeger D et al. Mutations in cohesin complex members *SMC3* and *SMC1A* cause a mild variant of cornelia de Lange syndrome with predominant mental retardation. *Am J Hum Genet* 2007; 80: 485–494.
- Deardorff MA, Wilde JJ, Albrecht M et al. *RAD21* mutations cause a human cohesinopathy. *Am J Hum Genet* 2012; 90: 1014–1027.
- Deardorff MA, Bando M, Nakato R et al. *HDAC8* mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. *Nature* 2012; 489: 313–317.
- Yan J, Zhang F, Brundage E et al. Genomic duplication resulting in increased copy number of genes encoding the sister chromatid cohesion complex conveys clinical consequences distinct from Cornelia de Lange. *J Med Genet* 2009; 46: 626–634.
- Remeseiro S, Cuadrado A, Gómez-López G, Pisano DG, Losada A. A unique role of cohesin-SA1 in gene regulation and development. *EMBO J* 2012; 31: 2090–2102.
- Liehr T. <http://www.fishuniklinikum-jenade/sSMC.html>. Accessed on January 31, 2013.
- Baker PR, Tsai AC, Springer M et al. Male with mosaicism for supernumerary ring X chromosome: analysis of phenotype and characterization of genotype using array comparative genome hybridization. *J Craniofac Surg* 2010; 21: 1369–1375.
- Poeta L, Fusco F, Drongitis D et al. A regulatory path associated with X-linked intellectual disability and epilepsy links *KDM5C* to the polyalanine expansions in *ARX*. *Am J Hum Genet* 2013; 92: 114–125.
- Shoubridge C, Tarpey PS, Abidi F et al. Mutations in the guanine nucleotide exchange factor gene *IQSEC2* cause nonsyndromic intellectual disability. *Nat Genet* 2010; 42: 486–488.
- Froyen G, Corbett M, Vandewalle J et al. Submicroscopic duplications of the hydroxysteroid dehydrogenase *HSD17B10* and the E3 ubiquitin ligase *HUWE1* are associated with mental retardation. *Am J Hum Genet* 2008; 82: 432–443.
- Abidi F, Miano M, Murray J, Schwartz C. A novel mutation in the *PHF8* gene is associated with X-linked mental retardation with cleft lip/cleft palate. *Clin Genet* 2007; 72: 19–22.
- Qiao Y, Liu X, Harvard C et al. Autism-associated familial microdeletion of Xp11.22. *Clin Genet* 2008; 74: 134–144.
- Pié J, Gil-Rodríguez MC, Ciero M et al. Mutations and variants in the cohesion factor genes *NIPBL*, *SMC1A*, and *SMC3* in a cohort of 30 unrelated patients with Cornelia de Lange syndrome. *Am J Med Genet A* 2010; 152A: 924–929.
- Rohatgi S, Clark D, Kline AD et al. Facial diagnosis of mild and variant CdLS: insights from a dysmorphologist survey. *Am J Med Genet A* 2010; 152A: 1641–1653.
- Liu J, Feldman R, Zhang Z et al. *SMC1A* expression and mechanism of pathogenicity in probands with X-linked Cornelia de Lange syndrome. *Hum Mutat* 2009; 30: 1535–1542.
- Liehr T, Klein E, Mrasek K et al. Clinical impact of somatic mosaicism in cases with small supernumerary marker chromosomes. *Cytogenet Genome Res* 2012; DOI: 10.1159/000346026.
- Santos M, Mrasek K, Rigola MA, Starke H, Liehr T, Fuster C. Identification of a “cryptic mosaicism” involving at least four different small supernumerary marker chromosomes derived from chromosome 9 in a woman without reproductive success. *Fertil Steril* 2007; 88: 969.e911–969.e967.
- Le Caignec C, Boceno M, Joubert M et al. Prenatal diagnosis of a small supernumerary, XIST-negative, mosaic ring X chromosome identified by fluorescence in situ hybridization in an abnormal male fetus. *Prenat Diagn* 2003; 23: 143–145.

Supplementary Table 1. Clinical features of duplicated genes related to the clinical features found in the proband.

Clinical findings	KDM5C (14)	IQSEC2 (15)	SMC1A (6,7)	HSD17B10 (16)	HUWE1 (16)	PHF8 (17)	FAM120C (18)	WNK3 (18)
Neurological	Intellectual disability Microcephaly Seizures Facial hypotonia Slowly progressive spastic paraplegia Hyperreflexia	Intellectual disability Normal head circumference Seizures Hypotonia No muscular weakness	Intellectual disability Microcephaly Seizures	Intellectual disability Seizures Hypotonia Severe dysarthria Choreoathetosis	Intellectual disability Macrocephaly	Intellectual disability	Intellectual disability	Intellectual disability
Behavior	Speech delay Autistic spectrum disorder Hyperactivity Aggressive behavior Overfriendly/ Anxious character	Developmental delay Autistic spectrum disorder Abnormal behavior	Developmental delay Speech delay	Developmental delay Speech delay Attention Deficit and Hyperactivity Disorder Abnormal behavior	Developmental delay Speech delay			Autistic spectrum disorder Schizophrenia
Growth	Postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation
Other	Deep set eyes Prominent nasal bridge Prominent ears Slight maxillary hypoplasia	Brachycephaly Fixed flexion deformity of the elbows	Arched eyebrows Long and curly eyelashes Synophrys Anteverted nostrils Long and featureless philtrum Thin lips Downturned corners of the mouth Micrognathia	Dysmorphic face Dehydration Hypoglycemia Visual loss	Variable contractures	Siderius Hamel Syndrome		

<p>Pectus excavatum Small feet</p> <p>Big hands with large fingers and proximal thumbs</p>	<p>Pectus excavatum Small hands and feet</p> <p>Recurrent respiratory infections</p> <p>Gastroesophageal reflux disease</p> <p>Hirsutism</p>
---	---

Clinical comparison between clinical features of the proband and the reported findings associated with duplicated genes. The findings marked in bold are those shared by the proband. Note the **SMC1A** predominance.

Supplementary Table 2. Overview of the clinical features of reported males with a sSMC derived from X-chromosome.

Reference	This paper (23)	Santos et al., 2010 (23)	Baker et al., 2010 (13)	Numabe et al., 2006 (12)	Le Caignec et al., 2003 (24)
Age at diagnosis	postnatal	postnatal	prenatal	3 y	prenatal
Inherited or <i>de novo</i>	<i>de novo</i>	<i>de novo</i>	<i>de novo</i>	<i>de novo</i>	<i>de novo</i>
G-TG karyotype [% mosaicism]	47,XY,+mar	47,XY,+mar[100%]	47,XY,+mar[9]/ 46,XY[11]	47,XY,+mar[22]/ 46,XY[8]	48,XY,+r,r[6]/ 47,XY,+r[10]/ 46,XY[4]
sSMC characterization		min(X)(p11.1-?3→q11.1:)[1] min(X)(p11.1→q11.1:)[2]/ min(X)(p11.2?2→q11.1:q11.1→p11.1:)[4]/ min(X)(p11.1→q11.1:q11.1→p11.1:)[6]	r(X)(:p11.3→q13.1:)	min(X)(p11.22→q11.1~11.2:)	r(X)(:p11→q12~13.1:)
Growth findings	Postnatal growth retardation	Postnatal growth retardation	Pre- and postnatal growth retardation		
Craniofacial features	Arched eyebrows	Low-anterior hairline	Wide midface	Arched eyebrows	Brachycephaly
	Synophrys		Bifid flame nevus on the forehead		
	Long eyelashes	Strabismus	Hypertelorism	Hypertelorism	Hypertelorism
	Broad nasal bridge	Broad nose	Epicanthal folds		Depressed nasal bridge
	Square nasal tip	Thin upper lip	Mild eye proptosis with shallow orbits	Epicanthal folds	Anteverted nares
	Downturned corners of the mouth		Bifid and upturned nasal tip	Low set ears	Cleft palate
	Micrognathia		Anteverted nares	Short nose	
			Posteriorly rotated low set ears	Depressed nasal tip	

	High-arched palate	Long philtrum
Musculoskeletal abnormalities	<p>Small hands</p> <p>Brachydactyly</p> <p>Bilateral 5th finger clinodactyly</p> <p>Dysplastic sacral bones</p> <p>Cutaneous syndactyly of fingers in both hands</p> <p>Broad thumbs</p> <p>Bilateral 3-4 cutaneous syndactyly</p> <p>Distal limb asymmetry</p> <p>Bilateral 5th finger clinodactyly</p>	<p>Small mouth</p> <p>Bilateral 5th finger clinodactyly</p> <p>Syndactyly of the 2nd and 3rd toes</p>
Neurologic signs	<p>Microcephaly</p> <p>Intellectual disability</p> <p>Hypertonia</p> <p>Seizures</p> <p>Microcephaly</p> <p>Severe intellectual disability and developmental delay</p>	<p>Dandy-Walker malformation with vermian agenesis</p> <p>Agnesis of the corpus callosum and septal pellucidum</p> <p>Dilated ventricles.</p>
Behavior manifestations	<p>Hyperactivity</p> <p>Speech delay</p> <p>Autistic Spectrum Disorder</p> <p>Extreme shyness</p>	<p>Hyperactivity</p> <p>Speech delay</p> <p>Motor developmental delay</p>
Other findings	<p>Anxiety</p> <p>Hirsutism</p> <p>Vesicoureteral reflux</p> <p>Hypoplastic kidneys</p> <p>Bladder diverticula</p> <p>Cloacal dysgenesis with anal atresia</p> <p>Severe bilateral vesicoureteral reflux</p> <p>Intestinal malrotation and mesenteric cyst</p> <p>Immature vesical teratoma containing neuroblastoma cells</p>	<p>Mild pectus excavatum</p> <p>Hypospadias and bilateral cryptorchidism, shallow sacral dimple, narrow anus</p> <p>Whorls and streaks of hyperpigmentation over trunk and extremities</p> <p>Rudimentary cervix and uterus</p>

Recurrent infections	with bilateral fallopian tubes
	Patent ductus arteriosus
	Single left kidney
	Severe gastroesophageal reflux

Abbreviations: sSMC: small Supernumerary Marker Chromosome

SEPARATAS PRESENTACIONES EN CONGRESOS

MEMORIA DE PRACTICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Títulos

APARICIÓN DE CASOS FAMILIARES DEL SCdL

VII Congreso Nacional del Síndrome Cornelia de Lange

La Coruña, 3 de Noviembre del 2012

DUPLICATION OF *SMC1A* LEADS TO CORNELIA DE LANGE SPECTRUM PHENOTYPE

10th Asia-Pacific Conference on Human Genetics

Kuala Lumpur, Malaysia, December 5th 2012

APARICIÓN DE CASOS FAMILIARES DEL SCdL

JUSTIFICACIÓN

La siguiente presentación fue realizada para el VII Congreso del Síndrome de Cornelia de Lange, el cual está dirigido a los pacientes y sus familias. En él se busca transmitir los conocimientos actuales y avances sobre el síndrome. En este caso en particular, se busco actualizar el concepto de casos familiares en este desorden. Previamente era aceptado que los casos familiares podian ocurrir en familias donde alguno de los padres estaba afectado del síndrome, lo cual es denominado transmisión autosómica dominante. Pero desde hace algunos años se viene introduciendo el mosaicismo germinal como mecanismo causal de casos, en los que los padres son portadores de la mutación a nivel de óvulo o espermatozoides y carecen de los hallazgos físicos del síndrome.

Aparición de casos familiares del SCdL

VII Congreso Nacional del Síndrome Cornelia de Lange

Carolina Baquero Montoya

CASO NUEVO EN LA FAMILIA

¿ Caso espontáneo ?

¿ Riesgo de recurrencia en una próxima gestación ?

Caso nuevo
Autosómica Dominante (Algún padre afectado)
Mosaicismo germinal

Modelos de herencia

Autosómico dominante

Patrón vertical

Mosaicismo germinal

Expresividad variable

Autosómico dominante

Cómo se Transmite la Herencia Dominante
El padre o la madre tienen un único gen defectuoso (D), que domina sobre el efecto del correspondiente gen normal (n).

Cada hijo/a tiene un 50% de posibilidades de heredar el gen D o el N de su padre o madre.

Varios individuos afectados

Afecta por igual a hombres y a mujeres

La mitad de la descendencia hereda la afectación

No salta generaciones

PATRON VERTICAL

Mosaicismo germinal


La mutación afecta a una parte de los óvulos o espermatozoides

La mutación puede transmitirse a la DESCENDENCIA

Casos familiares descritos en la literatura

Dos hermanas reportadas por la Dra. de Lange en 1933

¿1º CASO FAMILIAR debido a MOSAICISMO GERMINAL?

Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional 


Casos familiares descritos en la literatura

Exclusion of Linkage to the CDLI Gene Region on Chromosome 3q26.2 in Some Familial Cases of Cornelia de Lange Syndrome

Am J Hum Genet. 2001;68(1):101-105.

Krantz et al., 2001:

Exclusión por ligamiento de la región del gen CDLI en el cromosoma 3q26.3 en algunos casos familiares de SCdL



Descripción 9 casos familiares

Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional 


Casos familiares descritos en la literatura

Exclusion of Linkage to the CDLI Gene Region on Chromosome 3q26.2 in Some Familial Cases of Cornelia de Lange Syndrome

Am J Hum Genet. 2001;68(1):101-105.



HERENCIA AUTOSÓMICA DOMINANTE ó
MOSAICISMO GERMINAL

Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional 

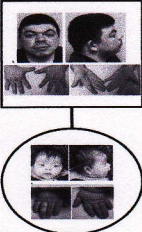
Casos familiares descritos en la literatura

Dominant Paternal Transmission of Cornelia de Lange Syndrome: A New Case and Review of 25 Previously Reported Familial Recurrences

Am J Hum Genet. 2001;68(1):101-105.

Russel et al., 2001:

Transmisión dominante paterna del SCdL



Revisión de 25 casos familiares
Descripción de 1 nuevo caso familiar

Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional 

Casos familiares descritos en la literatura

FATHER-DAUGHTER TRANSMISSION OF CORNELIA DE LANGE SYNDROME CAUSED BY A MUTATION IN THE 5' UNTRANSLATED REGION OF THE NIPBL GENE

Am J Hum Genet. 2006;78(2):301-305.

Borck et al., 2006




Transmisión de Padre a Hija de Síndrome de Cornelia de Lange causado por una mutación en la región 5' UTR del gen NIPBL

Hallazgos Clínicos similares

Mutación en NIPBL +



Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional 

Consideraciones en casos familiares



Sordera / Hipoacusia


Retraso Psicomotor

Ateraciones en el aprendizaje

Trastornos de Comportamiento

Talla baja

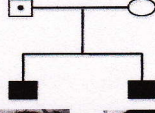
Características fenotípicas

Unidad de Genética Clínica y Genómica Funcional 

Mosaicismo Germinal


Paternal gonadal mosaicism of NIPBL mutation in a father of siblings with Cornelia de Lange syndrome

Am J Hum Genet. 2006;78(2):301-305.



Niu et al., 2006:

Mosaicismo gonadal paterno de una mutación en NIPBL en un padre de dos hermanos con SCdL



Unidad de Genética Clínica y Genética Funcional

CLINICAL REPORT medicina genética

Germine Mosaicism in Cornelia de Lange Syndrome

Slavin et al., 2012

Mosaico Germinal en el Síndrome de Cornelia de Lange

Riesgo Actual de Recurrencia: 3.4% al 5.4%

Unidad de Genética Clínica y Genética Funcional

Casos familiares descritos en la literatura

Transmisión dominante **Mosaicismo germinal**

Unidad de Genética Clínica y Genética Funcional

C0051 y C0051c

No consanguinidad

2011 2002

Alteraciones en el aprendizaje
Trastorno de Comportamiento
Estenosis pulmonar

■ : Afectado
■ : Sospechoso

Unidad de Genética Clínica y Genética Funcional

C0051 y C0051c

No consanguinidad

Talla baja
Trastornos de Conducta
Alteraciones en el aprendizaje

2011 2002

■ : Afectado
■ : Sospechoso

Unidad de Genética Clínica y Genética Funcional

C0073 y C0073a

Alteraciones en el aprendizaje
Trastorno de Comportamiento
Estenosis pulmonar

■ : Afectado
■ : Sospechoso

DUPLICATION OF *SMC1A* LEADS TO CORNELIA DE LANGE SPECTRUM PHENOTYPE

JUSTIFICACIÓN

EL Síndrome de Cornelia de Lange (SCdL) es un trastorno del desarrollo multisistémico caracterizado por dismorfia facial, malformaciones de las extremidades, retraso en el crecimiento y el deterioro cognitivo. Las mutaciones en cinco genes, que codifican los componentes del complejo de cohesión, son responsables de ~ 70% de los casos SCdL. El aumento o la disminución del número de copias del mismo gen puede potencialmente causar características clínicas similares o diferentes. Hasta la fecha, las duplicaciones notificadas de los genes *NIPBL* y *SMC1A*, no han sido clasificados como SCdL.

Aquí presentamos el segundo caso de la duplicación en *SMC1A*, que tiene un fenotipo similar al SCdL. El paciente tenía un cariotipo 47, XY, + mar y un aCGH que reveló dos regiones duplicadas en el Xp11.22 y Xp11.21q11.1, que fueron confirmados y localizados por análisis FISH dentro de un pequeño cromosoma marcador supernumerario derivados de cromosoma X , rara vez visto en varones.

Hasta la fecha, se ha planteado la hipótesis de que los hallazgos clínicos podrían ser el resultado de la disomía funcional de los genes conocidos que aparecen en la sSMC, *SMC1A* entre ellos. La duplicación *SMC1A* no presenta los rasgos clínicos típicos de SCdL, pero sin duda tiene síntomas clínicos de SCdL, como discapacidad intelectual, retraso del crecimiento y trastornos de conducta, que nos permiten clasificarlo dentro del espectro Cornelia de Lange.


Universidad Zaragoza
salud
 UNIDAD CLÍNICA DE GENÉTICA
 LABORATORIO DE GENÉTICA
 SERVICIO DE GENÉTICA

Unit of Clinical Genetics and Functional Genomics

Duplication of *SMC1A* leads to Cornelia de Lange Spectrum phenotype


C Baquero-Montoya, MC Gil-Rodríguez, M Hernández-Marcos, ME Teresa-Rodrigo, A Vicente-Gabas, I Bueno-Martínez, G Bueno, B Pulsac, FJ Ramos, Juan Plá

Department of Pediatrics, Clinical Genetics and Endocrinology, Hospital Clínico "Lozano Blesa", Zaragoza, Spain




Clinical Background

Vrolick (1849): a patient with severe oligodactyly



Brachmann (1916): a patient with bilateral monodactyly, dysmorphic features, developmental delay and growth retardation




Cornelia de Lange Syndrome

OMIM # 122470, #300590 y #610759.
Multisystem developmental disorder.
Prevalence: 1:10.000-100.000.
Is inherited in an autosomal dominant or X-linked manner.

Clinical background:

- Spontaneous mutation
- Germinal mosaicism
- Phenotype:
 - Classic
 - Moderate
 - Mild


Dr. de Lange (1933): Mild phenotype
**Typus degenerativus amelotomianus*



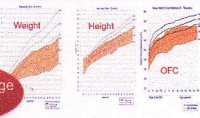
Clinical features of CdLS

Craneofacial manifestations

- Microcephaly
- Arched eyebrows and synophrys
- Long eyelashes
- Depressed nasal bridge and inverted nose
- Smooth long philtrum
- Micrognathia




Pre and Postnatal Growth Retardation



Cornelia de Lange Syndrome

Developmental Delay

- Cognitive:
 - Intellectual Disability, from mild to severe (C.I.1-50)
 - Visuospatial and visuomotor impairments
- Language:
 - Verbal communication deficit




Neuropsychiatric

- Autistic Spectrum Disorder
- Rejected social interactions and physical contact
- Self-injuries
- Hyperactivity
- Sleep disturbance

Clinical features of CdLS


Limb abnormalities

- Variables:
 - Micromelia, Oligodactyly or Tapered fingers
 - Severe reduction defects
- Minor hands anomalies:
 - Proximally placed thumbs
 - 5th finger clinodactyly
 - Single palmar crease




Other findings

- GI: GERD, Congenital diaphragmatic hernia.
- ENT: sensorineural hearing loss
- Ocular: ptosis, myopia and nystagmus
- GU: Cryptorchidism, hypoplastic genitalia and VUR
- CV: Congenital Heart Disease
- Skin: Cuts marmorate



Cornelia de Lange Syndrome

Hirsutism



Genes involved

⇨ **2004:** Tonkin et al./Krantz et al.
 1st gene associated with CdLS: *NIPBL*
(Nat Genet, 2004)
 ~ 60% of the patients.

⇨ **2006:** Musio et al.
 2nd gene associated with CdLS: *SMC1A*
(Nat Genet, 2006)
 ~ 5% of the patients.

⇨ **2007:** Deardorff et al.
 3rd gene associated with CdLS: *SMC3*
(Am J Hum Genet, 2007)
 Only 1 case has been reported so far

LETTER

genes

Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in *NIPBL*, the human homologue of *Drosophila melanogaster* Nipped-*B*.

NIPBL, encoding a homolog of fungal Scc3-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-*B*, is mutated in Cornelia de Lange syndrome.

BRIEF COMMUNICATIONS

genes

X-linked Cornelia de Lange syndrome owing to *SMC1A* mutations

REPORT

Mutations in Cohesin Complex Members *SMC1* and *SMC1A* Cause a Mild Variant of Cornelia de Lange Syndrome with Predominant Mental Retardation

Genes involved

⇨ **2012:** Deardorff et al.
 4th gene associated with CdLS: *RAD21*
(Am J Hum Genet, 2012)
 2 cases

⇨ **2012:** Deardorff et al.
 5th gene associated with CdLS: *HDAC8*
(Nature, 2012)
 ~ 5% of the patients

⇨ **20XX:** Other causative genes of CdLS (30% of the patients)

ARTICLE

RAD21 Mutations Cause a Human Cohesopathy

LETTER

HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle

Clinical comparison of CdLS vs Dup SMC1A

Clinical findings	CdLS	Previous Duplication of SMC1A	Our case
Birth parameters and growth parameters			
Birth weight	<P3	-	P 10-25
Birth length	<P3	-	P 10-25
Birth HC	<P3	-	P 10-25
Weight	<P3	-	<P3
Height	<P3	-	<P3
HC	<P3	-	<P3
Craniofacial features			
Eye			
Strabismus	+	-	+
Exotropia	+	-	+
Bulby eye/lids	+	-	+
Large corneas	+	-	+
Nose: Depressed nasal bridge	+	-	+
Palatine Promontory	+	-	+
Mouth			
Thin upper lip	+	-	+
Down slanting corners	+	-	+
Micrognathia	+	-	+
Palate: High arched	+	-	+
Ear: Low set	+	-	+
Skull: Microcephaly	+	-	+
Neurologic, Developmental and behaviour manifestations			
Epilepsy	+	-	+
Autism	+	-	+
Intellectual disability	+	-	+
Behaviour disorders	+	-	+
Autistic like features	+	-	+
Aggression	+	-	+
Self-injury	+	-	+
Anxiety	+	-	+
ADHD	+	-	+

Clinical comparison of CdLS vs Dup SMC1A

Clinical findings	CdLS	Previous Duplication of SMC1A	Our case
Birth parameters and growth parameters			
Birth weight	<P3	-	P 10-25
Birth length	<P3	-	P 10-25
Birth HC	<P3	-	P 10-25
Weight	<P3	-	<P3
Height	<P3	-	<P3
HC	<P3	-	<P3
Craniofacial features			
Eye			
Strabismus	+	-	+
Exotropia	+	-	+
Bulby eye/lids	+	-	+
Large corneas	+	-	+
Nose: Depressed nasal bridge	+	-	+
Palatine Promontory	+	-	+
Mouth			
Thin upper lip	+	-	+
Down slanting corners	+	-	+
Micrognathia	+	-	+
Palate: High arched	+	-	+
Ear: Low set	+	-	+
Skull: Microcephaly	+	-	+
Neurologic, Developmental and behaviour manifestations			
Epilepsy	+	-	+
Autism	+	-	+
Intellectual disability	+	-	+
Behaviour disorders	+	-	+
Autistic like features	+	-	+
Aggression	+	-	+
Self-injury	+	-	+
Anxiety	+	-	+
ADHD	+	-	+

Clinical comparison of CdLS vs Dup SMC1A

Clinical findings	CdLS	Previous Duplication of SMC1A	Our case
Global developmental delay			
+	+	-	+
Neurological manifestations			
Small hands	+	-	+
2 nd finger clinodactyly	+	-	+
Proximal clawed thumb	+	-	+
Small feet	+	-	+
2-3rd toe syndactyly	+	-	+
Limited elbow extension	+	-	+
Limited wrist	+	-	+
Widely spaced nipples	+	-	+
Ophthalmologic abnormalities			
Exotropia	+	-	+
Microphthalmia	+	-	+
Strabismus	+	-	+
Large corneas	+	-	+
High myopia	+	-	+
ENT anomalies			
Conductive hearing loss	+	-	+
Neurologic manifestations	+	-	+
Strabismus	+	-	+
Cardiovascular disease			
Coronary artery disease	+	-	+
Gastrointestinal manifestations			
GERD	+	-	+
Genitourinary malformations			
Hypospadias	+	-	+
Hydrocele	+	-	+
Other defects	+	-	+
Recurrent infections	+	-	+

Clinical comparison of CdLS vs Dup SMC1A

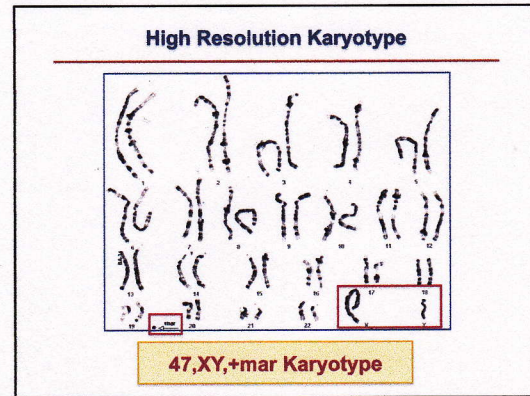
Clinical findings	CdLS	Previous Duplication of SMC1A	Our case
Birth parameters and growth parameters			
Birth weight	<P3	-	P 10-25
Birth length	<P3	-	P 10-25
Birth HC	<P3	-	P 10-25
Weight	<P3	-	<P3
Height	<P3	-	<P3
HC	<P3	-	<P3
Craniofacial features			
Eye			
Strabismus	+	-	+
Exotropia	+	-	+
Bulby eye/lids	+	-	+
Large corneas	+	-	+
Nose: Depressed nasal bridge	+	-	+
Palatine Promontory	+	-	+
Mouth			
Thin upper lip	+	-	+
Down slanting corners	+	-	+
Micrognathia	+	-	+
Palate: High arched	+	-	+
Ear: Low set	+	-	+
Skull: Microcephaly	+	-	+
Neurologic, Developmental and behaviour manifestations			
Epilepsy	+	-	+
Autism	+	-	+
Intellectual disability	+	-	+
Behaviour disorders	+	-	+
Autistic like features	+	-	+
Aggression	+	-	+
Self-injury	+	-	+
Anxiety	+	-	+
ADHD	+	-	+

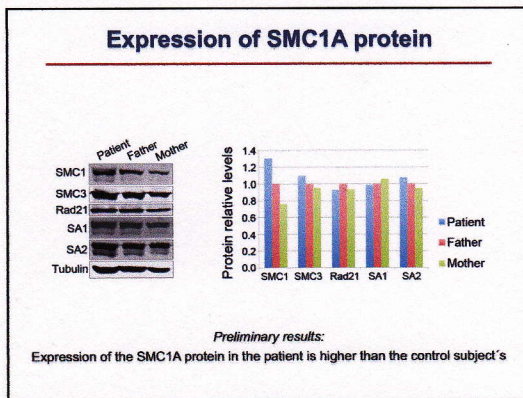
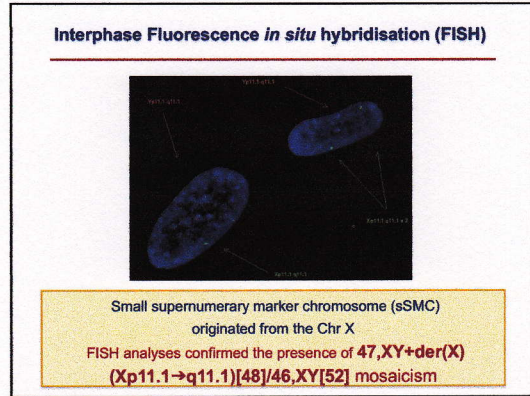
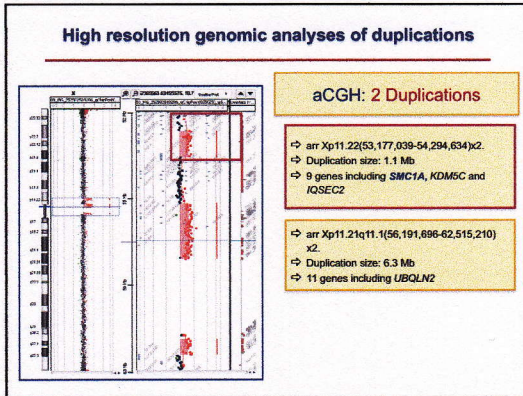
Kline et al., 2007: Diagnostic Criteria for Cornelia de Lange Syndrome

Clinical comparison of CdLS vs Dup SMC1A

Clinical findings	CdLS	Previous Duplication of SMC1A	Our case
Global developmental delay			
+	+	-	+
Neurological manifestations			
Small hands	+	-	+
2 nd finger clinodactyly	+	-	+
Proximal clawed thumb	+	-	+
Small feet	+	-	+
2-3rd toe syndactyly	+	-	+
Limited elbow extension	+	-	+
Limited wrist	+	-	+
Widely spaced nipples	+	-	+
Ophthalmologic abnormalities			
Exotropia	+	-	+
Microphthalmia	+	-	+
Strabismus	+	-	+
Large corneas	+	-	+
High myopia	+	-	+
ENT anomalies			
Conductive hearing loss	+	-	+
Neurologic manifestations	+	-	+
Strabismus	+	-	+
Cardiovascular disease			
Coronary artery disease	+	-	+
Gastrointestinal manifestations			
GERD	+	-	+
Genitourinary malformations			
Hypospadias	+	-	+
Hydrocele	+	-	+
Other defects	+	-	+
Recurrent infections	+	-	+

According to Kline's diagnostic criteria: **Cornelia de Lange Spectrum mild**





Conclusions

- CdLS is a clinically heterogeneous developmental disorder characterized by malformations affecting multiple systems.
- About 4 to 6% of patients have mutations in the X-linked *SMC1A* gene.
- Until now, just one patient with *SMC1A* duplication has been described.
- We report the first patient with a duplication of *SMC1A*, who also fulfills the clinical diagnostic criteria for CdLS proposed by Kline et al.
- With our case we want to expand the clinical phenotype of the duplication of *SMC1A* and classify it into Cornelia de Lange spectrum.

SEPARATAS POSTERS PRESENTADOS EN CONGRESOS

MEMORIA DE PRACTICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Títulos

**Somatic mosaicism in a Cornelia de Lange syndrome patient
with *NIPBL* mutation identified by Exome Sequencing**

**Severe asymmetrical limb involvement in a Cornelia de Lange
proband with a new *NIPBL* mutation**

XXVII Congreso Nacional de la Asociación Española de Genética Humana

Madrid, 10 al 12 de Abril del 2013

**Second *SMC3* mutation confirms this gene as a cause of
Cornelia de Lange syndrome**

European Human Genetics Conference

Paris, France, June 8-11th 201

Somatic mosaicism in a Cornelia de Lange syndrome patient with *NIPBL* mutation identified by Exome Sequencing

JUSTIFICACION

El síndrome de Cornelia de Lange es una condición de herencia dominante caracterizada por anomalías craneofaciales típicas, retardo en el crecimiento pre y postnatal, retraso psicomotor, alteraciones en el comportamiento, hirsutismo y compromiso multiorgánico. Mutaciones en cinco genes que codifican componentes del Complejo de Cohesinas, son responsables del 70% de los casos de SCdL. Aunque el mosaicismo germinal se ha descrito como mecanismo causal de varios casos familiares, solamente se ha comunicado un caso de mosaicismo somático en un paciente *NIPBL* positivo.

El objetivo de este poster es comunicar el diagnóstico de un paciente de SCdL con mosaicismo somático *NIPBL* positivo, detectado mediante secuenciación masiva tras un resultado negativo de secuenciación sanger.

Se describe una paciente de 5 años de edad, con: anomalías craneofaciales, retraso del crecimiento pre y postnatal, comunicación interauricular con arteria subclavia aberrante, enfermedad por reflujo gastroesofágico con hipomotilidad esofágica, inserción proximal del pulgar con sinostosis radio-ulnar, retraso psicomotor y compromiso dermatológico consistente en *cutis marmorata*, angioma tuberoso cervical con ausencia de cambios u otras anomalías en la pigmentación de la piel. Mediante secuenciación completa del exoma del paciente y sus progenitores, se ha detectado una nueva mutación missense en el gen *NIPBL* (c.6647A>C; p.Tyr2216Ser), que afecta solo a un 28% de la muestra de DNA de sangre periférica y que altera un residuo altamente conservado del dominio *HEAT repeat* de interacción de *NIPBL* con otras proteínas.

En conclusión se describe un paciente con SCdL y mosaicismo somático que cursa, sorprendentemente, con una clínica clásica grave. Además, el diagnóstico no pudo ser realizado por secuenciación sanger, sino mediante la nueva técnica de

secuenciación masiva de exoma completo. Este resultado sugiere que se puede estar subestimando la detección de mutaciones de genes conocidos responsables del SCdL.

Carolina Baquero^{1,2}, María Concepción Gil-Rodríguez¹, María Hernández-Marcos¹, María Esperanza Teresa-Rodrigo¹, Tim M. Ström³, Frank J. Kaiser⁴, Blanca Gener⁵, Beatriz Puisac¹, Feliciano J. Ramos^{1,2}, Juan Pié¹.

¹ Unit of Clinical Genetics and Functional Genomics, Departments of Pharmacology-Physiology and Pediatrics, Medical School, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain.

² Department of Pediatrics, Hospital Clínico "Lozano Blesa", Zaragoza, Spain.

³ Institut für Humangenetik, Helmholtz Zentrum München, Neuherberg, Germany.

⁴ Institut für Humangenetik Lübeck, Universität zu Lübeck, Lübeck, Germany.

⁵ Department of Genetic, BioCruces Health Research Institute, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, Spain.

BACKGROUND

Cornelia de Lange syndrome (CdLS; OMIM 122470) is a dominant inherited disorder characterized by facial dysmorphism, growth retardation, cognitive and behavior impairments, hirsutism and multiple organ involvement. Most of CdLS probands carry a mutation in one of the five cohesin complex-associated genes *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21* and *HDAC8*. Somatic mosaicism has been only reported in three CdLS probands, two of them had mutations in *NIPBL*. Interestingly, two weeks ago, Huisman et al., has described 10 *NIPBL*-mutated individuals with somatic mosaicism.

MATERIAL AND METHODS

Case presentation

The patient had classic symptoms of CdLS like typical facial features, pre- and postnatal growth retardation, minor musculoskeletal anomalies, severe gastroesophageal reflux disease with a swallowing disorder (that was surgically corrected by Nissen Fundoplication and gastrostomy), labia majora hypoplasia, hirsutism, *cutis marmorata* and cognitive impairment (see photos in Figure 1). However she also had unusual clinical findings like the aberrant subclavian artery and the tuberous angioma, visible on the neck (Fig. 1 iii). It was noteworthy the absence of abnormal cutaneous pigmentation, segmental overgrowth or asymmetries, which are important clues for mosaicism.

Molecular analysis

Genomic DNA and RNA were isolated from peripheral blood leukocytes, fibroblasts and/or oral mucosa epithelial cells by standard protocols. The entire coding region and flanking intron sequences of *NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21* and *HDAC8* were screened for mutations by sanger sequencing. In order to identify disease-causing mutations, exome sequencing in trio (patient and her unaffected parents) was performed too. The quantification of the relative amount of each allele, on DNA and RNA samples from different tissues, was carried out by pyrosequencing with the PSQ 96MA pyrosequencer.

RESULTS AND DISCUSSION

Here, we report a patient with CdLS due to a mutation in the *NIPBL* gene (c. 6647A>C; p.(Tyr2216Ser)) (Fig. 2 and 3) in mosaic state detected by exome sequencing. The mutation affects tyrosine 2216, which was evolutionarily highly conserved and located in the HEAT repeat domain of protein interaction (Fig. 4).

Initially, molecular analyses by sanger sequencing of the five causative genes were performed on DNA from blood leukocytes, but unfortunately no mutation was detected. In this context, the patient was a good candidate for exome sequencing by the family trio strategy. The mutated allele was found in 28% of cells, evocative of somatic mosaicism.

By pyrosequencing, we confirmed the presence of *NIPBL* mutation in all the tissues analyzed, which had different embryonic origins: mesoderm (peripheral blood leukocytes, fibroblasts) and ectoderm (oral mucosa epithelial cells). However, relative amounts of wild-type (A) and mutated allele (C), either in DNA as in cDNA from the patient, were tissue-specific. Interestingly, levels of mutated allele were found in ascending order: blood leukocytes < oral mucosa epithelial cells < fibroblasts (Fig. 2 and 3).

These findings support the hypothesis that the contribution of mutations of the five known causative genes of CdLS are underestimated, perhaps due to somatic and/or germline mosaicism. This highlights the importance of screening different tissues from the proband and the parents, as well as, the combined application of multiple screening techniques.

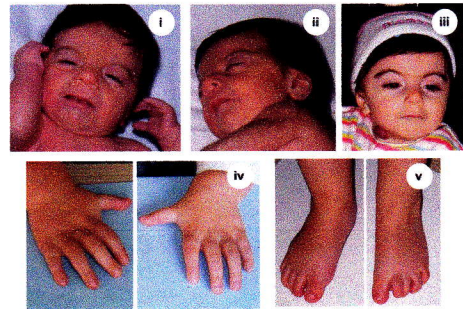


Figure 1. Phenotype of the patient. (i-ii) Frontal and lateral view of the proband in the first week of life. (iii) Frontal view at the age of 1 year (iv-v) Hands and feet of the case at the age of 3 years and 10 months.

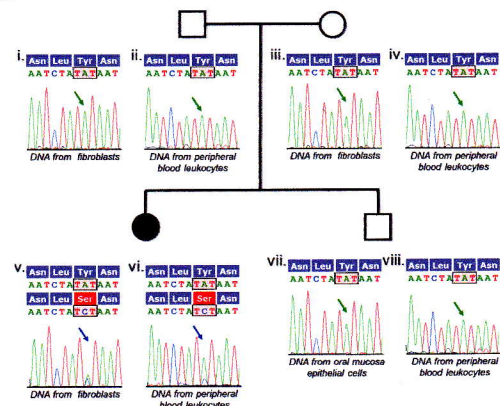


Figure 2. Pedigree of the affected family and partial electropherograms of exon 39 of the *NIPBL* gene. The sequencing analysis performed on genomic DNA from the patient fibroblasts and peripheral blood leukocytes (i-v) shows different heights of the peaks of the allele carrying the c. 6647A>C missense mutation in all tissues.

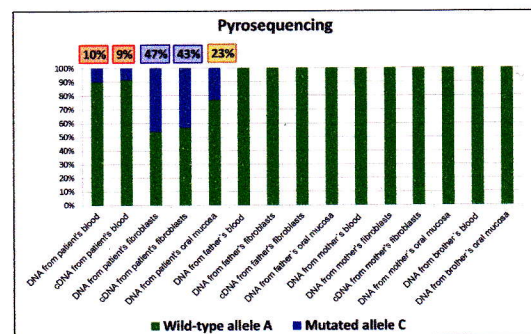


Figure 3. Allele quantification by pyrosequencing of exon 39 of the *NIPBL* gene. Molecular analyses were performed on genomic DNA from the blood leukocytes, fibroblasts and oral mucosa epithelial cells, as well as cDNA from blood leukocytes and fibroblasts. All the available samples from the patient, her parents and her younger brother were analyzed.

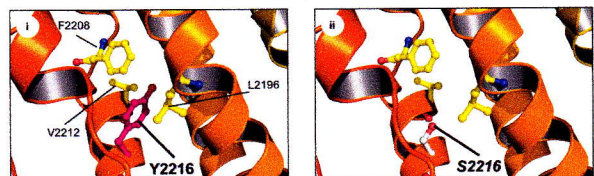


Figure 4. Location of wild-type aminoacid (Y2216)(i) and mutated residue (S2216)(ii) in the proposed structural model for HEAT domain of *NIPBL* protein.

Severe asymmetrical limb involvement in a Cornelia de Lange proband with a new *NIPBL* mutation

JUSTIFICACION

El síndrome de Cornelia de Lange es una condición de herencia dominante caracterizada por anomalías craneofaciales típicas, retraso del crecimiento pre- y postnatal, retraso psicomotor, alteraciones en el comportamiento, hirsutismo y frecuente compromiso multiorgánico. A nivel musculoesquelético, los pacientes suelen presentar malformaciones en las extremidades superiores, casi siempre bilaterales, con un grado de afectación variable: desde braquidactilia hasta graves defectos de reducción (oligodactilia/hipomelia). Las extremidades inferiores suelen estar más raramente afectadas y de forma más leve. Hasta la fecha se han identificado mutaciones en cinco genes (*NIPBL*, *SMC1A*, *SMC3*, *RAD21* y *HDAC8*) que codifican componentes estructurales o reguladores del Complejo Cohesinas y son responsables del 65% de los casos de SCdL.

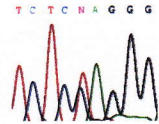
En este poster describimos un paciente con SCdL y afectación asimétrica grave de extremidades debida a una nueva mutación del gen *NIPBL*.

El paciente, es un varón de origen senegalés de 3 años, que presenta un fenotipo craneofacial típico de SCdL, retraso en el crecimiento pre y postnatal, comunicación interauricular, retraso psicomotor y malformaciones en extremidades derechas consistentes en oligodactilia del 3º y 4º dedo de la mano, hipoplasia de tibia y agenesia de peroné. Las extremidades izquierdas eran normales. El estudio genético detectó una nueva mutación *missense de novo* (c.6647A>G; p.Tyr2216Cys), que alteraba un residuo altamente conservado localizado en el dominio *HEAT repeat* de interacción con proteínas.

En conclusión se describe un paciente con un fenotipo craneofacial clásico de SCdL pero con afectación asimétrica grave de extremidades derechas. El estudio molecular identificó una nueva mutación tipo "*missense*" en el gen *NIPBL* (p.Tyr2216Cys). La no existencia de ningún caso de SCdL similar hace que nuestro paciente sirva para expandir nuestro conocimiento del que podríamos denominar "espectro Cornelia de Lange".



Severe asymmetrical limb involvement in a Cornelia de Lange proband with a new *NIPBL* mutation



Carolina Baquero¹, María Concepción Gil-Rodríguez¹, María Hernández-Marcos¹, María Esperanza Teresa-Rodrigo¹, Gloria Bueno-Lozano², Alicia Vicente-Gabás^{1,2}, Inés Bueno-Martínez^{1,2}, Beatriz Puisac¹, Juan Pié¹, Feliciano J. Ramos^{1,2}.

¹ Unit of Clinical Genetics and Functional Genomics, Departments of Pharmacology-Physiology and Pediatrics, Medical School, University of Zaragoza, Zaragoza, Spain.
² Department of Pediatrics, Hospital Clínico "Lozano Blesa", Zaragoza, Spain.

BACKGROUND

Cornelia de Lange syndrome (CdLS; OMIM 122470) is a dominant inherited disorder characterized by typical facial dysmorphism, pre and postnatal growth retardation, intellectual disability, behavior impairments, hirsutism and multiple organ involvement. Anomalies in the extremities are particular characteristic, mainly in the upper limbs. Usually hands and feet are small and about one third of patients present with limbs reduction defects. Lower extremities are less involved than upper extremities, being the 2nd and 3rd toe syndactyly, the most common clinical finding. To date, mutations in five genes, encoding components of the cohesion complex (*SMC1A*, *SMC3* and *RAD21*) and its regulators (*NIPBL* and *HDAC8*) have been found in ~70% of CdLS cases.

MATERIAL AND METHODS

Case presentation

The patient's phenotype showed features of moderate CdLS: craniofacial dysmorphism, pre- and postnatal growth retardation, atrial septal defect, feeding and swallowing disorder, hirsutism, *cutis marmorata* and delayed developmental milestones (see photos in Figure 1). The craniofacial features included synophrys with arched eyebrows, long eyelashes, depressed nasal bridge with anteverted nostrils, low set ears, long and prominent philtrum, thin lips with down-turned corners, high arched palate, micrognathia, low anterior and posterior hairline. He had oligodactyly of the 3rd and 4th finger, tibial hypoplasia and fibular agenesis in the right limbs (Fig. 1 ii-iv, vi and viii). At the age of 1 year, he was surgically intervened for an amputation of the right leg. The left limbs were normal (Fig. 1 ii,vii and viii).

Molecular analysis

Genomic DNA and RNA were isolated from peripheral blood lymphocytes, fibroblasts and/or oral mucosa epithelial cells by standard protocols. The entire coding region and flanking intron sequences of *NIPBL* (exons 2–47) were screened for mutations by bidirectional sequencing. Relative quantification of allele-specific level on DNA and RNA samples was performed by pyrosequencing with the PSQ 96MA pyrosequencer.

RESULTS AND DISCUSSION

Here, we report a patient with CdLS due to a missense mutation in the *NIPBL* gene (c.6647A>G, p.(Tyr2216Cys)) detected by sanger sequencing (Fig. 2). Pyrosequencing analyses confirmed similar levels of each allele (~50%) in DNA and RNA samples from all tissues analyzed from the patient (oral mucosa epithelial cells, peripheral blood leukocytes and fibroblasts) (Fig. 2). These findings confirm that the *NIPBL* mutation is not in mosaic state, even though there is a segmental asymmetry of the limbs.

The mutation affects tyrosine 2216, a highly conserved evolutionarily residue and located in the HEAT repeat domain of protein interaction (Fig. 3). The effects of the p.(Tyr2216Cys) mutation was predicted as probably damaging according to free online prediction programs, PolyPhen-2 (<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph/>) and SIFT (<http://sift.jcvi.org/>). Following the hypothesis of a dominant-negative effect of *NIPBL* missense mutations and its location in HEAT domain, this mutation could disrupt its interaction with some binding partner.

The patient showed a moderate CdLS phenotype, although with severe limbs reductions defects (Fig. 1). To date, only 8 patients with CdLS have been reported to have lower limb major abnormalities. Only one of them had a molecular diagnosis, he carried a frameshift *NIPBL* mutation in exon 46 mutation (c.7878dupA p.(His2627Thrs*5)).

The distinctive lower limb malformations of our patient allow us to expand the spectrum of the phenotype of the Cornelia de Lange.

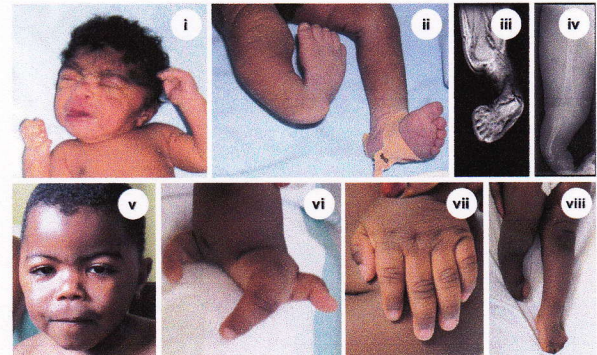


Figure 1. Phenotype of the patient. (i-ii) Frontal view and lower limbs of the patient in the first week of life. (iii-iv) MRI and roentgenogram of right leg patient at the age of first month of life. (v) Frontal view; (vi-vii) right and left hands; and (viii) lower limbs of the patient at the age of 2 years and 2 months.

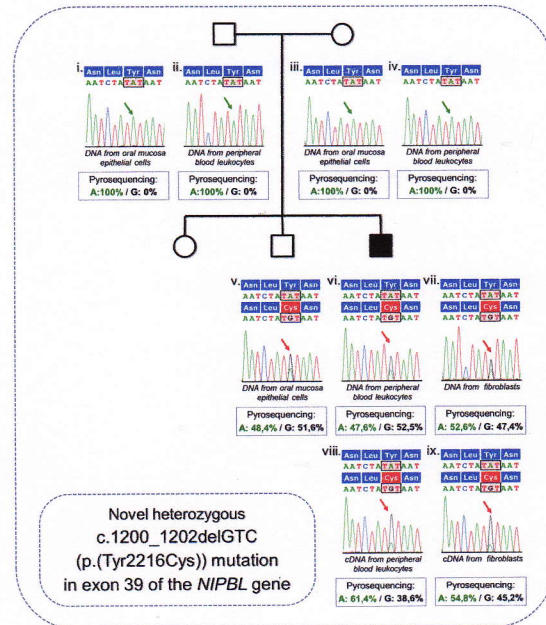


Figure 2. Pedigree of the affected family and partial electropherograms of exon 39 of the *NIPBL* gene. The sequencing analysis performed on genomic DNA from the patient oral mucosa epithelial cells, peripheral blood leukocytes and fibroblasts (v-ix), as well as cDNA from blood leukocytes and fibroblasts (vii-ix) shows the peaks of the allele carrying the c. 6647A>G missense mutation...

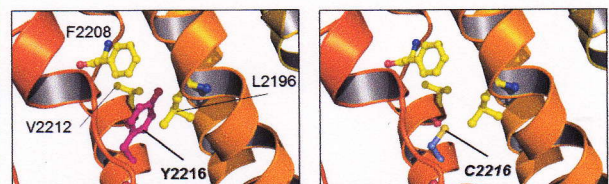


Figure 3. Position of wild-type aminoacid (Y2216) and mutated residue (C2216) in the proposed structural model for HEAT domain of *NIPBL* protein.

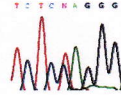
Second *SMC3* mutation confirms this gene as a cause of Cornelia de Lange syndrome

JUSTIFICACION

Síndrome de Cornelia de Lange es un trastorno hereditario caracterizado por dismorfia facial, retraso en el crecimiento, alteraciones cognitivas, malformaciones de las extremidades y afectación multisistémica. Mutaciones en cinco genes, codificantes de componentes del complejo cohesinas, son responsables del fenotipo SCdL en el 70% de los pacientes. Sin embargo, en uno de los genes, *SMC3*, sólo se ha reportado una mutación en un adulto levemente afectado.

Aquí, se presenta una segunda mutación nueva en el gen *SMC3* en un niño con SCdL. El tiene un fenotipo clásico del síndrome consistente en dismorfia facial, múltiples anomalías musculoesqueléticas, hirsutismo y retraso grave del desarrollo. También tuvo miopía, una pérdida de audición moderada, estenosis aórtica supra valvular - pulmonar leve, estenosis pilórica, anomalías vertebrales, y enfermedad por reflujo gastroesofágico.

El análisis molecular identificó una mutación *de novo* en el exón 22 (c.2494_2499del) del gen *SMC3*, la cual produce deleciones en el marco de dos residuos altamente conservados y localizados en la parte C-terminal del dominio *coiled-coil*, p. (Leu832_Asn833del). El análisis estructural de la proteína *SMC3* mutante mostró un cambio grave en la posición relativa de los residuos que se acompañan, provocando el desplazamiento de los residuos correspondientes de las dos hélices antiparalelas que forman el dominio *coiled-coil*. Nuestro caso demuestra que las mutaciones en el gen *SMC3* pueden causar un fenotipo leve a moderado, coincidiendo con lo previamente informado, en algunos pacientes con mutaciones en el gen *SMC1A*. Por último, se recomienda llevar a cabo el estudio molecular de *SMC3* en pacientes con fenotipo SCdL en los que no se ha identificado mutaciones en los otros genes conocidos SCdL.



María Concepción Gil-Rodríguez¹, Lilian Bomme Ousager², Matthew A. Deardorff^{3,4}, Carolina Baquero¹, María Kibaek², Beatriz Puisac¹, María Hernández-Marcos¹, María Esperanza Teresa-Rodrigo¹, Ethel Queralt⁶, Frank J. Kaiser⁶, Paulino Gómez-Puertas⁷, Ian D. Krantz^{3,4}, Feliciano J. Ramos¹, Juan Pié¹.

- ¹ Unit of Clinical Genetics and Functional Genomics, Departments of Pharmacology-Physiology and Pediatrics, Medical School, University of Zaragoza, and Institute of Health Sciences of Aragón, Zaragoza, Spain.
- ² Department of Clinical Genetics and Pediatrics, Odense University Hospital, Odense, Denmark.
- ³ Division of Genetics, The Children's Hospital of Philadelphia, Philadelphia, PA, USA.
- ⁴ The University of Pennsylvania Perelman School of Medicine, Philadelphia, PA, USA.
- ⁵ Cell Cycle Group, Cancer Epigenetics and Biology Program (PEBC), Institut d'Investigacions Biomèdica de Bellvitge (IDIBELL), L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain.
- ⁶ Institut für Humangenetik Lübeck, Universität zu Lübeck, Lübeck, Germany.
- ⁷ Molecular Modelling Group, Center of Molecular Biology "Severo Ochoa" (CSIC-UAM), Cantoblanco, Madrid, Spain

BACKGROUND

Cornelia de Lange syndrome (CdLS) is an inherited disorder characterized by facial dysmorphism, growth and cognitive impairment, limb malformations and multiple organ involvement. Mutations in five genes, encoding subunits of the cohesin complex (*SMC1A*, *SMC3*, *RAD21*) and its regulators (*NIPBL*, *HDAC8*), account for 70% of patients with CdLS or overlapping phenotype. However, to date, only a single mildly affected adult with a mutation in *SMC3* (c.1464_1466del, p.(Glu488del)) had been reported in literature. Here, we report on the second novel mutation in the *SMC3* gene in a boy with CdLS.

MATERIAL AND METHODS

Case presentation

The patient was born at 40 weeks gestation by vaginal delivery. Birth weight was 2.985 g, length 49 cm and head circumference 32 cm ($\leq 10^{\text{th}}$ centile for gestational age). He showed classical CdLS phenotype with facial dysmorphism, multiple musculoskeletal anomalies, hirsutism and severe developmental delay (Figure 1). He also had myopia, moderate hearing loss, mild pulmonary and supra-valvular aortic stenosis, pyloric stenosis, vertebral anomalies, feeding and swallowing problems, gastroesophageal reflux disease, unilateral cryptorchidism and inguinal hernia (Figure 1). At last examination, when he was 11 months old, his weight was 7.5 kg ($< 3^{\text{rd}}$ centile), length 71 cm (10^{th} centile), and head circumference 42 cm ($< 3^{\text{rd}}$ centile).

Molecular analysis

Genomic DNA was isolated from peripheral blood lymphocytes by standard protocols. Due to previous negative results in *NIPBL* and *SMC1A* mutation analyses, the entire coding region (exons 1-29) and flanking intron sequences of *SMC3* were screened for mutations by bidirectional sequencing. Parental genotypes were screened to assess whether the variant was *de novo* or inherited.

RESULTS AND DISCUSSION

Molecular analysis of *SMC3* identified a *de novo* mutation in exon 22 (c.2494_2499del) (Figure 2), which predicted an in-frame deletion of two residues highly conserved in vertebrates and mapped to the C-terminal coiled-coil domain, p.(Leu832_Asn833del) (Figure 3). Structural analysis of the mutant *SMC3* protein showed a serious shift in the relative position of the accompanying residues, leading to the displacement of the corresponding residues of the two antiparallel helices that form the coiled coil (Figure 3).

Our case demonstrates that mutations in the *SMC3* gene may cause a mild-moderate phenotype, as it has been previously reported in some patients with mutations in the *SMC1A* gene. However, he also showed numerous major structural anomalies and his craniofacial findings were mild and less typical of CdLS. Even the patient exhibited additional features distinct from classical CdLS including absence of synophrys, short sternum, cleft and butterfly vertebrae, and supra-valvular aortic stenosis.

To date, some functional indications support the hypothesis that the mechanism of pathogenicity in *SMC1A* and *SMC3* related CdLS might be due to a dominant negative effect of the altered protein resulting from missense or in-frame mutations. Nevertheless, should not discard the loss of function as additional potential cause of pathogenesis.

Finally, this emphasizes the importance of *SMC3* mutation screening in CdLS patients without a molecular diagnosis, which will allow us to better define the spectrum of the phenotype and to assess for genotype-phenotype correlation.

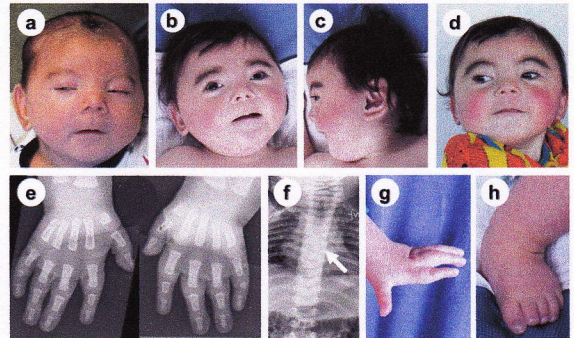


Figure 1. Phenotype of the patient. (a) Frontal view of the proband in the first week of life. (b-c) Frontal and side-view at the age of 5 months, (d) 15 months. (e-f) Roentgenogram of the hands and the thoracic spine at the age of 5 months. Note cleft vertebrae in the thoracic spine and butterfly vertebra at T6 level (arrow). (g-h) Left hand and foot of the patient at the age of 15 months.

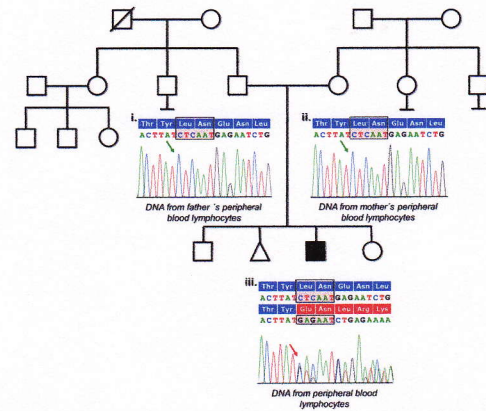


Figure 2. Pedigree of the affected family and partial electropherograms of exon 22 of the *SMC3* gene. The sequencing analysis performed on genomic DNA from the patient peripheral blood leucocytes (iii), shows *de novo* mutation c.2494_2499del.

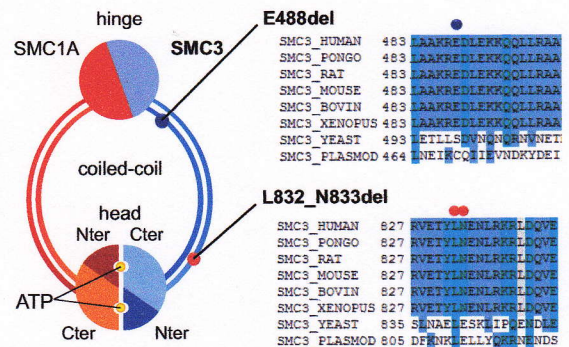


Figure 3. (Left) Schematic representation of the *SMC1A-SMC3* heterodimer of the cohesin complex and the locations of *SMC3* mutations in coiled-coil domain. Position of mutated residues (L832_N833) in the CdLS patient described here is indicated by red dots. The mutated residue (E488), which was previously reported by Deardorff et al. [2007] is indicated by a blue dot. (Right) Multiple sequence alignment of several proteins homologous to *SMC3* in the areas surrounding mutated residues E488 and L832_N833. Represented sequences are: *Homo sapiens* (*SMC3_HUMAN*), *Pongo abelii* (*SMC3_PONGO*), *Rattus norvegicus* (*SMC3_RAT*), *Mus musculus* (*SMC3_MOUSE*), *Bos taurus* (*SMC3_BOVIN*), *Xenopus laevis* (*SMC3_XENOPUS*), *Saccharomyces cerevisiae* (*SMC3_YEAST*), *Plasmodium falciparum* (*SMC3_PLASMOD*). Residues are colored according to conservation.

SEPARATAS SEMINARIOS GENUUD

MEMORIA DE PRACTICA DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Títulos

Bone mass in male and female children and adolescents with Down syndrome

B-Vitamin status and intake in European adolescents. A review of the literature

Body composition changes during interventions to treat overweight and obesity in children and adolescents: A descriptive review

Aspectos perinatales, crecimiento y tipo de lactancia de los recién nacidos pequeños para la edad gestacional

Iron and vitamin status biomarkers and its association with physical fitness in adolescents: The HELENA study

Maternal postnatal depression and child growth: A European cohort study

Prevalencia de la lactancia materna durante el primer año de vida en Aragón: Estudio CALINA

Sex differences in the endocrine system in response to protein intake early in life

Bone mass in male and female children and adolescents with Down syndrome

González-Agüero A., Vicente-Rodriguez G., Moreno L.A., Casajús J.A.

Osteoporos Int 2010: DOI 10.1007/s00198-010-1443-7

Los niños y adolescentes con Síndrome Down (SD) tienen niveles menores de masa ósea cuando se comparan con jóvenes sin SD. La dimorfia sexual de la masa ósea de individuos normales difiere de la observada en niños y adolescentes sin SD. En este estudio se busca comparar la masa ósea y el dimorfismo sexual de la masa ósea entre jóvenes de sexo masculino y femenino con SD, como también con controles adaptados al sexo y edad sin SD.

La densidad mineral ósea (*Bone mineral density (BMD)*), la BMD volumétrica, la densidad mineral aparente ósea (*bone mineral apparent density (BMAD)*), la relación BMD/ talla (*BMD/height (BMDH)*), y la masa magra total fueron medidas a partir de DXA. Treinta y dos jóvenes (15 mujeres) con SD y treinta y dos jóvenes (13 mujeres) sin SD participaron en el estudio.

Las valoraciones ANOVA mostraron una menor BMAD y BMDH en las jóvenes de sexo femenino con SD comparadas con aquellas sin SD. Los test ANOVA revelaron una menor BMD corporal total y de la cadera en todos los jóvenes con SD comparados con los controles. Dentro del grupo de SD, las mujeres tuvieron una mayor BMD de la región lumbar comparadas con los varones.

En conclusión. los valores bajos de BMD y de parámetros relacionados junto con las diferencias del dimorfismo sexual, indican que el desarrollo óseo no es homogéneo en los niños y adolescente con SD.

B-Vitamin status and intake in european adolescents. A review of the literature

Al-Tahan J., González-Gross M. y Petrzik K.

Nutr Hosp 2006;21(4):452-65

Las recomendaciones actuales sobre el consumo de vitamina B para adolescentes, se basan en valoraciones y extrapolaciones de adultos. Los adolescentes tienen una mayor vulnerabilidad a su déficit, debido al período de rápido crecimiento y desarrollo. Por otro lado la baja ingesta de vitamina B se relaciona con el desarrollo de cáncer, defectos del tubo neural y enfermedades cardiovasculares. El objetivo de este artículo es valorar el estado vitamínico y los niveles de homocisteína, así como la ingesta de vitamina B en adolescentes europeos, basándose en estudios publicados.

Para su realización se utilizó la base de datos Medline, en la cual se analizaron términos como "Vitamina B", "Homocisteína", "Europa", etc. Se analizaron los estudios publicados entre junio de 1980 y diciembre de 2004. Los resultados de ingesta de vitamina B12 se compararon con los de EAR y AI, de acuerdo a las recomendaciones del Instituto de Medicina de EEUU. Debido a la ausencia de valores de referencia para adolescentes, los resultados se compararon con los diferentes umbrales para adultos.

Dentro de las limitaciones encontradas para la comparación de los estudios estaban las diferentes metodologías utilizadas, el tamaño de muestras, grupos de edad, etc. Sin embargo se pudo encontrar que la media de ingesta de vitamina B sobrepasa la EAR y AI. Los varones tienen niveles más altos de vitamina B que las mujeres. La ingesta de esta vitamina decrece con el aumento de la edad en ambos géneros. Se observó una discreta deficiencia de ácido fólico en las mujeres, pero los niveles séricos de vitaminas B₆ – B₁₂, ácido fólico y homocisteína estaban dentro de la normalidad.

En conclusión las adolescentes europeas tienen un mayor riesgo de deficiencia de ácido fólico. Establecer la ingesta real de las vitaminas del complejo B y ácido fólico no se pudo realizar, debido a la falta de información sobre la suplementación de los alimentos y de la descripción de los alimentos enriquecidos, desvirtuando la ingesta real. Se necesitan investigaciones futuras que establezcan los valores de referencias de vitaminas del complejo B₁₂ y de la homocisteína

Body composition changes during interventions to treat overweight and obesity in children and adolescents: A descriptive review

De Miguel-Etayo P., Moreno LA., Iglesias I., et al.

Nutr Hosp 2012;28:52-62

La nutrición, la actividad física y la modificación del comportamiento alimentario son técnicas empleadas en el tratamiento de la obesidad. En este trabajo se busca revisar la evidencia disponible de los efectos a corto y largo plazo del tratamiento de sobrepeso y obesidad; principalmente a nivel de la grasa corporal. Además se busca obtener una mejor comprensión sobre las técnicas empleadas para detectar los cambios longitudinales.

Se incluyeron un total de 13 estudios, siete proporcionan información sobre un tratamiento multidisciplinar, cinco administran un tratamiento combinado (nutrición y actividad física) y solo un daba tratamiento basado en la actividad física. Las técnicas de composición corporal utilizadas para valorar los resultados fueron: índices antropométricos, impedancia eléctrica y absorciometría dual de rayos X. Cuando fue posible, se calculó el cambio de porcentaje de grasa.

Los resultados sugieren que la intervención multidisciplinar con una duración de 20 semanas, produjo un mayor cambio en el porcentaje de grasa así como un aumento paralelo de la masa libre de grasa; todo esto valorado por medio de la absorciometría dual de rayos X.

En conclusión, son necesarios más estudios que determinen cual es el método óptimo de composición corporal que permitan controlar los cambios durante el tratamiento del sobrepeso en niños y adolescentes.

Aspectos perinatales, crecimiento y tipo de lactancia de los recién nacidos pequeños para la edad gestacional

Biosca Pamies M., Rodríguez Martínez G., Samper Villagrasa M.P., et al.

An Pediatr 2013;78(1):14-20

Actualmente no hay una definición clara del recién nacido pequeño para la edad gestacional (PEG), pero una de las más aceptadas establece que los recién nacidos que tengan un peso y/o longitud de 2 ó más desviaciones estándar por debajo de la media o inferior al percentil 10, considerando la población de referencia de su misma edad gestacional y sexo, deben de ser catalogados como PEG. La mayoría de ellos tienen complicaciones perinatales, siendo el 5% de carácter grave y el 7% de carácter fatal. Por otro lado estos pacientes tienen un riesgo aumentado de padecer retraso en el crecimiento postnatal a corto y a largo plazo, así como un incremento en la probabilidad de ser obesos y tener adiposidad central, desarrollar síndrome metabólico e insulinoresistencia y enfermedades cardiovasculares. Las alteraciones nutricionales durante la época intrauterina y postnatal precoz pueden modular el crecimiento y la composición corporal a corto y largo plazo. El objetivo principal de este estudio es analizar las características actuales perinatales, socioculturales, antropométricas y nutricionales de los PEG en Aragón hasta los 6 meses de edad.

El estudio se realizó a partir de los datos obtenidos longitudinalmente de los recién nacidos y lactantes incluidos en el proyecto CALINA durante los primeros 6 meses de vida. El proyecto CALINA es un estudio observacional longitudinal, cuyo objetivo principal fue valorar el patrón de crecimiento actual, la composición corporal y pautas de alimentación de una muestra representativa de niños aragoneses hasta los 24 meses de edad, así como los factores prenatales, postnatales y psicosociales que puedan influenciarlos. El estudio se ha desarrollado en una muestra aleatorizada de centros de salud representativos de la Comunidad Autónoma de Aragón.

Los criterios de inclusión fueron: tener personal de pediatría y enfermería pertenecientes al programa de seguimiento de niño sano, tener una antigüedad de 2 años como mínimo, tener un cumplimiento y una cobertura de dicho programa superior al 80% de la población asignada. Los criterios de selección fueron: todos los binomios madre-hijo del proyecto CALINA pertenecientes al período de marzo de 2009 a marzo de 2010, que hayan sido valorados en la primera visita en el centro de salud y que hayan firmado el consentimiento informado

Variable evaluadas:

- a) País de origen, número de hermanos y orden en la fratría, trabajo y nivel de estudios de los padres.
- b) Historia clínica obstétrica: Antropometría materna antes y al finalizar la gestación, controles prenatales, incidencias gestacionales, hábito tabáquico de la madre durante el embarazo.
- c) Historia perinatal: Fecha de nacimiento, tipo de parto, sexo, edad gestacional, incidencias neonatales, antecedentes maternos o infantiles que contraindicaban o dificultaban la lactancia materna, antropometría del recién nacido, tipo de alimentación del niño tras el parto.
- d) Peso, longitud, perímetro cefálico, abdominal y braquial del lactante, así como el tipo de alimentación al alta hospitalaria, en la primera visita al centro de salud y al primer, segundo, cuarto y sexto mes de vida.

La cohorte estaba compuesta por un total de 1596 recién nacidos, 834 varones y 765 mujeres, de los cuales 94 (5,89%) eran PEG (49 varones y 45 mujeres) y 1502 (94,11%) no PEG (785 varones y 720 mujeres). En los resultados se pudo observar que los PEG tenían una edad gestacional , que sus madres ganaron menos peso durante el embarazo, el parto fue generalmente mediante cesárea y que la duración de la lactancia materna fue menor con respecto al resto de la población. Por otro lado los PEG mantuvieron un menor peso y longitud durante los primeros 6 meses de vida y la ganancia ponderal mensual fue similar al resto.

En este estudio, se concluye que los PEG tienen una serie de características especiales, que confieren riesgos para la salud y que deben de ser seguidos de forma estricta. En esta comunidad, los PEG no hacen un crecimiento recuperador en los primeros 6 meses de vida y su menor tamaño persiste a los 6 meses de vida.

Iron and vitamin status biomarkers and its association with physical fitness in adolescents: The HELENA study

Gracia-Marco L., Valtueña J., Ortega F.B., et al.

J Appl Physiol 2012;113:566-573

La adolescencia es un período crítico del crecimiento y del desarrollo y de la adquisición de hábitos saludables. Una nutrición adecuada juega un papel importante, ya que permite la expresión del potencial genético que junto con la actividad física, influenciará la salud en la vida adulta. Actualmente hay evidencia científica que demuestra que el desempeño de los adolescentes en los test de valoración de la actividad física, ha disminuido significativamente en las últimas tres décadas.

Algunos estudios han mostrado que el nivel de hierro está asociado con el acondicionamiento físico, el cual está directamente relacionado con la función cardiorrespiratoria. La vitamina C está asociada al desempeño deportivo y a la recuperación del ejercicio intenso, además tiene funciones antioxidantes, está involucrada en el metabolismo del colágeno y en la síntesis de carnitina. Las alteraciones en la vitamina D están asociadas con dificultades en la fuerza y función muscular, así como con el metabolismo del calcio, la proliferación celular y la diferenciación, desarrollo de resistencia a la insulina y en la movilización de ácido araquidónico. Sin embargo la asociación entre el estado de algunos micronutrientes y el desempeño físico continúa sin esclarecerse. En este estudio, se hipotetiza que el hierro y el estado vitamínico están directamente relacionados con el acondicionamiento cardiorrespiratorio y musculoesquelético en los adolescentes.

La cohorte estaba compuesta por 1089 adolescentes (580 mujeres) provenientes del estudio HELENA (estudio transversal). Por medio de modelos lineales se buscaron asociaciones entre biomarcadores de micronutrientes y el acondicionamiento físico. La edad, estacionalidad, latitud, el índice de masa corporal, menarquia y la actividad física fueron utilizados como covariables. Con respecto al acondicionamiento físico, en varones la concentración de hemoglobina, retinol y la vitamina C y en mujeres los β -carotenos y la vitamina D se asociaron con el consumo máximo de oxígeno.

En cuanto al acondicionamiento muscular, en varones la concentración de la hemoglobina, β -carotenos, retinol y α -tocoferol y en mujeres los β -carotenos y la vitamina D se asociaron con un buen desempeño en la prueba de salto largo.

En conclusión, las concentraciones de hemoglobina y la mayoría de las vitaminas antioxidantes en varones adolescentes y los β -carotenos y la vitamina D en mujeres están asociados de forma positiva con el acondicionamiento cardiorrespiratorio y muscular. La asociación entre acondicionamiento físico y los niveles de hierro o de vitaminas, observada en este estudio de corte transversal, debiera de continuarse en un segundo estudio con el fin de esclarecer las relaciones causales.

Maternal postnatal depression and child growth: A european cohort study

Grote V., Vik T., Von Kries et al.
BMC Pediatrics 2010;10:10-14

La depresión postparto tiene una prevalencia del 10 al 15%. Es un desorden de presentación variable en las diferentes poblaciones. Los factores de riesgo asociados con ella, son eventos estresantes en la vida, desempleo, conflictos matrimoniales, ausencia de apoyo social, bajos ingresos, antecedente de depresión y cesárea. Las madres con depresión se asocian con estilos de vida menos saludables y son más propensas a suministrar una alimentación menos saludable y a alterar los patrones de sueño del bebé. Por otro lado estas madres tienen una ingesta nutricional inadecuada y desafortunadamente una tendencia a suspender precozmente la lactancia materna, en comparación con las madres no depresivas.

En este estudio se busca explorar si el peso, la longitud o el grosor de los pliegues de los hijos de madres depresivas difiere del de los hijos de madres no depresivas. Además evalúa si la depresión postnatal tiene altera la distribución de las medidas antropométricas y si tienen hacia la parte alta o baja de las curvas.

La población del estudio esta constituida por 929 binomios madre-hijo, es un estudio multicéntrico a nivel europeo. Las madres fueron valoradas de acuerdo a la escala de depresión postnatal de Edimburgo (EPDS) a los 2,3 y 6 meses luego del parto. Los valores iguales o mayores a 13 de la EPDS fueron considerados como depresión materna. Se hizo un seguimiento durante 2 años a los niños y el final de este período se valoró el peso, la longitud, el grosor y el índice de masa corporal (IMC), los cuales fueron convertidos posteriormente a desviaciones estándar (DS) basándose en el estudio de referencia de crecimiento multicéntrico de la WHO.

Los resultado fueron valorados por medio del Z-Score de peso para la longitud. El Z-score de peso para la longitud de los hijos de madres depresivas fue mayor a 0.74 DS en relación a los hijos de madres no depresivas. El IMC no mostró ningún cambio significativo en ambos grupos. Los otros datos antropométricos tampoco demuestran cambios en ninguno de los dos grupos y finalmente el ajuste multivariado no mostró cambios.

En conclusión, los hijos de madres depresivas no tienen un mayor riesgo de padecer alteraciones nutricionales secundarias al estado emocional materno, cuando son comparados con los hijos de madres no depresivas.

Prevalencia de la lactancia materna durante el primer año de vida en Aragón: estudio CALINA

Cuadrón-Andrés L., Samper Villagrasa M.P., Álvarez Sauras M.L et al.
An Pediatr 2013; DOI: 10.1016/j.anpedi 2013.03.010

La lactancia materna es el alimento ideal durante los primeros meses de vida y es beneficiosa durante el período de introducción de la alimentación complementaria. Actualmente se recomienda administrarla exclusivamente durante los primeros 6 meses de vida y mantenerla hasta el segundo año de vida junto con la alimentación complementaria. Hoy en día la inmigración se ha constituido como un nuevo factor social, el cual podría estar asociado con una modificación de los hábitos de alimentación durante la lactancia. El objetivo de este estudio es analizar la prevalencia actual de la lactancia materna en una muestra representativa de lactantes aragoneses, así como los aspectos demográficos, perinatales y sociales que influyen en su variabilidad.

Este es un estudio longitudinal observacional en una cohorte representativa de la población de lactantes aragoneses, nacidos entre marzo del 2009 y marzo del 2010 y controlados hasta los 12 meses de edad (N=1602). Las variables evaluadas fueron: obstétricas, perinatales y nutricionales.

Dentro de los resultados obtenidos, se encontró que la lactancia materna exclusiva o como parte mayoritaria de la alimentación mixta fue superior al resto de modalidades nutricionales. Las variables maternas asociadas de forma significativa con el mantenimiento de la lactancia materna al mes de vida como a los 6 meses fueron: el parto vaginal, el alto nivel educativo, proceder de África, madres con sobrepeso o peso normal y ausencia de tabaquismo durante la gestación.

En conclusión, en Aragón la prevalencia de la lactancia materna esta por encima de la media española y esta en aumento en comparación con los datos reportados previamente. Más de la mitad de los lactantes de 6 meses de vida reciben lactancia materna y ya para el año de vida solo un 25%. El tipo de parto, el nivel de estudios, la procedencia, el grado de adiposidad y el tabaquismo son los principales condicionantes maternos que influyen en el inicio y mantenimiento de la lactancia materna en Aragón.

Sex differences in the endocrine system in response to protein intake early in life

Closa-Monasterlo R., Ferré N. Luque V., et al.
Am J Clin Nutr 2011;94(suppl):1920S-7S

La programación temprana de la salud se ha convertido en un foco de atención en las últimas décadas. La evidencia actual muestra que la programación temprana y la composición corporal juegan un papel importante en la programación tardía de la salud. Se ha sugerido que una ingesta alta de proteínas es un factor de riesgo nutricional para el desarrollo posterior de obesidad. El proyecto de Obesidad Infantil de la Unión Europea (EU CHOP) es el primer estudio controlado aleatorizado diseñado para valorar la hipótesis que una alta ingesta de proteínas durante las primeras etapas de la vida conlleva a una ganancia más rápida de peso durante la infancia.

Es conocido que el crecimiento y la composición corporal difiere en entre ambos sexos desde edades tempranas. Las niñas tienen mayor cantidad de grasa corporal y menor cantidad de masa magra, de igual manera el peso y la talla son menores en comparación con los niños. El dimorfismo sexual es especialmente relevante en el crecimiento, donde las niñas muestran una mayor concentración del factor de crecimiento relacionado con la insulina (IGF) desde antes de la pubertad en comparación con los niños.

Se ha postulado que los efectos de la ingesta de proteínas en relación al crecimiento y ganancia de peso pudieran estar mediados por el eje IGF-1. Estudios observacionales han sugerido que el eje IGF-1 es un mediador de la programación metabólica del crecimiento. Por lo tanto un aumento de la secreción del IGF-1 durante la niñez, como también de otras hormonas importantes, pudieran afectar la programación y modificar la fisiología normal del adulto.

Basado en lo anteriormente mencionado, se hipotetiza que el sexo puede modular las vías de programación metabólicas tempranas, las cuales afectarían la respuesta del niño a la ingesta de diferentes cantidades de proteínas durante las etapas tempranas de la vida. En este estudio se busca investigar si el sexo modula la respuesta de parámetros bioquímicos relevantes y del crecimiento en relación a las cantidades ingeridas de proteínas en etapas tempranas de la vida.

Esta investigación se realizó por medio de un estudio clínico aleatorizado, multicéntrico y doble ciego. Los participantes fueron seleccionados entre Octubre de 2002 y el 31 de Julio de 2004. Los niños fueron distribuidos en 2 grupos, uno donde recibían fórmula a base de leche entera de vaca con un alto contenido proteico y otro donde la fórmula tenía un bajo contenido proteico durante el primer año de vida.

Los principales resultados a valorar fueron:

- Niveles séricos libre y totales de IGF-1, proteína unidora de I IGF (IGFBP2), IGFBP3 y la leptina por medio de ensayo inmunoradiométrico.
- La adiponectina sérica por medio de radioinmunoensayo.
- Proteína unidora de leptina.
- Péptido C urinario por radioinmunoensayo.
- Las medidas antropométricas: peso, longitud, grosor del pliegue tricipital y subescapular.
- La ingesta dietética: ingesta proteica e ingesta de energía, las cuales fueron valoradas a los 3 y 6 meses de vida por medio de un diario alimenticio.

El estudio cumple los criterios de la declaración II de Helsinki y fue aprobado por los comités de ética. En todos los casos se obtuvo consentimiento informado por parte de los padres.

La respuesta del eje IGF-1 a la alimentación con una fórmula con alto contenido proteico fue modulada por el sexo. Los valores séricos de IGF-1 totales y libres, así como la IGFBP3 fueron mayores en niñas que en niños. Cuando se comparo la dieta de alto contenido proteico con la de bajo contenido, se asoció con un mayor valor de IGF-1 y una menor secreción de IGFBP2. La respuesta a la dieta de alto contenido proteico tuvo una tendencia a ser mayor en niñas que en niños; además esta dieta tuvo una relación péptido C/creatinina mayor. La concentración de leptina fue mayor en niñas que en niños y se correlaciono con los parámetros del eje IGF-1.

En conclusión, los resultados del estudio sugieren que la respuesta endocrina a una dieta con un alto contenido proteico en edades tempranas de la vida, puede ser modulada por el sexo. Aunque la respuesta del eje IGF-1 en niñas fue mayor que la de los niños, no se evidenció un efecto acelerado del crecimiento.

BIBLIOGRAFIA

1. Liu J, Krantz ID. Cornelia de Lange syndrome, cohesin, and beyond. *Clin Genet* 2009; 76: 303-314.
2. Braunholz D, Hullings M, Gil-Rodríguez MC et al. Isolated NIBPL missense mutations that cause Cornelia de Lange syndrome alter MAU2 interaction. *Eur J Hum Genet* 2012; 20: 271-276.
3. Remeseiro S, Losada A. Cohesin, a chromatin engagement ring. *Curr Opin Cell Biol* 2013; 25: 63-71.
4. Nasmyth K. Cohesin: a catenase with separate entry and exit gates? *Nat Cell Biol* 2011; 13: 1170-1177.
5. Ireland M, Donnai D, Burn J. Brachmann-de Lange syndrome. Delineation of the clinical phenotype. *Am J Med Genet* 1993; 47: 959-964.
6. Kline AD, Krantz ID, Sommer A et al. Cornelia de Lange syndrome: clinical review, diagnostic and scoring systems, and anticipatory guidance. *Am J Med Genet A* 2007; 143A: 1287-1296.
7. Barisic I, Tokic V, Loane M et al. Descriptive epidemiology of Cornelia de Lange syndrome in Europe. *Am J Med Genet A* 2008; 146A: 51-59.
8. Krantz ID, McCallum J, DeScipio C et al. Cornelia de Lange syndrome is caused by mutations in NIPBL, the human homolog of *Drosophila melanogaster* Nipped-B. *Nat Genet* 2004; 36: 631-635.
9. Tonkin ET, Wang TJ, Lisgo S et al. NIPBL, encoding a homolog of fungal Scc2-type sister chromatid cohesion proteins and fly Nipped-B, is mutated in Cornelia de Lange syndrome. *Nat Genet* 2004; 36: 636-641.
10. Musio A, Selicorni A, Focarelli ML et al. X-linked Cornelia de Lange syndrome owing to SMC1L1 mutations. *Nat Genet* 2006; 38: 528-530.
11. Deardorff MA, Kaur M, Yaeger D et al. Mutations in cohesin complex members SMC3 and SMC1A cause a mild variant of cornelia de Lange syndrome with predominant mental retardation. *Am J Hum Genet* 2007; 80: 485-494.
12. Deardorff MA, Wilde JJ, Albrecht M et al. RAD21 mutations cause a human cohesinopathy. *Am J Hum Genet* 2012; 90: 1014-1027.
13. Deardorff MA, Bando M, Nakato R et al. HDAC8 mutations in Cornelia de Lange syndrome affect the cohesin acetylation cycle. *Nature* 2012; 489: 313-317.
14. Pié J, Gil-Rodríguez MC, Ciero M et al. Mutations and variants in the cohesion factor genes NIPBL, SMC1A, and SMC3 in a cohort of 30 unrelated patients with Cornelia de Lange syndrome. *Am J Med Genet A* 2010; 152A: 924-929.

15. Musio A, Mariani T, Montagna C et al. Recapitulation of the Roberts syndrome cellular phenotype by inhibition of INCENP, ZWINT-1 and ZW10 genes. *Gene* 2004; 331: 33-40.
16. Liu J, Krantz ID. Cohesin and human disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008; 9: 303-320.
17. Rohlin A, Wernersson J, Engwall Y et al. Parallel sequencing used in detection of mosaic mutations: comparison with four diagnostic DNA screening techniques. *Hum Mutat* 2009; 30: 1012-1020.
18. Park SJ, Jung EH, Ryu RS et al. The clinical application of array CGH for the detection of chromosomal defects in 20,126 unselected newborns. *Mol Cytogenet* 2013; 6: 21.
19. Yan J, Zhang F, Brundage E et al. Genomic duplication resulting in increased copy number of genes encoding the sister chromatid cohesion complex conveys clinical consequences distinct from Cornelia de Lange. *J Med Genet* 2009; 46: 626-634.

