REGIONE CAMPANIA - Giunta Regionale - Seduta del 18 novembre 2005 - Deliberazione N. 1592 - Area Generale di Coordinamento N. 20 - Assistenza Sanitaria - **Centro riferimento regionale c/o clinica odontoiatrica i dell'A.O.U.-S.U.N. Approvazione progetto " Geni coinvolti nella labiopalatoschisi non sindromica". Allegato**.

PREMESSO che la Legge Regionale n. 10 dell'11.07.2002 "Piano Sanitario Regionale" ha previsto interventi per contrastare e prevenire alcune patologie che possono avere una incidenza rilevante per la spesa sanitaria e che al punto 4.2.6 il richiamato Piano promuove iniziative per la prevenzione della carie dentale e delle malattie paradontali al fine di tutelare, con appropriati interventi, la salute in ambito odonto-stomatologico;

RITENUTO che tali interventi, nel rispetto dei livelli essenziali di assistenza, debbano consistere in trattamenti di elevata specializzazione per la prevenzione, la diagnosi e la terapia di patologie odontoiatriche e stomatologiche di notevole complessità, di origine sia primitiva sia secondaria;

CONSIDERATO che, in particolare, le schisi labiopalatine non sindromiche rappresentano una anomalia congenita di frequente riscontro aventi notevole impatto socio-sanitario;

VISTA la D.G.R.. n. 2551 del 22 agosto 2003 con la quale è stato istituito presso la Seconda Università degli Studi di Napoli il "Centro di Riferimento Regionale per pazienti affetti da cheilognatopalatoschisi e malformazioni oro - maxillo - facciale";

ATTESO che il suddetto Centro di riferimento regionale studia, da altre dodici anni, le schisi labiopalatine non sindromiche, studio che ha apportato significativi contributi alla comprensione della genesi della malattia e che ha tra i propri obiettivi prossimi la identificazione di nuove cause genetiche ed ambientali e la messa a punto di specifici test atti a migliorare la consulenza genetica;

TENUTO CONTO della rilevante attività svolta dalla Clinica Odontoiatrica I dell'A.O.U. della S.U.N. in cui ha sede il già menzionato Centro presso il quale è stato trattato circa l'81% dei nati malformati nel viso, ivi comprese le gravi disgnazie, cioè le deviazioni gravi dello sviluppo facciale (dato rilevato dall'Osservatorio Campano per le Malformazioni);

VISTO il progetto presentato dal suddetto Centro di Riferimento Regionale dal titolo "Geni coinvolti nella labiopalatoschisi non sindromica" che verrà svolto in collaborazione con la Clinica Odontoiatrica dell'Università di Nantes ed il Dipartimento di Morfologia dell'Università di Ferrara; progetto che prevede tra gli obiettivi specifici da perseguire la migliore comprensione della patogenesi della malattia, utile ad una più tempestiva diagnosi il cui costo di realizzazione ammonta, per il primo anno di attività, ad euro150.000,00 (centocinquantamila);

RITENUTO

- di poter approvare il suddetto progetto che, allegato alla presente deliberazione ne forma parte integrante e sostanziale, in quanto rispondente agli obiettivi del surrichiamato P.S.R. e rientrante nelle attività del Centro di Riferimento Regionale per pazienti affetti da cheilognatopalatoschisi e malformazioni oro - maxillo - facciale istituito con D.G.R. 2551 del 22.8.2003;

- altresì di dover impegnare con successivo D.D. la somma di euro150.000,00 (centocinquantamila) da imputare sul Cap. 7092 dell'U.P.B. 4.15.38 del Bilancio Regionale di previsione 2005 che presenta la necessaria disponibilità;

VISTA la L.R. n. 18 dell'11.8.2005 "Bilancio di previsione della Regione Campania per l'anno finanziario 2005"

VISTA la D.G.R. n.1147 del 7.9.2005 "Approvazione bilancio gestionale 2005"

Propone e la Giunta, in conformità, a voto unanime

DELIBERA

Per quanto espresso in premessa e che qui s'intende integralmente riportato:

- di approvare l'allegato Progetto denominato "Geni coinvolti nella labiopalatoschisi non sindromica" elaborato dal Centro di Riferimento Regionale per pazienti affetti da cheilognatopalatoschisi e malformazioni oro - maxillo - facciali con sede presso la Clinica Odontoiatrica I dell'A.O.U. della Seconda Università degli Studi di Napoli e la relativa richiesta di finanziamento;

- di assegnare al suddetto Centro il finanziamento di euro150.000,00 (centocinquantamila) per la realizzazione del suindicato Progetto;

- di prelevare l'importo di euro150.000,00 (centocinquantamila) dal Cap. 7092 dell'U.P.B. 4.15.38 del Bilancio Regionale di previsione 2005 che presenta la necessaria disponibilità;

- di provvedere all'impegno ed all'erogazione del finanziamento al "Centro di Riferimento Regionale per pazienti affetti da cheilognatopalatoschisi e malformazioni oro - maxillo - facciali" con sede presso la Clinica Odontoiatrica I dell'A.O.U. della Seconda Università degli Studi di Napoli con successivo decreto dirigenziale;

- di inviare copia del presente atto all'AGC Assistenza Sanitaria - Settore Assistenza Ospedaliera e Sovrintendenza sui Servizi Regionali di Emergenza per il seguito di competenza ed al Settore Stampa, Documentazione e Informazione per la pubblicazione sul Bollettino Ufficiale della Regione Campania.

Il Segretario
*Brancati*

Il Presidente
*Bassolino*

# Seconda Università degli Studi Napoli

Al Chiar.mo On. Montemarano
Assessore alla Sanità
della Regione Campania

Oggetto: Centro di Riferimento Regionale per i pazienti affetti da Cheilognatopalatoschisi e Malformazioni Oro-Maxillo-Facciali

Indice


- Premesse pg. 2
- **Attività Scientifica del Centro** pg. 3
- Progetto di Ricerca pg. 5
- **Attività Clinico-Assistenziale del Centro** pg.17
- Modalità di svolgimento pg. 18
- Ubicazione attuale del Centro pg. 21
- Dotazione attuale organico pg. 22
- **Richieste** pg. 23

**Premesse**

Dal 1980 è attivo presso l'ex Istituto di Clinica Odontoiatrica e Stomatologica, il Gruppo di Studio "Casa delle Cheilognatopalatoschisi e delle malformazioni oro-maxillo-facciali" che vanta una casistica operatoria superiore ai 1500 interventi chirurgici relativi a 680 pazienti affetti da cheilognatopalatoschisi ed a 220 pazienti affetti da gravi disturbi dell'accrescimento del terzo medio e del terzo inferiore della faccia.

Il 14-05-2003 la Facoltà di Medicina e Chirurgia del Secondo Ateneo Napoletano ha approvato la istituzione di un Centro Regionale di Riferimento per la Terapia Chirurgico-Funzionale del paziente affetto da Cheilognatopalatoschisi con sede presso il Dipartimento di Scienze Odontostomatologiche, Ortognatodontiche e Chirurgiche.

Il 22-08-2003 la Giunta Regionale con deliberazione n° 2551 ha istituito presso la Facoltà di Medicina e Chirurgia della Seconda Università degli Studi di Napoli il **Centro di Riferimento Regionale per i pazienti affetti da Cheilognatopalatoschisi e Malformazioni Oro-Maxillo-Facciali** afferente al Dipartimento Assistenziale per la Prevenzione Diagnosi e Cura delle Patologie dell'Apparato Stomatognatico della Seconda Università di Napoli.

Sede: Via Luigi De Crecchio (ex via S. Andrea delle Dame) n°6, 80100 Napoli. Tel.0815665476.
E-mail:
fernando.gombos@unina2.it
rosario.rullo@unina2.it

## ATTIVITA' SCIENTIFICA DEL CENTRO

Sin dal principio della sua attività il Centro ha profuso notevoli energie per quel che concerne la ricerca scientifica. La suddetta attività è andata sempre più evolvendosi portando, anche grazie a collaborazioni interdisciplinari, a risultati considerevoli.
I principali campi di ricerca sono stati indirizzati verso i seguenti aspetti delle malformazioni: l' epidemiologia, la genetica, la patogenesi e l'evoluzione delle tecniche chirurgiche. Gli studi epidemiologici hanno quale fine l'inquadramento della reale portata delle malformazioni trattate rispetto alla popolazione di riferimento.
I risultati non hanno soltanto rilevanza statistica ma sono molto spesso utili anche a fini genetici nel riscontro tra diverse popolazioni studiate. La patogenesi, ed in particolare il coinvolgimento di specifici geni nell'insorgenza delle malformazioni, è il campo che assorbe le maggiori energie. Sono in corso numerosi progetti in questa direzione, condotti in collaborazione con la Università di Ferrara. Inoltre, è sempre rivolta un'elevata attenzione allo sviluppo delle tecniche chirurgiche. A tale proposito si sottolinea la collaborazione con il prof. J. Mercier Direttore dell'Istituto di Stomatologia e Chirurgia Maxillo-Facciale del Centro Ospedaliero Universitario di Nantes (già diretto dal Prof. J Delaire) e la partecipazione al progetto internazionale **EUROCLEFT**- Standard of care for cleft lip and palate in Europe.

Riportiamo, di seguito, alcune pubblicazioni frutto della ricerca sviluppata nei campi sopraindicati.

- Carinci F, Gombos F. et al. " Recent developements in orofacial cleft genetics." J Craniofac Surg 2003 Mar; 14(2): 130-43.
- Carinci F, Gombos F, Rullo R et al. "drugs, environmental factors, loci and genes involved in nonsyndromic orofacial cleft" Current Pharmacogenomics 2004, Vol 2, n°2.
- Carinci F., Gombos F. et al. " Linkage analysis of candidate endothelin pathway genes in nonsyndromic familial orofacial cleft". Ann Hum Genet 2000 Jul; 64(pt 4): 341-7.
- Carinci F. Gombos F. et al. "C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers?". Am J Med Genet 2001 Feb 1; 98(4): 357-60.

- Gombos F. et al "Orofacial cleft in Southern Italy". Minerva Stomatologica 2003; 52: 427-33.
- Rullo R. Et al. "Analisi epidemiologica dei pazienti portatori di schisi orali trattati presso l'Istituto di Clinica Odontoiatrica della Seconda Università degli Studi di Napoli dal 1980 al 1999". Arch. Stomat. Vol. XLII. 2001; 5-10.
- Rullo R. et al. "Incidenza delle cheilognatopalatoschisi nella regione Campania e valutazione dell'attività svolta presso l'Istituto di Clinica Odontoiatrica della seconda Università degli Studi di Napoli dal 1991 al 1999". Arch. Stomat. Vol. XLII 2001; 43-49.
- Rullo R. et al. "Valutazione anatomica e funzionale a dieci anni di distanza della tecnica chirurgica di palatoplastica effettuata nella Seconda Università degli Studi di Napoli". Arch. Stomatol. Vol. XLII 2001; 69-77.
- Minervini G. et al. "Riabilitazione impianto-protesica successiva ad innesto osseo in cheilognatopalatoschisi". Arch. Stomat. Vol. XLII 2002; 43-46.

Al fine di incentivare sempre più l'attività scientifica del Centro sarebbero necessari contributi consolidabili da parte della Regione Campania, del Ministero della Salute nonché da parte della seconda Università di Napoli.
I finanziamenti di cui trattasi, sarebbero necessari per fornire l'adeguato supporto di ricercatori esperti nel campo delle malformazioni oro-maxillo-facciali nonché l'acquisto di materiali ed apparecchiature utili alla ricerca.

# SCHEDA DI PRESENTAZIONE DELLA PROPOSTA DI RICERCA

**TITOLO DEL PROGETTO DI RICERCA**

"GENI COINVOLTI NELLA LABIOPALATOSCHISI NON SINDROMICA"

**SOMMARIO DEL PROGETTO**

Le schisi labiopalatine non sindromiche (OFC) sono una frequente anomalia congenita con un notevole impatto medico, psicologico e sociale. Negli ultimi 10 anni sono stati compiuti molti progressi nel campo della genetica delle schisi. Infatti, ricerche condotte in diversi laboratori in tutto il mondo hanno permesso di identificare alcune tra le regioni cromosomiche e possibili geni correlati alla malattia, nonché geni responsabili di alcune sindromi che presentano schisi labiopalatine come caratteristica fenotipica ricorrente. Il nostro gruppo di ricerca studia l'OFC da oltre 12 anni ed ha apportato significativi contributi alla comprensione della genesi della malattia (vd. bibliografia). Lo scopo del presente progetto è l'identificazione dei geni e delle mutazioni coinvolte nell'insorgenza della labiopalatoschisi non sindromica, utili all'identificazione di nuove cause genetiche e ambientali e alla messa a punto di specifici test atti a migliorare la consulenza genetica.

Lo scopo iniziale di questo progetto è quello di investigare tre geni coinvolti nella rimetilazione dell'omocisteina in maniera dipendente dalla vitamina B12: la transcobalamina (TC), la metionina sintasi (MTR) e la metionina sintasi reduttasi (MTRR). E' infatti appurato che carenze materne di acido folico o difficoltà di assimilazione dello stesso a causa di un difetto genetico a carico del gene MTHFR determinano un aumento del rischio di sviluppare schisi a carico dell'embrione. Vorremmo quindi indagare se polimorfismi presenti in altri componenti della catena del folato, quali i tre geni sopra citati, possano avere un ruolo chiave nell'alterare il meccanismo che conduce ad una corretta utilizzazione dell'acido folico da parte dell'embrione in via di sviluppo.

**DURATA DEL PROGETTO DI RICERCA**

DUE ANNI

**DISCIPLINE INTERESSATE DAL PROGETTO DI RICERCA**

- Chirurgia maxillo-facciale
- Genetica
- Biologia molecolare
- Odontostomatologia

**PAROLE CHIAVE**

Labiopalatoschisi – acido folico - MTHFR – recettori del folato - transcobalamina – metionina sintasi – metionina sintasi reduttasi – linkage disequilibrium – PCR – sequenziamento automatico.

**ENTI PARTECIPANTI E RICERCATORI**

Clinica Odontoiatrica della S.U.N.: Il reparto fornirà i campioni addizionali di sangue per implementare il campione di studio del progetto di ricerca e si occuperà della correlazione tra i dati clinici e quelli sperimentali.

Clinica Odontoiatrica dell'Universita' di Nantes: Il reparto fornirà i campioni addizionali di sangue per implementare il campione di studio del progetto di ricerca e si occuperà della correlazione tra i dati clinici e quelli sperimentali.

Dipartimento di DMCCC e di Morfologia dell'Universita' di Ferrara: In queste sedi verranno effettuate le analisi genetiche e statistiche.

**OBIETTIVI DEL PROGETTO DI RICERCA**

Evidenziare se mutazioni a carico dei geni: transcobalamina, metionina sintasi, metionina sintasi reduttasi possano determinare un'alterata attività degli stessi, riconducibile ad un aumentato rischio di sviluppare il fenotipo schisato.

**PRESUPPOSTI SCIENTIFICI E RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI**

La schisi del labbro e/o del palato familiare non sindromica (OFC) è una delle malformazioni più comuni, con un'incidenza di 1/700-1000 nei nati vivi. Il nostro gruppo di ricerca studia l'OFC da oltre 12 anni ed ha apportato significativi contributi alla comprensione della genesi della malattia (vedi bibliografia).

Già diversi autori hanno dimostrato una forte componente genetica per la sua insorgenza, tentando la localizzazione dei geni coinvolti (Carinci 2000). Poiché l'OFC è

associata ad aberrazioni cromosomiche che interessano la regione 6p23, questa regione è una delle più studiate. Nei nostri studi di linkage, abbiamo osservato eterogeneità genetica e linkage nel 60% delle nostre famiglie con il marker D6S259, che mappa in 6p23 (Carinci 1995; Scapoli 1997).

I nostri studi hanno inoltre confermato l'eterogeneità genetica per l'OFC impiegando marcatori che mappano in 2p13, la regione che contiene il gene transforming growth factor alpha (TGFA) ed evidenziato linkage nel gruppo di famiglie che era in linkage anche con 6p23 (Pezzetti 1998). Stein e colleghi (1995), analizzando il possibile ruolo di 23 geni candidati hanno trovato linkage con il proto-oncogene BCL3, che mappa in 19q13.2. In seguito, Wyszynski (1997) e il nostro gruppo (Martinelli 1998), studiando campioni indipendenti, hanno investigato il locus BCL3, rinvenendo entrambi linkage disequilibrium. Tuttavia non è stato evidenziato né linkage né eterogeneità genetica con il metodo del LOD score.

Ancora il nostro gruppo ha raccolto dati che supportano il coinvolgimento del gene GABRB3 che codifica per la subunità beta 3 del recettore dell'acido gammaaminobutirrico (Scapoli 2002).

Suzuky ed il suo gruppo (2000) hanno clonato il gene responsabile della sindrome autosomica recessiva che comprende schisi oro-facciale e displasia ectodermica (CLPED). Il gene, denominato PVRL1, codifica la nectina 1, una proteina transmembrana coinvolta nell'adesione cellulare. I ricercatori hanno scoperto che una frequente mutazione nella popolazione dell'isola Margherita, la W185X, che, inserendo uno stop codon, genera una proteina tronca, è significativamente associata a forme non sindromiche di schisi (Sozen 2001). Il nostro gruppo di ricerca ha potuto evidenziare che la mutazione W185X all'esone 3 del gene PVRL1 non è comune e non costituisce un fattore di rischio nella nostra popolazione (Scapoli 2004).

E' stato empiricamente osservato che l'assunzione integrativa di acido folico durante il periodo periconcezionale aiuta a diminuire il rischio di incidenza di difetti di chiusura del tubo neurale e di OFC. Il gene che codifica per la metilenetetraidrofolato reduttasi (MTHFR), una proteina enzimatica chiave nel metabolismo del folato, presenta due principali polimorfismi funzionali, denominati C677T e A1298C che codificano per prodotti proteici a ridotta attività enzimatica, responsabili (specialmente il primo) di aumentati livelli di omocisteina nel plasma e ridotte quantità di folato nel plasma. Studi pregressi avevano ricercato un'associazione tra il genotipo del paziente OFC e la presenza della malformazione (Tolarova 1998; Mills 1999). Nel nostro studio abbiamo

invece evidenziato che vi è una specifica relazione tra il genotipo materno e l'insorgenza di labiopalatoschisi nei figli dimostrando che le madri portatrici dell'allele C677T palesano un aumento del rischio pari a 2.455 volte di generare prole affetta (Martinelli 2001; Pezzetti 2004).

Proteine appartenenti alla famiglia dei recettori del folato (FOLR1 e FOLR2) presentano un'elevata affinità per l'acido folico ed i suoi derivati, favorendone l'internalizzazione e l'accumulo all'interno delle cellule materne, per consentirne successivamente il trasferimento al feto. Dato il ruolo chiave giocato da questi recettori abbiamo investigato il nostro campione di studio alla ricerca di possibili mutazioni responsabili di un'eventuale alterazione del meccanismo di assimilazione del folato da parte del feto. I risultati da noi ottenuti ci hanno indotti ad escludere il coinvolgimento di FOLR1 e FOLR2 nell'insorgenza della schisi nella popolazione da noi analizzata (Scapoli in stampa).

**DESCRIZIONE DEL PROGETTO DI RICERCA**

E' appurato che carenze materne di acido folico o difficoltà di assimilazione dello stesso a causa di un difetto genetico di uno dei geni della catena dell'acido folico determina un aumento del rischio di sviluppare schisi a carico dell'embrione (Czeizel 2000; Itikala 2001). Sulla base delle evidenze recentemente ottenute dal nostro gruppo di ricerca riguardanti il coinvolgimento del metilentatraidrofolato reduttasi (MTHFR) nell'insorgenza della schisi (Martinelli 2001; Pezzetti 2004) e tuttavia valide per una frazione dei casi da noi precedentemente analizzato, ci proponiamo di investigare altri tre geni coinvolti nella via metabolica del folato: la transcobalamina (TC), la metionina sintasi (MTR) e la metionina sintasi reduttasi (MTRR). Infatti, mutazioni a carico di altri componenti della catena del folato potrebbero avere un ruolo chiave nell'alterare il meccanismo che conduce ad una corretta utilizzazione dell'acido folico da parte dell'embrione in via di sviluppo. Lo studio dei recettori dell'acido folico FOLR1 e FOLR2, responsabili dell'internalizzazione e accumulo dell'acido folico all'interno delle cellule, per una successiva utilizzazione ci ha portati ad escluderne il coinvolgimento nell'insorgenza della schisi nella popolazione da noi analizzata (Scapoli in stampa).

Obiettivo della nostra futura ricerca è quindi quello di evidenziare se polimorfismi a carico di TC, MTR o MTRR, possano essere associati ad un'alterata attività degli stessi ed influenzare il rischio di insorgenza di OFC. La TC è una proteina plasmatica che

trasporta la vitamina B12 alle cellule e ne determina di conseguenza la disponibilità. La metionina sintasi è responsabile, assieme all'MTHFR, della rimetilazione a metionina del 50% dell'omocisteina formata. Si trova in quasi tutti i tessuti ed utilizza la vitamina B12 come cofattore ed il 5-metiltetraidrofolato come donatore del gruppo metile. La metionina sintasi reduttasi catalizza la metilazione riduttiva della cobalamina a metilcobalamina ristabilendo quindi l'attività della MTR.

Attualmente, il campione di studio che intendiamo impiegare in questo progetto è costituito da 110 triadi formate dal probando e dai suoi genitori. I probandi affetti da OFC sono stati selezionati dal registro della Clinica Odontoiatrica della S.U.N. e contattati assieme ai loro genitori per ottenere aliquote di sangue periferico da cui estrarre il DNA utile alle nostre analisi. I campioni di controllo provengono invece dalla Banca del Sangue. Intendiamo procedere innanzitutto raccogliendo nuovi campioni di sangue, provenienti da individui affetti da OFC e dai loro genitori della Clinica Odontoiatrica della S.U.N.. Successivamente estrarremo il DNA dal sangue conservato in presenza di EDTA, un anticoagulante, seguendo un protocollo standard (Higuchi 1989). Selezioneremo specifici siti genetici per ciascuno dei geni in esame, a carico dei quali è già stato osservata la presenza di un polimorfismo nella popolazione, allo scopo di valutare se alle varianti geniche possa essere imputabile la responsabilità dell'insorgenza della schisi nel portatore. Una volta ottenuto il DNA, lo sottoporremo a reazione di PCR (reazione a catena della polimerasi) utilizzando oligonucleotidi specifici che fiancheggino la regione interessata dal polimorfismo in esame. Nel caso in cui il polimorfismo sia anche sequenza riconosciuta da un enzima di restrizione procederemo con la digestione enzimatica dell'amplificato e successiva corsa elettroforetica dei frammenti così ottenuti, visualizzati mediante colorazione con bromuro di etidio. Nel caso in cui non vi sia riconoscimento del sito di taglio da parte di nessun enzima in commercio, procederemo disegnando un oligonucleotide particolare che inserisca una mutazione nell'amplificato durante la PCR e che permetta di creare un sito di taglio nel mutato o nel normale, a seconda dei casi e seguiremo poi le indicazioni già fornite per lo studio degli altri polimorfismi. I dati ottenuti dalle migrazioni elettroforetiche, inseriti al computer e analizzati mediante specifici programmi statistici per lo studio del linkage disequilibrium (TDT) seguendo il metodo indicato da Spielman (1993) ci forniranno un'indicazione del fatto se la mutazione possa essere significativamente associata alla presenza della patologia in oggetto e quindi responsabile della stessa.

## SINTESI DEI RISULTATI ATTESI

Investigando i tre geni coinvolti nella catena del folato, transcobalamina, metionina sintasi e metionina sintasi reduttasi (TC, MTR e MTRR), ci aspettiamo di capire se vi sia un'associazione tra la variante mutata dei polimorfismi indagati e la presenza di schisi nel campione in esame. In caso affermativo, le informazioni ottenute potranno essere impiegate per valutare il rischio associato ad ogni variante mutata ed impiegare le conoscenze raggiunte a scopo prognostico. E' anche possibile che non tutti i polimorfismi indagati siano coinvolti nell'insorgenza della schisi, in tal caso si valuterà di volta in volta se testare lo stesso campione per un diverso polimorfismo nello stesso gene.

## ATTIVITA' CLINICO-ASSISTENZIALE DEL CENTRO

Le malformazioni della faccia hanno nel passato comportato una rilevante spesa sanitaria che si è espressa sovente nei "viaggi della speranza" nelle altre regioni italiane (Lazio-Veneto) e nelle sedi estere (Zurigo).

Il Centro ha la funzione di evitare inutili sprechi di danaro garantendo assistenza di elevata specializzazione ai fini della prevenzione, diagnosi e terapia delle malformazioni congenite della faccia e delle gravi deviazioni di sviluppo delle mascelle.

Il Centro di fatto salvaguarda le fasce deboli della utenza campana, come è facilmente verificabile nello specifico dell'attività svolta sinora dal Servizio di Clinica odontoiatrica I della Seconda Università di Napoli.

L'attività chirurgica del centro, intesa come attività storicamente svolta presso la Clinica Odontoiatrica I dell'antico Policlinico Universitario di Napoli, ha coinvolto una percentuale di nati nella regione Campania con cheilognatopalatoschisi che oscilla annualmente dal 72% all' 81% dei nati malformati nel viso riportati dall'Osservatorio Campano per le malformazioni.

Il Centro ha coinvolto anche e con alta incidenza (non quantificabile in percentuale nati poiché non riportata in alcun dato di osservatorio) i pazienti affetti da gravi disgnazie ossia deviazioni gravi dello sviluppo facciale.

| Anno | Nascite (ISTAT) | Labioschisi attese | Palatoschisi attese | Labioschisi S.U.N. | Palatoschisi S.U.N. | Percentuale S.U.N. |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1991 | 90275 | 49,6 | 31,5 | 14 | 12 | 32 % |
| 1992 | 81916 | 45,5 | 28,6 | 7 | 17 | 32 % |
| 1993 | 77100 | 42,4 | 26,9 | 8 | 13 | 30 % |
| 1994 | 75156 | 41,8 | 26,3 | 8 | 11 | 27 % |
| 1995 | 70831 | 38,9 | 24,7 | 13 | 11 | 38 % |
| 1996 | 74195 | 40,8 | 25,9 | 9 | 11 | 30 % |
| 1997 | 71347 | 39,2 | 24,9 | 10 | 18 | 44 % |
| 1998 | 68602 | 37,7 | 24 | 13 | 15 | 46 % |
| 1999 | 65380 | 35,9 | 22,8 | 20 | 22 | 73 % |
| 2000 | 68081 | 37,5 | 27,3 | 25 | 28 | 81% |
| 2001 | 69507 | 38,2 | 27,8 | 22 | 27 | 74% |
| 2002 | 66126 | 37,1 | 26,4 | 24 | 23 | 74% |
| 2003 | 66080 | 36,3 | 26,4 | 18 | 26 | 72% |

Tabella relativa agli anni 1991-2003 riportante il numero complessivo delle nascite in Campania, le attese in labiopalatoschisi, le labiopalatoschisi afferite al Centro e la percentuale relativa dei pazienti afferenti al centro rispetto ai nati affetti in Campania.

**MODALITA' DI SVOLGIMENTO**

**ATTIVITA' CLINICA**

La attività clinica del Centro si configura nel modo seguente:

Il primo contatto con il paziente malformato nel volto e nella bocca può avvenire :

- alla diagnosi ecografica di malformazione facciale mediante un approccio diretto psicologico con i genitori e con un incontro di tipo tecnico sulle modalità terapeutiche;
- alla nascita con un ulteriore approfondimento psicologico nei genitori e parentali e con una intensa preparazione agli stessi genitori sulla assistenza al neonato;
- in epoca post-natale con le modalità già espresse.

Contatti successivi:

Nel Centro si effettuano inoltre mensilmente controlli clinici relativi allo sviluppo corporeo ed alla preparazione all'intervento chirurgico del bambino malformato.

A sei, dodici ed a diciotto mesi i pazienti sono sottoposti a terapia chirurgica secondo il protocollo del Prof. Jean Delaire;

Seguono negli anni controlli clinici periodici fino a sviluppo ultimato (diciotto anni) e talora anche oltre.

A quattro anni viene eseguito il primo controllo foniatrico e consigliata eventualmente la riabilitazione.
Negli anni successivi viene eseguito il controllo dello sviluppo dell'apparato stomatognatico e vengono trattate le eventuali devianze.
Va rilevato che negli anni può essere necessario procedere a correzioni chirurgiche aggiuntive.
L'attività descritta è affiancata dalle attività prettamente odontoiatriche di profilassi e terapia della carie dentaria, delle malattie parodontali e delle patologie delle mucose orali.
La attività del Centro, specificatamente indirizzata alle malformazioni e deformazioni del viso, si esprime anche nel diffondere negli ambienti sanitari e nel pubblico le informazioni relative alla natura ed alla profilassi delle malformazioni e delle deviazioni di sviluppo delle mascelle.
La attività del Centro si avvale della collaborazione dei vari servizi clinici dell'antico Policlinico Universitario (Radiologia, Pediatria, Cardiologia, Anestesiologia, Foniatria ecc.).

Il primo contatto con il paziente disgnatico:
avviene al termine dello sviluppo corporeo. Il Centro assicura la terapia ortognatodontica finalizzata all'intervento chirurgico correttore e la terapia chirurgica correttiva.

**MODALITA' DI SVOLGIMENTO DEL LAVORO**

Attualmente il lavoro si svolge nel modo seguente:
Ambulatori siti al primo piano
Locali della Clinica Odontoiatrica I
Lunedì, Martedì e Giovedì ore 9,00-12,00 Clinica delle Patologie Orali
Mercoledì ore 14,00-20,00 Clinica delle Malformazioni e Deformazioni Facciali
Venerdì ore 9,00-12,00 Consulenza Primariale

Locali Protesi
Lunedì, Martedì, Giovedì e Venerdì ore 9,00-13,00 e

Mercoledì ore 14,00-20,00 Clinica Ortognatodontica finalizzata alla preparazione chirurgica nelle Malformazioni e Deformazioni. Terapia Conservativa, Terapia Protesica.

Complesso Operatorio secondo piano
Lunedì, Martedì e Giovedì ore 8,30-14,30 (salvo emergenze con disponibilità continua)

Degenza sita al terzo piano
Posti letto n°6 e culle n°6 (è previsto il ricovero della madre accanto al malformato per la sola età pediatrica).
Posti letto disabili n°2

Consulenze
Consulenza Foniatrica: quando necessita viene svolta presso il servizio Clinico di Foniatria- Prof. U. Barillari

***UBICAZIONE ATTUALE DEL CENTRO***

Il Centro occupa gli spazi della Seconda Università degli Studi di Napoli nel Dipartimento di Discipline Odontostomatologiche, Ortodontiche e Chirurgiche e precisamente in parte degli spazi già assegnati al Servizio di Clinica Odontoiatrica I. In particolare gli spazi sono i seguenti, ben circoscritti nella planimetria allegata:

Primo piano dell'edificio: Ambulatorio (L11,19,36), Sala Riunioni (L26), Studio del Dirigente Scientifico del Centro (L12), Ambulatorio II (L32,33).

Secondo piano: Complesso Operatorio (L16, 17, 18, 27, 28, 29, 30, 42, 26, 25, 15), Sala di Assistenza e recupero post-operatorio (L14), Studio degli Anestesisti (L37, 38, 39), Sala della Caposala del Complesso Operatorio (L36), Casermaggio (L13), Studio per un Dirigente di II Livello (L32).

Terzo Piano: Sale di Degenza provviste di n°6 letti e n° 6 culle (L9, 10, 36), Sala di ritrovo per bambini (L11), Sala di Degenza per disabili n°2 letti (L39) ( N.B. le sale godono di bagni singoli), Sala di attesa (L15), Sala di Prima accoglienza dei pazienti

(L16), Studio della Caposala (L14), Studio per il personale amministrativo ed informatico (L15), n°2 medicherie (L12, 13), Sala del personale infermieristico (L5).

I su indicati spazi sono già attrezzati e funzionanti tuttavia vanno migliorate ed aggiornate le attrezzature della sala di assistenza e recupero post-operatorio (vedi programmazione).

**DOTAZIONE ATTUALE ORGANICO**

Personale Sanitario già esistente presso la Facoltà di Medicina
da poter utilizzare anche per il Centro.

Afferisce, allo stato, il seguente personale universitario:

Posizione apicale - II Livello
Prof. Fernando Gombos, Professore Ordinario Seconda Università Napoli
Prof. Gennaro Minervini, Professore Ordinario Seconda Università Napoli
Prof. Rosario Rullo, Professore Associato Seconda Università Napoli
Prof. Dora Diana, Professore Associato Seconda Università Napoli

I Livello
Dott. Rossella Santoro, Ricercatore Seconda Università Napoli
Dott. Michele Parlato, Ricercatore Seconda Università Napoli

Afferisce, allo stato, il personale sanitario a carico dell'Azienda:
Dott. Olimpia Di Bella, Funzionario Tecnico di I Livello con Elevata Professionalità

Personale Parasanitario già esistente da poter utilizzare anche per il Centro

Signora Giovanna Capone, Caposala di Sala Operatoria
Signora Giovanna Boemio, Infermiera Pediatrica

## PROSPETTIVE DI SVILUPPO DEL PROGETTO

Come illustrato in precedenza il Centro è impegnato in un progetto finalizzato allo studio, alla ricerca, alla didattica, alla specifica formazione sanitaria in campo malformativo della bocca e della faccia ed alla ottimale assistenza dei pazienti affetti da schisi.

Per conservare l'attuale livello di attività ed incrementarlo in maniera crescente, secondo le esigenze di ricerca e di assistenza, occorrono risorse finalizzate a:

- potenziare il team di ricercatori esperti nel campo delle malformazioni oro-maxillo facciali;
- potenziare le strutture di ricerca mediante acquisizione di nuove attrezzature e tecnologie informatiche;
- ampliare ulteriormente i contatti con strutture di ricerca (interscambio di esperienze);
- incrementare l'attività di pubblicizzazione delle attività del Centro e dei risultati della ricerca.

L'ammontare complessivo del finanziamento necessario ad assicurare nel corso del primo anno del progetto un adeguato sviluppo degli interventi sopra descritti viene stimato in € 150.000,00

COLLABORAZIONI SCIENTIFICHE CON ALTRE SEDI

- Dipartimento di Genetica dell'Università di Ferrara

- Istituto di Stomatologia e Chirurgia Maxillo-Facciale del Centro Ospedaliero Universitario di Nantes (in corso di definizione)

**CURRICULUM SCIENTIFICO DEI RICERCATORI SENIOR PARTECIPANTI AL PROGETTO DI RICERCA (ULTIMI QUATTRO ANNI)**

**Prof. FERNANDO GOMBOS**

- Scapoli L, Marchesini J, Martinelli M, Pezzetti F, Carinci F, Palmieri A, Rullo R, **Gombos F**, Tognon M, Carinci P. Study of folate receptor genes in nonsyndromic familial and sporadic cleft lip with or without clef palate cases.
  Am J Med Genet A. 2004 Dec 15;132A(3):302-304
- Pezzetti F, Martinelli M, Scapoli L, Carinci F, Palmieri A, Marchesini J, Carinci P, Caramelli E, Rullo R, **Gombos F**, Tognon M. Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate.Hum Mutat. 2004 Jul;24(1):104-5.
- Scapoli L, Palmieri A, Pezzetti F, Carinci F, Marchesini J, Martinelli M, Delaiti G, Tognon M, Carinci P, **Gombos F**. Investigation of the W185X nonsense mutation of PVRL1 gene in Italian nonsyndromic cleft lip and palate patients. Am J Med Genet. 2004 Jun 1;127A(2):211.
- Carinci F, Rullo R, Laino G, Festa V, Mazzarella N, Morano D, **Gombos F**. Orofacial cleft in Southern Italy.Minerva Stomatol. 2003 Oct;52(10):427-31, 432-3
- Carinci F, Pezzetti F, Scapoli L, Martinelli M, Avantaggiato A, Carinci P, Padula E, Baciliero U, **Gombos F**, Laino G, Rullo R, Cenzi R, Carls F, Tognon M. Recent developments in orofacial cleft genetics.J Craniofac Surg. 2003 Mar;14(2):130-43
- Martinelli M, Scapoli L, Pezzetti F, Carinci F, Carinci P, Stabellini G, Bisceglia L, **Gombos F**, Tognon M. C677T variant form at the MTHFR gene and CL/P: a risk factor for mothers? Am J Med Genet. 2001 Feb 1;98(4):357-60.

**Prof. ROSARIO RULLO**

- Scapoli L, Marchesini J, Martinelli M, Pezzetti F, Carinci F, Palmieri A, **Rullo R**, Gombos F, Tognon M, Carinci P. Study of folate receptor genes in nonsyndromic familial and sporadic cleft lip with or without clef palate cases.
  Am J Med Genet A. 2004 Dec 15;132A(3):302-304
- Pezzetti F, Martinelli M, Scapoli L, Carinci F, Palmieri A, Marchesini J, Carinci P, Caramelli E, **Rullo R**, Gombos F, Tognon M. Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate.Hum Mutat. 2004 Jul;24(1):104-5.

- Carinci F, **Rullo R**, Laino G, Festa V, Mazzarella N, Morano D, Gombos F. Orofacial cleft in Southern Italy.Minerva Stomatol. 2003 Oct;52(10):427-31, 432-3
- Carinci F, Pezzetti F, Scapoli L, Martinelli M, Avantaggiato A, Carinci P, Padula E, Baciliero U, Gombos F, Laino G, **Rullo R**, Cenzi R, Carls F, Tognon M. Recent developments in orofacial cleft genetics.J Craniofac Surg. 2003 Mar;14(2):130-43

**Prof. J. MERCIER**

- **Mercier J**, Gordeeff A, Delaire J. Changes in the posterior vertical dimension of the face. Etiopathogenic factors, architectural criteria and therapeutic aspects. Orthod Fr. 1989;60 Pt 2:575-82.
- Salagnac JM, Delaire J, **Mercier J**. Vertical development of the face and cervical spine. Diagnostic and therapeutic significance in orthodontics and maxillofacial surgery. Rev Stomatol Chir Maxillofac. 1999 Apr;100(1):13-26.
- Bedhet N, **Mercier J**, Gordeeff A, Mouzard A, Delaire J. Labioglossopexy in Pierre Robin syndrome. Our experiences apropos of 70 cases. Rev Stomatol Chir Maxillofac. 1990;91(5):326-34.
- Delaire J, **Mercier J**, Gordeeff A, Bedhet N. The 3 palatine fibromucous membranes. Their role in maxillary growth. Therapeutic role in surgery of the palatine shelves. Rev Stomatol Chir Maxillofac. 1989;90(6):379-90.
- **Mercier J**, Gordeeff A, Delaire J. Changes in the posterior vertical dimension of the face. Etiopathogenic factors, architectural criteria and therapeutic aspects. Orthod Fr. 1989;60 Pt 2:575-82. Review.

**Prof. FRANCESCO CARINCI**

**Carinci F.,** Pezzetti F., Scapoli L**.,** Padula E., Baciliero U., Curioni C., Tognon M. Nondyndromic cleft lip and palate: evidence of linkage to a microsatellite marker on 6p23.
*Am J Hum Genet, 56: 337-339, 1995. Chicago (U.S.A.).*

Scapoli L., Pezzetti F., **Carinci F.,** Martinelli M**.,** Carinci P., Tognon M.
Evidence of linkage to 6p23 and genetic heterogeneity in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate (CL±P).
*Genomics, 43: 216-220, July 15, 1997, Orlando (U.S.A.)*

Pezzetti F., Scapoli L., Martinelli M**.**, **Carinci F**., Bodo M., Carinci P., Tognon M.

A locus in 2p13-14, in addition to that mapped in 6p23, is involved in nonsyndromic familial orofacial cleft malformation.
*Genomics, 50: 299-305, June 15, 1998, Orlando (U.S.A.).*

Martinelli M., Scapoli L., Pezzetti F., **Carinci F.,** Carinci P., Baciliero U., Padula E., Tognon M.
Suggestive linkage between markers on chromosome 19q13.2 and nonsyndromic orofacial cleft malformation.
*Genomics, 51: 177-181, July 15, 1998, Orlando (U.S.A.).*

Scapoli L., Martinelli M., Pezzetti F., **Carinci F.,** Bodo M., Tognon M., Carinci P.
Linkage disequilibrium between GABRB3 gene and nonsyndromic familial cleft lip with or without cleft palate.
*Hum Genet, 110:15-20, 2002.*

Francioso, F., **Carinci, F.,** Tosi, L., Scapoli, L., Pezzetti, F., Passerella, E., Evangelisti, R., Pastore, A., Pelucchi, S., Piattelli, A., Rubini, C., Fioroni, M., Carinci, P., Volinia, S. Identification of differentially expressed genes in human salivary gland tumors by DNA microarrays. *Mol. Cancer. Ther. 1(7):533-538, 2002.*

**Carinci, F.,** Bodo, M., Tosi, L., Francioso, F., Evangelisti, R., Pezzetti, F., Scapoli, L., Martinelli, M., Baroni, T., Stabellini, G., Carinci, P., Bellucci, C., Lilli, C., Volinia, S. Expression profiles of craniosynostosis-derived fibroblasts. *Mol. Med. 8(10):638-644, 2002.*

**Carinci, F.**, Francioso, F., Piattelli, A., Rubini, C., Fioroni, M., Evangelisti, R., Arcelli, D., Tosi, L., Pezzetti, F., Carinci, P., Volinia, S. Genetic expression profiling of six odontogenic tumors. *J. Dent. Res. 82(7):551-557, 2003.*

Pezzetti F**.,** Martinelli M**.**, Scapoli L., **Carinci F.,** Palmieri A., Marchesini J., Carinci P., Caramelli E., Rullo R., Gombos F. and Tognon M.
Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate
*Hum Mutat, 2004 (in press).*

Scapoli L., Marchesini J., Martinelli M., Pezzetti F., **Carinci F.,** Palmieri A., Rullo R., Gombos F., Tognon M. and Carinci P.
Study of folate receptor genes in nonsyndromic familial and sporadic cleft lip with or without clef palate cases.
*Am J Med Genet, 2004 (accepted).*

RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI

Carinci, F.; Pezzetti, F.; Scapoli, L.; Padula, E.; Baciliero, U.; Curioni, C. and Tognon, M. (1995) Nonsyndromic cleft lip and palate: evidence of linkage to microsatellite markers on 6p23. *Am. J. Hum. Genet.* **56**, 337-339.

Scapoli, L.; Pezzetti, F.; Carinci, F.; Martinelli, M.; Carinci, P. and Tognon, M. (1997) Genetic heterogeneity and evidence of linkage to 6p23 in nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Genomics* **43**, 216-220.

Pezzetti, F.; Scapoli, L.; Martinelli, M.; Carinci, F.; Bodo, M.; Carinci, P. and Tognon, M. (1998) A locus in 2p13-14, in addition to that mapped in 6p23, is involved in nonsyndromic familial orofacial cleft malformation. *Genomics* **50**, 299-305.

Stein, J.; Mulliken, J. B., Stal, S.; Gasser, D. L.; Malcolm, S.; Winter, R.; Blanton, S. H.; Amos, C.; Seemanova, E. and Hecht, J. T. (1995) Nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate: evidence of linkage to BCL3 in 17 multigenerational families. *Am. J. Hum. Genet.* **57**, 257-272.

Wyszynski, D. F.; Maestri, N.; McIntosh, I.; Smith, E. A.; Lewanda, A. F.; Garcia-Delgado, C.; Vinageras-Guarneros, E.; Wulfsberg, E. and Beaty, T. H. (1997) Evidence for an association between markers on chromosome 19q and nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate in two groups of multiplex families. *Hum. Genet.* **9**, 22-26.

Martinelli, M.; Scapoli, L.; Pezzetti, F.; Carinci, F.; Carinci, P.; Baciliero, U.; Padula, E. and Tognon, M. (1998) Suggestive linkage between markers on chromosome 19q13.2 and nonsyndromic orofacial cleft malformation. *Genomics* **51**, 177-181.

Scapoli, L.; Martinelli, M.; Pezzetti, F.; Carinci, F.; Bodo, M.; Tognon, M. and Carinci P. (2002) Linkage disequilibrium between GABRB3 gene and nonsyndromic familial cleft lip with or wiyhout cleft palate. *Hum. Gent.* **110**, 15-20.

Suzuki, K.; Hu, D.; Bustos, T.; Zlotogora, J.; Richieri-Costa, A.; Helms, J. A. and Spritz, R. A. (2000) Mutations of PVRL1, encoding a cell-cell adhesion molecule/herpesvirus receptor, in cleft lip/palate-ectodermal dysplasia. *Nat. Genet.* **25**, 427-430.

Sozen, M. A.; Suzuki, K.; Tolarova, M. M.; Bustos, T.; Fernandez Iglesias, J. E. and Spritz, R. A. (2001) Mutation of PVRL1 is associated with sporadic, nonsyndromic cleft lip/palate in northern Venezuela. *Nat. Genet.* **29**, 141-142.

Martinelli, M.; Scapoli, L.; Pezzetti, F.; Carinci, F.; Carinci, P.; Stabellini, G.; Bisceglia, L.; Gombos, F. and Tognon, M. (2001) C677T variant form at the MTHFR gene and CLP. A risk factor for mothers? *Am. J. Med. Genet.* **98**, 357-360.

Tolarova, M.; Van Rooij, I.; Pastor, M.; Van der Put, N.; Goldberg, A.; Hol, F.; Capozzi, A.; Thomas, C.; Pastor, M. L.; Mosby, T.; Ferrari, C.; Eskes, T. and Steegers, R. (1998) A common mutation in the MTHFR gene is a risk factor for nonsyndromic cleft lip and palate anomalies. *Am. J. Hum Genet.* **63**, A27.

Mills, J. L.; Kirke, P. N.; Molloy, A. M.; Burke, H.; Conley, M. R.; Lee, Y. J.; Mayne, P. D.; Weir, D. G. and Scott, J. M. (1999) Methylenetetrahydrofolate reductase thermolabile variant and oral clefts. *Am. J. Med. Genet.* **86**, 71-74.

Higuchi, R. 1989. Simple and rapid preparation of samples for PCR. In: PCR technology. New York: Stocton Press. p 31-38.

Spielman, R. S., McGinnis, R. E., Ewens, W. J. (1993). Transmission test for linkage disequilibrium: the insulin gene region and insulin-dependent diabetes mellitus (IDDM). *Am. J. Hum. Genet.* **52**, 506-516.

Czeizel, A. E. (2000). Primary prevention of neural-tube defects and some other major congenital abnormalities: recommendations for the appropriate use of folic acid during pregnancy. *Paediatr. Drugs* **2,** 437-449.

Itikala, P. R., Watkins, M. L., Mulinare, J., Moore, C. A., Liu, Y. (2001). Maternal multivitamin use and orofacial clefts in offspring. *Teratology* **63**, 79-86.

Sham, P. C., Curtis, D. (1995) An extended transmission disequilibrium test (TDT) for multi-allele marker loci. *Ann. Hum. Genet.* **59**, 323-336.

Scapoli, L., Marchesini, J., Palmieri, A., Carinci, F., Pezzetti, F., Martinelli, M., Gombos, F., Delaiti, G., Tognon, M. and Carinci, P. (2003). Investigation of the W185X Nonsense Mutation of PVRL1 Gene in Italian non-syndromic Cleft Lip and Palate Patients. *Am. J. Med. Genet.* **127A**(2), 211.

Pezzetti, F., Martinelli, M., Scapoli, L., Carinci, F., Palmieri, A., Marchesini, J., Carinci, P., Caramelli, E., Rullo, R., Gombos, F. and Tognon, M. (2004). Maternal MTHFR variant forms increase the risk in offspring of isolated nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Hum. Mutat.* **24**(1), 104-105.

Scapoli, L., Marchesini, J., Martinelli, M., Pezzetti, F., Carinci, F., Palmieri, A., Rullo, R., Gombos, F., Tognon, M. and Carinci, P. (2004). Study of folate receptor genes in nonsyndromic familial and sporadic cleft lip with or without clef palate cases. *Am. J. Med. Genet.* (accepted).

Carinci, F., Pezzetti, F., Scapoli, L., Martinelli, M., Carinci, P., Tognon, M. (2000). Genetics of the nonsyndromic cleft lip and palate: a review of international studies and data regarding the italian population. *Cleft. Palate-Cran. J.* **37**:33-40.

Prof. Fernando Gombos