

“Best practice” per la diagnosi e la gestione clinica di bambini affetti dalla sindrome Ring14 – le prime raccomandazioni stilate da una “task force” dedicata

Berardo Rinaldi¹, Alessandro Vaisfeld², Sergio Amari³, Chiara Baldo⁴, Giuseppe Gobbi⁵, Pamela Magini⁶, Erto Melli⁷, Giovanni Neri², Francesca Novara¹, Tommaso Pippucci⁸, Romana Rizzi⁹, Annarosa Soresina¹⁰, Laura Zampini¹¹, Orsetta Zuffardi¹, Marco Crimi^{12,#}

Affiliazioni:

- 1) Dipartimento di Medicina Molecolare, Università di Pavia
- 2) Istituto di Genetica Medica, Università Cattolica, scuola di Medicina, Roma
- 3) Unità di Pediatria, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia
- 4) Laboratorio di Genetica umana, Ospedale Galliera, Genova
- 5) Unità di Neuropsichiatria Infantile, IRCCS Istituto delle Scienze Neurologiche, Bologna
- 6) Unità di Genetica Medica, Dipartimento di Scienze mediche, Ospedale universitario S. Orsola-Malpighi, Bologna
- 7) Ospedale S. Anna, Ambulatorio Oculistica, AUSL di Reggio Emilia
- 8) Unità di Genetica Medica, Dipartimento della Donna, del bambino e delle malattie urologiche, Scienze mediche, Ospedale universitario S. Orsola-Malpighi, Bologna
- 9) Unità di Neurologia, Dipartimento delle Malattie del motoneurone, IRCCS Arcispedale Santa Maria Nuova, Reggio Emilia
- 10) Unità di Immunologia pediatrica, Dipartimento di Pediatria, Università di Brescia, ASST Spedali Civili di Brescia
- 11) Dipartimento di Psicologia, Università degli Studi di Milano-Bicocca, Milano
- 12) Ring14 International, Ufficio scientifico, Reggio Emilia

Referente:

Dr. Crimi Marco

Ring14 International

Via Flavio Gioia, 5 – 42124 Reggio Emilia

Email: crimi.marco@ring14.org

La sindrome del cromosoma 14 ad anello (“sindrome r(14)”) è una rara condizione cromosomica ed è caratterizzata da manifestazioni cliniche multi-sistemiche, tra cui epilessia farmaco-resistente ad esordio precoce, disabilità intellettiva e disturbo dello spettro autistico.

Queste raccomandazioni, le prime dedicate alla sindrome r(14) sindrome r(14), sono state formulate in accordo alle evidenze provenienti dalla letteratura scientifica e all'esperienza personale di medici e ricercatori che hanno seguito per diversi anni soggetti affetti dalla sindrome r(14); le

raccomandazioni finali qui suggerite sono state raggiunte per consenso tra gli autori del presente lavoro.

Come per altre condizioni su base genetica, la diagnosi precoce è di fondamentale importanza. L'unica metodica capace di identificare i cromosomi ad anello è la citogenetica convenzionale. Gli individui con una delezione terminale del braccio lungo del cromosoma 14 accertata mediante cariotipo molecolare (array-CGH) devono essere testati secondariamente mediante citogenetica convenzionale (cariotipo) per escludere la presenza di un cromosoma ad anello. A seguito della diagnosi, è fondamentale garantire sia ai soggetti affetti che ai caregiver assistenza specifica da parte di un team multidisciplinare, sia per la gestione clinica che per le implicazioni sociali. L'epilessia deve essere trattata sin dall'inizio con una terapia anticonvulsivante. Allo stesso modo, la valutazione nutrizionale è fortemente raccomandata per tutti i pazienti: un supporto nutrizionale con eventuale gastrostomia può essere indicato in casi selezionati di malnutrizione. La presenza di tratti autistici deve essere attentamente valutata. Molti pazienti con la sindrome r(14) hanno evidenti problemi comunicativi e quindi il mantenimento delle capacità comunicative residue è essenziale e ogni sforzo deve essere fatto per preservare la loro autonomia.

BACKGROUND

Questo progetto è nato con il supporto e la collaborazione diretta con Ring14 International (www.ring14.org), organizzazione senza scopo di lucro che supporta e coordina attività cliniche e di ricerca scientifica a beneficio delle persone con sindrome r(14) e dei loro familiari [1]. Le nostre Raccomandazioni si basano sulle attuali evidenze della letteratura scientifica e sull'esperienza personale di professionisti che rappresentano diverse aree di competenza medica e sociale. Data la ridotta bibliografia inerente la sindrome r(14), il consenso sulle raccomandazioni è stato raggiunto attraverso un processo di Delphi modificato [2], che consente di raggiungere un consenso tra gli autori anche quando evidenze a riguardo non sono disponibili nella letteratura scientifica.

Introduzione sui cromosomi ad anello

I cromosomi ad anello sono classificati tra le aberrazioni cromosomiche “di struttura” in quanto assumono una conformazione circolare, anomala rispetto alla normale morfologia “a bastoncino”. Tale alterazione è stata riportata per ogni cromosoma umano, sebbene siano principalmente coinvolti i cromosomi acrocentrici (13, 14, 15, 21 e 22). Solitamente i cromosomi ad anello si formano a seguito di piccole delezioni terminali sia nel braccio corto che in quello lungo e dalla successiva fusione delle due estremità, sprovviste dei telomeri. Per alcuni cromosomi ad anello è stata descritta una duplicazione contigua alla delezione terminale, molto probabilmente derivante dalla rottura di un cromosoma dicentrico [3]. Tranne in rari casi, i cromosomi ad anello sono di nuova insorgenza negli individui portatori, anche se non è chiaro se siano già presenti nei gameti o se si formino ex novo nelle cellule post-zigotiche [4]. Un aspetto distintivo dei cromosomi ad anello è la loro instabilità mitotica, conseguenza collaterale del fisiologico scambio di materiale cromosomico tra due cromatidi “fratelli” [5]. Infatti, quando questo fenomeno si verifica nei cromosomi ad anello può portare alla formazione di diversi tipi di cellule al termine della divisione mitotica: (i) cellule prive di tutto o parte del cromosoma circolare originale, (ii) cellule contenenti un doppio anello o (iii) cellule con più di un cromosoma ad anello. Secondo alcuni autori l'instabilità mitotica dei cromosomi ad anello e la conseguente riduzione della progenie cellulare

sarebbero all'origine della cosiddetta "sindrome del cromosoma ad anello": negli anni '80 Cote [6] e Kosztolányi [7] hanno per primi rintracciato alcuni tratti clinici in comune (ritardo psicomotorio, bassa statura e dismorfismi) tra gli individui portatori di cromosomi ad anello, indipendentemente dal cromosoma coinvolto. Attualmente la "sindrome del cromosoma ad anello" è stata ridimensionata, ascrivendo ad essa tratti solo fenotipici minori, come alcuni tipi di discromie cutanee o specifici pattern elettroencefalografici [8, 9].

Sindrome del cromosoma 14 ad anello (Sindrome Ring14)

La sindrome r(14) (OMIM # 616606) è molto rara e la sua prevalenza e incidenza esatte sono tuttora sconosciute. Ad oggi, sono stati descritti oltre 80 casi dalla prima segnalazione del 1971 [10]. La dimensione della regione genomica deleta nella porzione terminale del braccio lungo del cromosoma 14 è variabile, da meno di una ad alcune megabasi. Inoltre, in alcuni individui sono stati osservati riarrangiamenti cromosomici complessi, per i quali alla delezione si associa una duplicazione parziale del braccio lungo [11, 12]. L'instabilità del cromosoma ad anello è di comune riscontro, come dimostra in citogenetica l'identificazione di cellule monosomiche per il cromosoma 14 così come di cellule con un doppio anello o con due anelli [13], configurando pertanto una condizione di mosaicismo. La percentuale di cellule aneuploidi, variabile da individuo ad individuo non viene invece evidenziata all'array-CGH, [14]. Infatti, almeno nel sangue, sono comunque prevalenti (85-90%) le linee cellulari con il cromosoma ad anello. Le caratteristiche cliniche della sindrome r(14) comprendono generalmente dismorfismi facciali, ritardo psicomotorio, disabilità intellettiva, ed epilessia farmaco-resistente [15, 16]. Alcune di queste caratteristiche sono condivise con la sindrome da delezione 14q32q33 [17].

Fisiopatologia

A causa della sua rarità, della variabile dimensione del materiale cromosomico perduto (o acquisito) e dell'intrinseco stato di mosaicismo, una precisa correlazione genotipo-fenotipo della sindrome r(14) non è stata ancora definita [18]. Anche il ruolo dell'aploinsufficienza delle regioni delete non è chiaro, dal momento che la porzione più distale del braccio lungo del cromosoma 14 è polimorfico nella popolazione generale [19]. D'altra parte gli individui con sindrome r(14) presentano una condizione clinica più grave rispetto a quella associata alle corrispondenti delezioni [20] e questa evidenza suggerisce che la conformazione circolare possa influire sull'espressione di geni localizzati in altre regioni del r(14). A sostegno di questa ipotesi, studi recenti hanno evidenziato alterazioni nell'espressione genica in pazienti con r(14) [21]. Tra i possibili meccanismi responsabili dell'alterazione epigenetica è stata ipotizzata una alterazione della normale posizione del cromosoma ad anello all'interno del nucleo della cellula [22].

SINTOMI E COMPLICANZE PRINCIPALI

Ritardo dello sviluppo e disabilità intellettiva

Una caratteristica costante degli individui affetti dalla sindrome r(14) è una disabilità intellettiva di grado medio-grave [23]. La severità del deficit intellettivo non sembra dipendere direttamente dalla delezione (o dalla sua dimensione) ma piuttosto dall'età di insorgenza dell'epilessia e dall'intensità delle crisi: un'insorgenza più precoce correla con un grado di disabilità maggiore e con la presenza

di possibili tratti autistici [24]. Il controllo posturale è raggiunto in media nel primo anno di vita, mentre i primi passi vengono raggiunti a partire dai 2-3 anni, anche se ci sono individui con sindrome r(14) che non riescono ad acquisire la deambulazione. Lo sviluppo del linguaggio è una delle aree più colpite. Disturbi del comportamento, tra cui iperattività e stereotipie motorie, sono stati osservati nella maggior parte dei pazienti [25]. I bambini con sindrome r(14) di solito non hanno un comportamento aggressivo [23]. Possono essere presenti movimenti stereotipati, interessi routinari e iper- o ipo-reattività ad input sensoriali [26]. In alcuni individui, la somministrazione dell'Autism Diagnostic Observation Schedule (ADOS) ha rivelato un fenotipo autistico completo [27].

Epilessia

Tutti gli individui con sindrome r(14) soffrono di epilessia, farmacoresistente nella maggior parte dei casi. L'esordio è variabile, ma di solito si verifica nei primi mesi di vita [28, 29]. Le convulsioni sono principalmente generalizzate (tonico-cloniche, miocloniche-toniche, cloniche o focali) con partenza dal lobo temporale o frontale e con secondaria generalizzazione. Recentemente in letteratura è stato dimostrato che le crisi sono focali, con o senza generalizzazione secondaria [30]. Tipicamente, le crisi si verificano al risveglio o nella fase dell'addormentamento e possono verificarsi in cluster, che possono durare anche più di 24 ore. Lo stato epilettico (crisi della durata superiore a 15 minuti) è stato riportato in circa la metà degli individui. Il decorso dell'epilessia è piuttosto tipico, con crisi frequenti nei primi anni di vita e progressiva diminuzione fino alla tarda adolescenza [23, 31]. È stato anche notato che un'intensa attività epilettica nei primi anni di vita può associarsi alla regressione dello sviluppo psicomotorio o del linguaggio, suggerendo un possibile effetto encefalopatico dell'epilessia stessa [32]. Nella sindrome r(14), l'EEG evidenzia un'attività lenta diffusa e non strutturata sia durante il sonno che in veglia. Su un'attività di fondo di questo tipo si inseriscono scariche di onde lente, di grande ampiezza, asincrone, predominanti nelle regioni frontali o medio-posteriori o complessi di Punta e Punta Onda nelle regioni occipitali [33]. Tuttavia, non è ad oggi noto un pattern EEG specifico per la sindrome r(14).

Caratteristiche facciali

Durante l'infanzia possono essere presenti alcune caratteristiche ricorrenti. Il viso è lungo e talvolta asimmetrico, la fronte ampia, le arcate sopra-orbitali ipoplasiche con sopracciglia orizzontali, strabismo, ipertelorismo epicanto, blefarofimosi e down-slanting delle rime palpebrali. Il naso solitamente ha una radice appiattita con punta bulbosa, il filtro può essere lungo e le guance sono piene. L'impianto delle orecchie può essere basso, mentre la bocca è spesso piccola con labbra sottili e angoli rivolti verso il basso [34]. Tutte queste caratteristiche sono state riportate specificamente in pazienti con sindrome r(14) e delezione terminale di almeno 650 kb. La correlazione tra queste caratteristiche e delezioni terminali del braccio lungo del cromosoma 14 è confermata dalla presenza delle stesse anche in soggetti con delezioni lineari [35].

Anomalie oculari

Il fenotipo clinico nella sindrome r(14) comprende una vasta gamma di manifestazioni oculari. In molti pazienti sono state riportate modificazioni morfo-funzionali delle strutture perioculari (annessi e orbita) come ipertelorismo, creste sovra orbitarie non sviluppate (appiattimento della porzione sovra orbitale delle ossa frontali), epicanto, blefarofimosi, sopracciglia orizzontali. Spesso sono

presenti miopia e astigmatismo, strabismo, cataratta bilaterale, glaucoma malformativo, maculopatia distrofica, danno ai nervi ottici con pallore e subatrofia, anomalie nella pigmentazione retinica per alterazioni dell'epitelio pigmentato [23, 36]. In un numero limitato di pazienti, sono stati descritti anche microftalmia e colobomi iridei o corio retinici [37].

Altre manifestazioni cliniche

Le caratteristiche ricorrenti includono microcefalia post-natale, ipotonia, scoliosi e aumentata incidenza di infezioni, in particolare respiratorie, che possono richiedere l'ospedalizzazione. [34, 38]. La suscettibilità alle infezioni è stata descritta anche in pazienti con delezioni lineari; questo, insieme all'osservazione che la regione distale 14q contiene i geni che codificano per le catene pesanti delle immunoglobuline, ha fatto ipotizzare che l'aploinsufficienza sia responsabile del problema [23, 39]. Per quanto noto ad oggi, solo alcuni individui con sindrome r(14) hanno un alterato profilo immunologico e/o anticorpale. La gravità degli episodi infettivi è variabile e va dalle infezioni ricorrenti delle vie aeree superiori a polmoniti severe [28, 34, 40]. Altri segni clinici meno frequentemente osservati sono bassa statura, disturbi del sonno, celiachia, osteoporosi giovanile/osteopenia, artrite e macchie caffè-latte. I sintomi gastrointestinali e la malnutrizione sono comuni in molti bambini, come frequentemente si osserva nei disturbi neuro-cognitivi gravi. Segnalazioni di malformazioni congenite (cuore, reni e tratto urinario) sono invece più rare. La risonanza magnetica in genere non rileva anomalie patognomiche: possono però essere presenti segni aspecifici come lieve atrofia cerebrale, dismorfismi del corpo calloso, lieve dilatazione ventricolare, anomalie dell'ippocampo e alterazioni strutturali del cervelletto [34, 41].

Evoluzione clinica e prognosi

Nei soggetti con sindrome r(14) la prognosi *quoad vitam* non è stata ancora definita con certezza. Considerando la sostanziale variabilità clinica, è chiaro che la prognosi deve essere valutata individualmente e dipende principalmente da comorbidità e complicanze mediche. In questo senso, la ricorrenza di crisi epilettiche, le complicanze infettive e le carenze nutrizionali devono essere considerati come i principali fattori determinanti. Al momento non sono disponibili terapie curative; ovviamente, tutti gli sforzi medici devono essere indirizzati a trattare i sintomi, migliorare la qualità della vita e prevenire il più possibile le complicanze note.

METODOLOGIA DI LAVORO

Il lavoro qui presentato è basato su dati provenienti dalla letteratura scientifica sottoposta a peer-review e su un successivo riassunto olistico da parte di un gruppo multidisciplinare di esperti sulla sindrome(14). Brevemente, la nostra metodologia è stata basata su tre *step* consecutivi:

- generazione di un primo elenco di raccomandazioni preliminari da parte di un gruppo ristretto di autori (BR, AV e MC) selezionati tra i membri del panel;
- sulla base di queste prime indicazioni e delle evidenze provenienti dalla letteratura, il gruppo di esperti ha redatto una serie di linee-guida ("Raccomandazioni") per la diagnosi e il follow-up che successivamente sono state ridiscusse in dettaglio prima dell'approvazione finale;
- il documento è stato valutato dal comitato scientifico di Ring14 International e infine approvato dal suo Consiglio di Amministrazione.

Inizialmente, il gruppo principale ha effettuato una ricerca completa intrapresa per raccogliere i documenti pubblicati più appropriati sulla sindrome ring14. MEDLINE-OVID e Science Citation Index (ISI) sono stati i database più ricercati, dal 1971 al 2016. Le principali *key-word* utilizzate sono state: " cromosoma 14 ad anello", "Sindrome del cromosoma 14", "sindrome del cromosoma 14 ad anello". Di tutti i documenti raccolti dai database pubblici (oltre 150 articoli originali), il gruppo principale ha selezionato quelli che trattano i seguenti argomenti:

- approfondimenti nella formazione del cromosoma 14 ad anello;
- contributo ai possibili meccanismi patologici;
- rapporto e definizione dei tratti clinici della sindrome r(14);
- elementi di assistenza clinica e sociale.

Successivamente, il gruppo centrale ha identificato un elenco di 7 aree principali, come presentati in questo documento: 1) Diagnosi, 2) Gestione generale e follow-up, 3) Trattamento dei sintomi principali, 4) Problemi respiratori, 5) Supporto nutrizionale, 6) Disturbi della comunicazione e del linguaggio e 7) Aspetti della ricerca scientifica. Il tema "Trattamento dei sintomi principali" è stato ulteriormente suddiviso in quattro classi di raccomandazioni: epilessia, ipotonia, infezioni ricorrenti, visione e udito.

Sulla base delle conoscenze bibliografiche e della loro esperienza personale, ai componenti del gruppo di esperti, che comprende genetisti clinici e molecolari, neurologi, immunologi, psicologi e ricercatori, è stato chiesto di esprimersi sulle raccomandazioni che venivano elaborate, chiedendo loro se fossero d'accordo o meno (chiedendo di fornire in questo caso una motivazione). I risultati sono stati valutati secondo una scala di valutazione adottata dalla European Federation of Neurological Societies [42] con tre livelli di giudizio in base alla bibliografia disponibile: A (letteratura ampia), B (letteratura modesta) o C (buona pratica clinica ma nessun dato disponibile in letteratura). Inoltre, sono stati richiesti anche ai partecipanti i riferimenti bibliografici dettagliati. Anche quando si è ottenuto un consenso per una data raccomandazione, i commenti sono stati considerati e incorporati al fine di chiarire meglio la raccomandazione stessa applicando il "metodo Delphi", tecnica comunemente utilizzato per raggiungere consenso tra i membri di una commissione di valutatori [2]. Sono stati effettuati tre *round* di valutazione. Per ogni turno, sono state prese in considerazione solo le raccomandazioni che erano state modificate rispetto al turno precedente. Per le raccomandazioni modificate, ai partecipanti è stata fornita una spiegazione dettagliata.

RISULTATI

1) Diagnosi

La diagnosi di sindrome r(14) può essere raggiunta solo attraverso test citogenetici: attualmente non sono state identificate alterazioni cliniche, biochimiche, elettrofisiologiche o neuroradiologiche sufficientemente specifiche.

Quando sospettare la sindrome r(14) ? Di fronte ad un soggetto con disabilità intellettiva ed epilessia farmaco-resistente ad esordio precoce è difficile sospettare *a priori* la sindrome r(14) .

Quali test scegliere? Tutti i bambini con alterazioni neuro- cognitive ed epilessia farmaco-resistente

devono essere indirizzati ad un'analisi mediante array-CGH [43], che costituisce uno step fondamentale dell'iter diagnostico (Tabella 1). Tutti gli individui in cui viene identificata una delezione terminale del braccio lungo del cromosoma 14 (od un riarrangiamento complesso coinvolgente questa regione) devono essere sottoposti ad un cariotipo standard, al fine di escludere la presenza di un cromosoma ad anello. Se non vengono rilevate anomalie cromosomiche sbilanciate o in caso di array-CGH normale o non conclusivo ai fini delle diagnosi, nell'iter diagnostico deve essere sempre considerata la citogenetica convenzionale, in modo da individuare quei rari casi di r(14) con delezioni non rintracciabile/assente [44].

Tabella 1) Diagnosi della sindrome Ring14: indagini raccomandate

Test raccomandati	
Chimica clinica	Emocromo, glucosio, funzionalità epatica, CPK, acido urico, T3, T4 e, TSH
Radiologia	RM encefalo
Oftalmologia	Fundus oculi, esami elettrofisiologici (Potenziali Evocati, elettro-retinogramma)
Test genetico-molecolari	<ul style="list-style-type: none"> • Array-CGH • Cariotipo convenzionale
Neuropsicologia	Completa valutazione neurofisiologica

Diagnosi differenziale

Comunemente a molte altre condizioni su base genetica, la sindrome r(14) ha una sintomatologia prevalentemente di ambito neurologico. Le diagnosi differenziali sono quindi numerose, essenzialmente nello spettro delle encefalopatie epilettiche. È importante sottolineare che le delezioni terminali lineari del braccio lungo del cromosoma 14 possono anch'esse associarsi a fenotipi patologici, come la sindrome da delezione 14q32. La principale differenza tra queste due condizioni è la più frequente insorgenza di epilessia nei soggetti con sindrome r(14) .

Comunicare la diagnosi

Comunicare la diagnosi ai genitori richiede tempo adeguato ed esperienza. Se la comunicazione non avviene in modo appropriato le conseguenze per i caregiver possono essere drammatiche,

Raccomandazione 1.1) *La diagnosi deve essere effettuata il più presto possibile: i bambini con disturbi dello sviluppo neurologico sono solitamente indirizzati a test citogenetici convenzionali o molecolari. L'analisi del cariotipo è essenziale per la rilevazione del cromosoma ad anello e la diagnosi definitiva della sindrome r(14): Grado A*

Raccomandazione 1.2) *Cariotipo: l'analisi di almeno 30 metafasi è necessaria per rilevare un cromosoma 14 ad anello che si verifica in almeno l'80% delle cellule: Grado A*

Raccomandazione 1.3) *I pazienti con diagnosi di sindrome r(14) dovrebbero consultare un genetista esperto nella sindrome con priorità assoluta: Grado A*

Raccomandazione 1.4) *La diagnosi dovrebbe essere comunicata di persona da un genetista, assicurando un tempo sufficiente per discutere con i genitori e assicurandosi di fornire informazioni sufficienti e clinicamente dettagliate: Grado C*

Raccomandazione 1.5) *Fornire materiale stampato sulla sindrome r(14), su Ring14 International, sui servizi esistenti di assistenza sanitaria e siti web utili. Una copia del referto clinico può essere*

utile per qualsiasi persona caregiver. Assicurare ai genitori il supporto di un team socio-clinico professionale, un regolare ciclo di visite di follow-up, il successivo idealmente entro i successivi 6 mesi: Grado C

2) Gestione generale e follow-up

La gestione dei bambini con disabilità è una delle sfide più importanti da affrontare. Questi pazienti richiedono spesso un approccio multidisciplinare che tenga conto di tutte le problematiche del bambino. I pazienti e le famiglie dovrebbero essere supportati da un servizio di assistenza sanitaria e da un team di assistenza professionale (Raccomandazione 2.4).

Raccomandazione 2.1) *L'assistenza multidisciplinare dovrebbe essere garantita presso un centro clinico esperto e disponibile per i pazienti e i loro familiari al fine di ridurre le complicanze mediche e migliorare la qualità della vita. Il medico di medicina generale/pediatra dovrebbe avvalersi della consulenza dei seguenti specialisti: neuropsiatra/neuropsichiatra infantile, medico e terapista respiratorio, gastroenterologo/nutrizionista, dietologo, cardiologo, medico della riabilitazione, consulente sociale, terapista occupazionale, logopedista, infermiere specializzato, fisioterapista, oftalmologo, immunologo e psicologo: Grado C*

Raccomandazione 2.2) *La valutazione clinica iniziale deve comprendere: RM cerebrale, EEG, cuore e addome USA, valutazione oculistica e audiologica, valutazione neuropsicologica: Grado C*

Raccomandazione 2.3) *Altri esami comuni di solito eseguiti nella sindrome r(14) sono: esame per celiachia e test autoimmunità, analisi immunologica di primo livello, valutazione auxologica: Grado C*

Raccomandazione 2.4) *I bambini affetti dovrebbero generalmente essere esaminati con il seguente schema:*

- immunologo, una volta all'anno;
- neuropsiatra/neuropsichiatra infantile, quando necessario (epilessia, disturbi dello spettro autistico, disabilità intellettiva);
- oftalmologo, quando necessario;
- gastroenterologo/nutrizionista, quando necessario e in caso di malnutrizione;
- terapisti della riabilitazione (terapista fisica, psicomotoria, del linguaggio e del linguaggio), ogni settimana, se necessario

Grado C

Raccomandazione 2.5) *Il gruppo di clinici a supporto del paziente dovrebbe mantenere contatti regolari con la famiglia tra una visita e l'altra. Un referente del team di supporto dovrebbe essere incaricato di mantenere tali contatti: Grado C*

Raccomandazione 2.6) *Idealmente, un coordinamento efficace è essenziale tra il team clinico multidisciplinare, il medico di medicina generale e i servizi primari: Grado C*

Raccomandazione 2.7) *I genitori e gli operatori sanitari dovrebbero preservare la massima autonomia possibile per il loro bambino: Grado C*

Raccomandazione 2.8) *La buona relazione tra i pazienti e gli altri operatori sanitari è di vitale importanza; il supporto psicologico dovrebbe essere garantito a tutti i caregiver ogni volta richiesto: Grado C*

3) Trattamento sintomatico e specifico dei principali sintomi

Epilessia

L'epilessia è senza dubbio la manifestazione clinica più rilevante della sindrome Ring14. Episodi infettivi ricorrenti, più o meno associati a febbre, spesso favoriscono la comparsa delle crisi [45]. La frequenza delle crisi epilettiche tende a diminuire nel tempo ma solo in casi eccezionali scompaiono completamente [46]. Raccomandazioni generali durante le convulsioni: non tentare il contenimento fisico, annotare il tipo di convulsioni, misurarne la durata e monitorare i pazienti per segni di ipossia ed in caso di crisi associate a desaturazione significativa dell'ossigeno (nel qual caso potrebbe essere necessaria l'ossigenoterapia). I farmaci antiepilettici più frequentemente utilizzati sono: barbiturici (nei primi mesi di vita), acido valproico, carbamazepina, topiramato, vigabatrina, clobazam e levetiracetam. Circa la metà dei pazienti con sindrome r(14) non risponde al trattamento farmacologico, nell'altra metà la capacità di risposta al trattamento è comunque variabile. La dieta chetogenica e la stimolazione del nervo vago possono essere prese in considerazione come strategia terapeutica [47]. Sconsigliato interrompere terapie antiepilettiche efficaci quando la sintomatologia appare meno grave in quanto si rischia un ritorno di crisi che potrebbero anche non risultare più reattive a trattamenti precedentemente efficaci.

Ipotonia

L'ipotonia è abbastanza comune nella sindrome r(14). La riduzione del tono muscolare può essere generalizzata o coinvolgere prevalentemente solo i muscoli assiali. L'ipotonia tende a risolversi progressivamente, anche a seconda della riabilitazione a cui il paziente viene sottoposto. L'ipotonia ha un effetto smorzante sullo sviluppo motorio e può spesso portare a scoliosi e/o piede piatto. La motilità ridotta nei primi anni può causare contrazioni muscolari e/o retrazioni tendinee.

Infezioni ricorrenti

Molti individui con la sindrome r(14) soffrono di frequenti episodi di infezioni delle vie aeree superiori, mentre i casi di infezione delle basse vie aeree sono più rari. Per quanto ad oggi noto in letteratura, solo alcuni individui con sindrome r(14) hanno un alterato profilo immunologico e/o anticorpale [39]. La gravità di questi episodi infettivi è variabile e va dalle infezioni ricorrenti delle vie aeree superiori alle polmoniti severe. Come per altre categorie di individui fragili, la presentazione clinica può essere inusuale, con iniziale ed aspecifico deterioramento delle condizioni generali (ad esempio, la comparsa tardiva della febbre), seguito da un aggravamento rapido. La diagnosi deve essere tempestiva, così come un adeguato approccio terapeutico e l'eventuale ospedalizzazione. Le comorbidità, come l'epilessia e lo stato nutrizionale non ottimale, possono peggiorare drammaticamente la gestione clinica. Poiché le infezioni sono uno dei peggiori fattori prognostici e la principale causa di morte in età adulta, è fondamentale mettere in atto tutte le misure di prevenzione, come elevati standard igienici, formazione dei caregiver per la corretta identificazione dei sintomi precoci, osservanza delle vaccinazioni.

Visione e udito

Gli errori di rifrazione (come la miopia e l'astigmatismo) e/o la degenerazione retinica, associati ad anomalie della pigmentazione, possono essere frequentemente osservati nella sindrome r(14). La valutazione del fondo oculare può rivelare diverse complicazioni, come assottigliamento dei capillari, sub-atrofia con aspetto pallido del disco ottico, aree depigmentate, macchie ipocromiche o

irregolarità diffuse dell'epitelio retinico. Lo strabismo è un'altra condizione di frequente riscontro [37].

Raccomandazione 3.1) *Effettuare regolari controlli di follow-up clinico per valutare le crisi epilettiche: Grado A*

Raccomandazione 3.2) *Non interrompere terapie antiepilettiche efficaci anche se la sintomatologia appare meno grave: Grado C*

Raccomandazione 3.3) *Avviare precocemente la terapia fisica per ridurre le complicanze ipotoniche (come la scoliosi) a causa del ridotto tono muscolare: Grado B*

Raccomandazione 3.4) *Effettuare valutazioni fisiatriche regolari per identificare possibili complicanze ipotoniche: Grado C*

Raccomandazione 3.5) *Effettuare esami oculistici periodici con valutazione del fundus oculi: Grado B*

Raccomandazione 3.6) *In caso di infezioni ricorrenti all'orecchio, eseguire una valutazione audiometrica: Grado A*

4) Problemi respiratori

Le complicanze respiratorie sono frequenti nei pazienti affetti da sindrome r(14) principalmente a causa della diminuzione della espansione della gabbia toracica associata a problemi di “ab ingestis” ed alle ricorrenti infezioni. Pertanto, è importante instaurare un programma di fisioterapia respiratoria individualizzato per ciascun paziente. Inoltre, quando ci si trova di fronte ad infezioni ricorrenti, le persone con sindrome r(14) dovrebbero essere tempestivamente indirizzate ad un immunologo clinico: identificare il possibile difetto immunologico (Tabella 2) e ottimizzare le strategie terapeutiche in conformità con i migliori standard di cura [46] è della massima importanza. In tutti i casi è raccomandato un trattamento antibiotico tempestivo per il controllo degli episodi acuti di infezione. La profilassi antibiotica può anche essere presa in considerazione in caso di infezioni ricorrenti e la sua durata deve essere valutata caso per caso dal medico curante. Inoltre, per prevenire le infezioni, si raccomanda la somministrazione di vaccini, in particolare vaccini contro batteri capsulati come vaccinazione anti-pneumococco, anti-H. influenzae e vaccinazioni anti-meningococco, oltre che la vaccinazione antiinfluenzale.

Raccomandazione 4.1) *I sintomi respiratori dovrebbero essere prontamente controllati; sono fortemente raccomandati test di screening per il monitoraggio della funzione respiratoria. I segni di insufficienza respiratoria dovrebbero essere discussi con i genitori per consentire una pianificazione precoce del protocollo terapeutico: Grado A*

Raccomandazione 4.2) *In caso di infezioni polmonari ricorrenti, considerare la profilassi antibiotica della fisioterapia respiratoria; anche una valutazione immunologica è fortemente raccomandata: Grado A*

Raccomandazione 4.3) *I vaccini raccomandati (inattivati) includono vaccino anti-haemophilus, anti-pneumococco, anti-meningococco e influenza: Grado C*

Raccomandazione 4.4) *In particolari casi, su indicazione dello Specialista Pneumologo, potrebbe essere necessaria l'ossigenoterapia domiciliare: Grado C*

Tabella 2) Test immunologici

Immunoglobuline sieriche (IgG, IgA, IgM, IgE)
Sottopopolazioni linfocitarie (CD3, CD4, CD8, CD19, DR, CD16)
Risposta anticorpale specifica, ad es. anticorpi anti-tetano, anticorpi anti-epatite
Valutazione dell'attività complementare totale (CH50)

5) Supporto nutrizionale

Nella maggior parte dei casi, i bambini con la sindrome r(14) sono sottopeso e spesso presentano anoressia che, talvolta, degenera nella malnutrizione; pertanto tutti i bambini affetti da sindrome r(14) devono avere regolari misurazioni antropometriche e valutazioni nutrizionali. Ogni visita clinica dovrebbe includere almeno la misurazione dei parametri auxologici e la loro valutazione su scale specifiche per i bambini con disabilità motorie. In caso di malnutrizione è consigliata la consulenza con un esperto dietologo o nutrizionista per una eventuale prescrizione di supplementi nutrizionali orali. In presenza di disfagia dovrebbe essere coinvolto un logopedista per studiare l'entità del disturbo della deglutizione e la strategia di riabilitazione orale. Quando l'alimentazione orale non è possibile, anche solo temporaneamente o in caso di grave disfagia, l'uso di un sondino naso-gastrico è l'opzione migliore e, in questa eventualità, è bene assicurare i caregiver e fornire loro una adeguata formazione. Se la disfagia diventa permanente deve essere presa in considerazione una gastrostomia. La gastrostomia è molto importante per assicurare una corretta e regolare somministrazione di alimenti e farmaci, (Tabella 3).

I bambini con sindrome r(14) hanno solitamente normali funzioni digestive e di assorbimento, pertanto possono essere nutriti con formule polimeriche e dovrebbero essere sempre incoraggiati a nutrirsi il più possibile per via orale. L'assunzione di micronutrienti e vitamine deve essere monitorata; la supplementazione giornaliera di vitamina D deve essere somministrata al doppio della dose giornaliera normalmente raccomandata (circa 800-1.000 UI/giorno).

Raccomandazione 5.1) *Lo stato nutrizionale, in particolare il peso corporeo, deve essere controllato regolarmente nei pazienti affetti dalla sindrome Ring14: Grado A*

Raccomandazione 5.2) *I bambini malnutriti dovrebbero essere indirizzati a un team nutrizionale pediatrico: Grado C*

Raccomandazione 5.3) *I bambini con disfagia devono essere indirizzati a un logopedista: Grado A*

Raccomandazione 5.4) *Un'attenta prescrizione di supplementi nutrizionali orali può aiutare a ridurre la malnutrizione nei bambini senza disfunzioni di deglutizione: Grado B*

Raccomandazione 5.5) *L'alimentazione tramite sonde enterali è raccomandata quando l'anoressia limita l'apporto calorico e/o quando esiste il rischio di aspirazione nelle vie respiratore durante la deglutizione: Grado A*

Tabella 3) Standard di cura suggeriti per complicazioni nutrizionali

Complicazioni nutrizionali	Standard di cura suggeriti
Screening per malnutrizione	Misure antropometriche nella valutazione clinica di routine
Supporto alla nutrizione	Gestito da un team pediatrico esperto in nutrizione
Trattamento della malnutrizione	Riabilitazione orale, integratori nutrizionali orali, e nutrizione enterale con sonde

6) Disturbi della comunicazione e del linguaggio

Come riportato sopra, disabilità intellettiva e disturbi del linguaggio sono stati riscontrati in quasi tutti i bambini colpiti dalla sindrome r(14) [24], sebbene sia descritta un'elevata variabilità individuale nelle loro capacità comunicative. In uno studio è stato dimostrato che solo 4 casi su 12 sono in grado di comunicare a parole [25]; inoltre, solo 2 di loro parlavano fluentemente. Va notato che i genitori di bambini "non-verbali" hanno segnalato la presenza di un numero maggiore di comportamenti-problema. La valutazione dello sviluppo del linguaggio nei bambini con sindrome r(14) deve essere condotta da operatori con sufficiente esperienza non solo nei disturbi del linguaggio ma anche nel trattamento delle disabilità intellettive e nei disturbi dello spettro autistico. Alcuni bambini sembrano utilizzare i gesti comunicativi per compensare le loro difficoltà espressive [25], quindi la valutazione deve considerare anche le abilità comunicative non verbali. Per aumentare le capacità linguistiche dei bambini, la pratica clinica suggerisce l'uso di strategie di comunicazione aumentative e alternative, anche se non ci sono ancora studi specifici sulla loro validità effettiva nei bambini con sindrome Ring14. La presenza di tratti autistici nella maggior parte di questi individui influenza fortemente le loro capacità comunicative. Come nei bambini con disturbi dello spettro autistico, un trattamento comportamentale intensivo, combinato con la formazione specifica rivolta ai genitori, potrebbe essere utile per ridurre i comportamenti-problema. Un programma specifico di riabilitazione del linguaggio deve essere pianificato per ogni bambino prendendo in considerazione l'età e le caratteristiche individuali.

***Raccomandazione 6.1)** Una valutazione completa dal punto di vista psicomotorio e neuropsicologico è utile dai primi 2 anni per rilevare i disturbi precoci della comunicazione e del linguaggio: Grado A*

***Raccomandazione 6.2)** Si raccomanda una regolare valutazione dello sviluppo linguistico da parte di un terapeuta esperto: Grado B*

***Raccomandazione 6.3)** Un supporto alla comunicazione (ad esempio, tavole su cui indicare figure o parole) dovrebbe essere utilizzato con gli individui con grave compromissione comunicativa; un training individualizzato dovrebbe essere garantito ai bambini e un supporto dovrebbe essere fornito ai loro caregiver: Grado C*

***Raccomandazione 6.4)** In presenza di tratti autistici, un trattamento comportamentale intensivo, combinato con la formazione ai genitori, potrebbe essere utile per ridurre i comportamenti-problema: Grado C*

7) La ricerca scientifica

Nel campo delle malattie rare, l'accesso alle informazioni e la raccolta standardizzata di dati clinici [49] e campioni biologici [50] sono prerequisiti fondamentali per promuovere la ricerca. Pertanto, sia le biobanche genetiche che i registri/database clinici svolgono un ruolo sempre più importante per facilitare il percorso diagnostico e lo sviluppo di protocolli di ricerca traslazionale. In questo contesto, Ring14 International ha sottoscritto nel 2009 un accordo con la rete Telethon di biobanche genetiche (TNGB) al fine di centralizzare la raccolta di campioni biologici di persone affette dalla sindrome Ring14 e dei loro familiari per metterli a disposizione della comunità scientifica [51]. L'accordo oltre a favorire la centralizzazione dei campioni e la standardizzazione dei metodi di raccolta garantisce visibilità e accessibilità ai campioni tramite il catalogo online TNGB

(<http://biobanknetwork.telethon.it/>) secondo standard e criteri predefiniti. Inoltre, Ring14 International si è direttamente impegnata nella raccolta di dati clinici di pazienti e famiglie di tutto il mondo e della loro registrazione all'interno di un database dedicato e accessibile ai ricercatori interessati (<http://www.ring14.org/eng/460/database/>). I dati vengono estratti direttamente dalle cartelle cliniche e valutati dai medici prima di essere inseriti nel database. Attualmente più di 300 campioni biologici e dati associati sono stati distribuiti ai ricercatori per sostenere progetti sulla sindrome ring14. Viene raccomandato alle famiglie dei bambini con diagnosi Ring 14 di fornire i loro dati per l'inserimento nel database e di depositare i campioni biologici presso le biobanche del TNGB. Ring14 International inoltre finanzia direttamente progetti scientifici con fondi dedicati e disponibili attraverso bandi di ricerca valutati tramite *peer review* [1]. Nonostante l'impegno di Ring14 International nel finanziamento di attività di ricerca scientifica, è urgente identificare e supportare nuove aree di attività.

Raccomandazione 7.1) Sono necessari ulteriori studi molecolari per ottimizzare il trattamento dei sintomi più rilevanti (cioè le crisi epilettiche e le secrezioni bronchiali): Grado A

Raccomandazione 7.2) Sono necessari ulteriori miglioramenti per armonizzare la raccolta dei dati di dati clinici: Grado B

Raccomandazione 7.3) Bambini diagnosticati (e loro familiari) che non hanno ancora contribuito ai progetti del database clinico/biobanca dovrebbero essere invitati a farlo: Grado B

Raccomandazione 7.4) Sono urgenti ulteriori studi sui determinanti psicosociali della qualità della vita nei bambini e nei caregiver: Grado C

Raccomandazione 7.5) Sono necessari ulteriori studi per valutare i disturbi della comunicazione e il loro trattamento nella sindrome Ring14: Grado B

Terapie alternative

Ad oggi, non ci sono studi clinici o ricerche traslazionali attualmente intraprese per sviluppare terapie alternative. Tuttavia, si sono iniziati a raccogliere dati preliminari sull'effetto antiepilettico del cannabidiolo (CBD) su alcuni bambini affetti dalla sindrome r(14) con epilessia farmaco-resistente. In uno studio recentemente pubblicato [52], è stato riportato che dosi di CBD di 2-5 mg/Kg al giorno, aumentate fino a un massimo di 20-25 mg/kg al giorno riducevano la frequenza delle crisi mantenendo un profilo di sicurezza adeguato. In questi casi, l'aggiunta di CBD ha portato alla riduzione delle dosi di terapie concomitanti (specialmente le benzodiazepine). Il CBD rimane quindi una possibile scelta terapeutica per i pazienti con sindrome Ring14, a dosi che altre fonti raccomandano ad un dosaggio molto più basso (<https://www.theroc.us/dosing>).

CONCLUSIONI

Lo sviluppo e l'applicazione di "best practice" e standard comuni è necessario per ogni malattia rara (www.rarebestpractices.eu) [53]. La definizione di queste raccomandazioni in favore di medici e caregiver verte principalmente sui meccanismi eziopatogenetici della sindrome r(14) e sul trattamento delle persone affette. Avendo la sindrome r(14) un'incidenza molto bassa, una buona parte delle raccomandazioni qui proposte sono basate non su evidenze scientifiche ma sul consenso raggiunto tra gli esperti partecipanti al lavoro. Sono necessarie ulteriori valutazioni per migliorare i

problemi clinici e sociali dei bambini affetti dalla sindrome r(14) e delle loro famiglie, nonché ulteriori sviluppi nel campo della ricerca da parte degli scienziati impegnati sulla sindrome Ring14.

Il punto di vista dei genitori

Prendersi cura di un bambino con una malattia molto rara e così complessa come la sindrome r(14) è un questione sempre complicata e che necessita di diversi aspetti da tenere in assoluta considerazione:

- La sindrome è rara e difficilmente riconoscibile dal pediatra/medico di famiglia.
- Ci sono molti sintomi che spesso si sovrappongono, alcuni dei quali non sono direttamente causati dalla malattia, rendendo ancora più difficile capire la loro vera origine o causa.
- A causa di disabilità cognitive e linguistiche, le persone affette da sindrome r(14) hanno difficoltà nell'esprimere il loro disagio e il dolore. I genitori devono osservare, interpretare e analizzare attentamente i loro bambini e il loro comportamento nel modo più obiettivo possibile per spiegare correttamente lo stato di salute ai medici con i quali è imperativo creare un rapporto di reciproca fiducia.
- La malattia ha un grande impatto sulla vita familiare, non solo sui genitori ma anche sui fratelli sani. Spesso un genitore è costretto a rinunciare al lavoro per prendersi cura del bambino malato, con conseguenze economiche e psicologiche significative. L'attenzione, il tempo e lo sforzo dedicati ai figli affetti viene sottratto ai loro fratelli, che molto spesso vivono questa situazione con disagio, anche se amano il fratello o la sorella colpiti e vivono con la paura di perderli.

Per prendersi cura delle persone colpite, i genitori devono acquisire conoscenze cliniche e una certa padronanza della terminologia medica. Tuttavia spesso devono anche seguire il loro istinto che consente ai genitori di interpretare aspetti della quotidianità che altre persone potrebbero non capire o vedere (ad es. prevedere una crisi epilettica). A partire dalla diagnosi, i genitori diventano spesso il principale punto di riferimento di questa malattia. Attraverso Ring14 International, i clinici hanno ora preziose risorse scientifiche e sanitarie da aggiungere al loro bagaglio esperienziale messo a disposizione delle famiglie Ring14, anche loro stesse direttamente preziosa fonte di conoscenza.

Ringraziamenti

Gli autori sono in debito con il Comitato consultivo scientifico di Ring14 International per gli input critici. Gli autori sono anche grati alle famiglie per la loro collaborazione.

Bibliografia

1. Azzali S, DeWoody Y, Rinaldi B, Crimi M. Ring14 International: development of a national-based patient association towards a "Global" network initiative to fight a chromosomal disorder. *J Genet Disor Genet Rep.* 2015;4:2.
2. Hasson F, Keeney S, McKenna H. Research guidelines for the Delphi survey technique. *J Adv Nurs.* 2000;32:1008-15.
3. Nishiwaki T, Hirano M, Kumazawa M, Ueno S. Mosaicism and phenotype in ring chromosome 20 syndrome. *Acta Neurol Scand.* 2005;111:205-8.
4. Rossi E, Riegel M, Messa J, Gimelli S, Maraschio P, Ciccone R, Stropi M, Riva P, Perrotta CS, Mattina T, Memo L, Baumer A, Kucinskis V, Castellan C, Schinzel A, Zuffardi O. Duplications in addition to terminal deletions are present in a proportion of ring chromosomes: clues to the mechanisms of formation. *J Med Genet.* 2008;45:147-54.

5. Pezzolo A, Gimelli G, Cohen A, Lavaggetto A, Romano C, Fogu G, Zuffardi O. Presence of telomeric and subtelomeric sequences at the fusion points of ring chromosomes indicates that the ring chromosome is caused by ring instability. *Hum Genet.* 1993;92:23-7.
6. Cote GB, Katsantoni A, Deligeorgis D. The cytogenetic and clinical implications of a ring chromosome 2. *Ann Genet.* 1981;24:231-5.
7. Kosztolányi G. Does "ring syndrome" exist? An analysis of 207 case reports on patients with a ring autosome. *Hum Genet.* 1987;75:174-9.
8. Hermesen MA, Tijssen M, Acero IH, Meijer GA, Ylstra B, Toral JF. High resolution microarray CGH and MLPA analysis for improved genotype/phenotype evaluation of two childhood genetic disorder cases: ring chromosome 19 and partial duplication 2q. *Eur J Med Genet.* 2005;48(3):310-8.
9. Zou YS, McGrann PS, Uphoff TS, Van Dyke DL. A case of mosaic supernumerary ring chromosome 15 with two copies of the segment 15p11.1-q14. *Am J Med Genet A.* 2006;1;140(15):1663-8.
10. Gilgenkrantz S, Cabrol C, Lausecker C, Hartleyb ME, Bohe B. The Dr syndrome. Study of a further case (46, XX, 14r). *Ann Genet.* 1971;14:23-31.
11. Knijnenburg J, van Haeringen A, Hansson KB, Lankester A, Smit MJ, Belfroid RD, Bakker E, Rosenberg C, Tanke HJ, Szuhai K. Ring chromosome formation as a novel escape mechanism in patients with inverted duplication and terminal deletion. *Eur J Hum Genet.* 2007;15:548-55.
12. Guilherme RS, Meloni VF, Kim CA, Pellegrino R, Takeno SS, Spinner NB, Conlin LK, Christofolini DM, Kulikowski LD, Melaragno MI. Mechanisms of ring chromosome formation, ring instability and clinical consequences. *BMC Med Genet.* 2011;12:171.
13. Fryns JP, Kubien E, Kleczkowska A, Nawrocka-Kanska B, Van den Berghe H. Ring chromosome 14. A distinct clinical entity. *J Genet Hum.* 1983;31 Suppl 5:367-75.
14. King DA, Jones WD, Crow YJ, Dominiczak AF, Foster NA, Gaunt TR, Harris J, Hellens SW, Homfray T, Innes J, Jones EA, Joss S, Kulkarni A, Mansour S, Morris AD, Parker MJ, Porteous DJ, Shihab HA, Smith BH, Tatton-Brown K, Tolmie JL, Trzaskowski M, Vasudevan PC, Wakeling E, Wright M, Plomin R, Timpson NJ, Hurles ME. Deciphering Developmental Disorders Study. *Hum Mol Genet.* 2015;15:2733-45.
15. Zelante L, Torricelli F, Calvano S, Mingarelli R, Dallapiccola B. Ring chromosome 14 syndrome. Report of two cases, including extended evaluation of a previously reported patient and review. *Ann Genet.* 1991;34:93-7.
16. Incecik F, Hergüner MO, Mert G, Erdem S, Altunbaşak S. Ring chromosome 14 syndrome presenting with intractable epilepsy: a case report. *Turk J Pediatr.* 2013;55:549-51.
17. Kosztolányi G, Méhes K, Hook EB. Inherited ring chromosomes: an analysis of published cases. *Hum Genet.* 1991;87:320-4.
18. Nucaro AL, Falchi M, Pisano T, Rossino R, Boscarelli F, Stoico G, Milia A, Montaldo C, Cianchetti C, Pruna D. Ring chromosome 14 mosaicism: an unusual case associated with developmental delay and epilepsy, characterized by genome array-CGH. *Am J Med Genet A.* 2010;152A:234-6.
19. Zollino M, Orteschi D, Neri G. Phenotypic map in ring 14 syndrome. *Am J of Med Genet A.* 2010;152A:237.
20. Kamnasaran D, Cox DW. Current status of human chromosome 14. *J Med Genet.* 2002;39:81-90.

21. Alosi D, Klitten, LL, Bak M, Hjalgrim H, Møller RS, Tommerup N. Dysregulation of FOXP1 by ring chromosome 14. *Mol cytogenet* 2015;8:24.
22. Guilherme RS, Moysés-Oliveira M, Dantas AG, Meloni VA, Colovati ME, Kulikowski LD, Melaragno MI. Position effect modifying gene expression in a patient with ring chromosome 14. *Journal of applied genetics*. 2016;57:183-187.
23. Zollino M, Seminara L, Orteschi D, Gobbi G, Giovannini S, Della Giustina E, Frattini D, Scarano A, Neri G. The ring 14 syndrome: clinical and molecular definition. *American Journal of Medical Genetics Part A*. 2009;149:1116-1124.
24. Zampini L, D'Odorico L, Zanchi P, Zollino M, Neri G. Linguistic and psychomotor development in children with chromosome 14 deletions. *Clin Linguist Phon*. 2012;26:962-73.
25. Zampini, Zanchi P, D'Odorico L. Developing with ring 14 syndrome: a survey in different countries. *Clin Linguist Phon*. 2014;28:844-56.
26. Tajeran M, Baghbani F, Hassanzadeh-Nazarabadi M. A Case of Autism with Ring Chromosome 14. *Iranian J Public Health*. 2013;42:1316-20.
27. D'Odorico L, Giovannini S, Majorano M, Martinelli P, Zampini L. Linguistic skills in Italian children with chromosome 14 aberrations. *Psichiatria dell'Infanzia e dell'Adolescenza*. 2011;78:449-456
28. Specchio N. Epilepsy in ring 14 chromosome syndrome. *Epilepsy Behav*. 2012;25:585-92.
29. Lippe BM, Sparkes RS. Ring 14 chromosome: association with seizures. *Am J Med Genet*. 1981;9:301-5.
30. Giovannini S, Marangio L, Fusco C, Scarano A, Frattini D, Della Giustina E, Zollino M, Neri G, Gobbi G. Epilepsy in ring 14 syndrome: a clinical and EEG study of 22 patients. *Epilepsia*. 2013;54:2204-13.
31. Shirasaka Y, Ito M, Okuno T, Fujii T, Nozaki K, Mikawa H. Ring 14 chromosome with complex partial seizures: a case report. *Brain Dev*. 1992;14:257-60.
32. Singh R, Gardner RJ, Crossland KM, Scheffer IE, Berkovic SF. Chromosomal abnormalities and epilepsy: a review for clinicians and gene hunters. *Epilepsia*. 2002;43:127-40.
33. Imataka G, Noguchi M, Tsukada K, Takahashi T, Yamanouchi H, Arisaka O. Partial epilepsy and developmental delay in infant with ring chromosome 14. *Genet Couns*. 2013;24:81-3.
34. Zollino M, Ponzi E, Gobbi G, Neri G. The ring 14 syndrome. *Eur J Med Genet*. 2012;55(5):374-80.
35. van Karnebeek CD, Quik S, Sluijter S, Hulsbeek MM, Hoovers JM, Hennekam RC. Further delineation of the chromosome 14q terminal deletion syndrome. *Am J Med Genet*. 2002;110:65-72.
36. Howard. Retinal/macular pigmentation in conjunction with ring 14 chromosome. *Hum Genet*. 1988;80:140-2.
37. Salter CG, Baralle D, Collinson MN, Self JE. Expanding the ocular phenotype of 14q terminal deletions: A novel presentation of microphthalmia and coloboma in ring 14 syndrome with associated 14q32.31 deletion and review of the literature. *Am J Med Genet American Journal of Medical Genetics Part A*. 2016;170:1017-22.
38. Schmidt R, Eviatar L, Nitowsky HM, Wong M, Miranda S. Ring chromosome 14: a distinct clinical entity. *J Med Genet*. 1981;18:304-320
39. Krawczun M, Melink G, Cervenka J. Ring chromosome 14 and immunoglobulin locus. *Am J Med Genet*. 1984;17:465-9.

40. Iselius L, Ritzen M, Bui T-H, Olsson K, Eklof O. Ring chromosome 14 in a mentally retarded girl. *Acta Paediatr.* 1980;69:803-806.
41. Ono J, Nishiike K, Imai K, Otani K, Okada S. Ring chromosome 14 complicated with complex partial seizures and hypoplastic corpus collosum. *Pediatr Neurol.* 1999;20:70-2.
42. Leone MA, Brainin M, Boon P, Pugliatti M, Keindl M, Bassetti CL; European Federation of Neurological Societies. Guidance for the preparation of neurological management guidelines by EFNS scientific task forces - revised recommendations 2012. *Eur J Neurol.* 2013;20:410-9.
43. Redin C, Gérard B, Lauer J, Herenger Y, Muller J, Quartier A, Masurel-Paulet A, Willems M, Lesca G, El-Chehadeh S, Le Gras S, Vicaire S, Philipps M, Dumas M, Geoffroy V, Feger C, Haumesser N, Alembik Y, Barth M, Bonneau D, Colin E, Dollfus H, Doray B, Delrue MA, Drouin-Garraud V, Flori E, Fradin M, Francannet C, Goldenberg A, Lumbroso S, Mathieu-Dramard M, Martin-Coignard D, Lacombe D, Morin G, Polge A, Sukno S, Thauvin-Robinet C, Thevenon J, Doco-Fenzy M, Genevieve D, Sarda P, Edery P, Isidor B, Jost B, Olivier-Faivre L, Mandel JL, Piton A. Efficient strategy for the molecular diagnosis of intellectual disability using targeted high-throughput sequencing. *J Med Genet* 2014;51(11):724-36.
44. Miller DT, Adam MP, Aradhya S, Biesecker LG, Brothman AR, Carter NP, Church DM, Crolla JA, Eichler EE, Epstein CJ, Faucett WA, Feuk L, Friedman JM, Hamosh A, Jackson L, Kaminsky EB, Kok K, Krantz ID, Kuhn RM, Lee C, Ostell JM, Rosenberg C, Scherer SW, Spinner NB, Stavropoulos DJ, Tepperberg JH, Thorland EC, Vermeesch JR, Waggoner DJ, Watson MS, Martin CL, Ledbetter DH. Consensus statement: chromosomal microarray is a first-tier clinical diagnostic test for individuals with developmental disabilities or congenital anomalies. *Am J Hum Genet.* 2010;14;86:749-64.
45. Ville D, DE Bellescize J, Nguyen MA, Testard H, Gautier A, Perrier J, Till M, DES Portes V. Ring 14 chromosome presenting as early-onset isolated partial epilepsy. *Dev Med Child Neurol.* 2009;51:917-922.
46. Giovannini S, Frattini D, Scarano A, Fusco C, Bertani G, Della Giustina E, Martinelli P, Orteschi D, Zollino M, Neri G, Gobbi G. Partial epilepsy complicated by convulsive and nonconvulsive episodes of status epilepticus in a patient with ring chromosome 14 syndrome. *Epileptic Disord.* 2010;12:222-7.
47. Sharma AK, Rani E, Waheed A, Rajput SK. Pharmacoresistant Epilepsy: A Current Update on Non-Conventional Pharmacological and Non-Pharmacological Interventions. *J Epilepsy Res.* 2015;5:1-8.
48. Chapel H, Prevot J, Gaspar HB, Español T, Bonilla FA, Solis L, Drabwell J; Editorial Board for Working Party on Principles of Care at IPOPI. Primary immune deficiencies - principles of care. *Front Immunol.* 2014;5:627.
49. Wilkinson MD, Dumontier M, Aalbersberg IJ, Appleton G, Axton M, Baak A, Blomberg N, Boiten JW, da Silva Santos LB, Bourne PE, Bouwman J, Brookes AJ, Clark T, Crosas M, Dillo I, Dumon O, Edmunds S, Evelo CT, Finkers R, Gonzalez-Beltran A, Gray AJ, Groth P, Goble C, Grethe JS, Heringa J, 't Hoen PA, Hooft R, Kuhn T, Kok R, Kok J, Lusher SJ, Martone ME, Mons A, Packer AL, Persson B, Rocca-Serra P, Roos M, van Schaik R, Sansone SA, Schultes E, Sengstag T, Slater T, Strawn G, Swertz MA, Thompson M, van der Lei J, van Mulligen E, Velterop J, Waagmeester A, Wittenburg P, Wolstencroft K, Zhao J, Mons B. The FAIR Guiding Principles for scientific data management and stewardship. *Sci Data.* 2016;3:160018.

50. Baldo C, Viotti V, Maioli E, Mogni M, Castagnetta M, Cavani S, Piombo G, Coviello D. Galliera Genetic Bank: A DNA and Cell Line Biobank from Patients Affected by Genetic Diseases. *Open Journal of Bioresources*. 2016;3:p.e1.
51. Baldo C, Casareto L, Renieri A, Merla G, Garavaglia B, Goldwurm S, Pegoraro E, Moggio M, Mora M, Politano L, Sangiorgi L, Mazzotti R, Viotti V, Meloni I, Pellico MT, Barzaghi C, Wang CM, Monaco L, Filocamo M. The alliance between genetic biobanks and patient organisations: the experience of the telethon network of genetic biobanks. *Orphanet J Rare Dis*. 2016;11(1):142.
52. Devinsky O, Marsh E, Friedman D, Thiele E, Laux L, Sullivan J, Miller I, Flamini R, Wilfong A, Filloux F, Wong M, Tilton N, Bruno P, Bluvstein J, Hedlund J, Kamens R, Maclean J, Nangia S, Singhal NS, Wilson CA, Patel A, Cilio MR. Cannabidiol in patients with treatment-resistant epilepsy: an open-label interventional trial. *Lancet Neurol*. 2016;15:270-278.
53. Taruscio D, Morciano C, Laricchiuta P, Mincarone P, RAREBestpractices Consortium. RARE-Bestpractices: a platform for sharing best practices for the management of rare diseases. *Rare Dis Orphan Drugs*. 2014;1:5-10.