

Cromosoma 18 ad Anello

N. Ricci, B. Dallapiccola, B. Ventimiglia, G. Preto

SUMMARY

In a girl affected by mental deficiency and slight malformations, a 46,XX,18r chromosome set was found. Metaphases with irregularly sized or absent rings amounted to 14% in peripheral blood cultures. Tritiated thymidine incorporation pattern in the ring chromosome was similar to that of the normal 18 chromosome.

Introduzione

Dopo la prima osservazione di un cromosoma 18 ad anello da parte di Wang et al (1962), anomalie cromosomiche simili sono state descritte da Genest et al (1963), Lukas et al (1963), De Grouchy (1964), Gropp et al (1964), Bernard et al (1966), Lejeune et al (1966), Gripenberg (1967), Mikelsaar et al (1967), Palmer et al (1967), De Grouchy et al (1968), Finley et al (1968), Leisti et al (1968), Richards e Hobbs (1968), Sinha (1968), Stewart et al (1968), Borgaonkar et al (1969).

Dal confronto dei casi pubblicati dagli autori citati appare evidente che a questo tipo di aberrazione cromosomica non si associa un quadro clinico caratteristico. È costantemente presente un deficit di sviluppo mentale, che però è di grado e tipo variabile e non può essere considerato un elemento specifico. Nei pazienti affetti sono stati osservati, variamente associati, microcefalia, ipertelorismo, epicanto, obliquità abnorme delle rime palpebrali, malformazioni dell'orecchio, cheilopalatoschisi, pterigium colli, malformazioni delle mani e dei piedi, del cuore, dei reni, dei genitali, anomalie del disegno dei dermatoglifi.

Presentiamo un ulteriore esempio di cromosoma 18 ad anello (18r) che è stato da noi osservato in una paziente selezionata per lo studio del cariotipo a causa di un deficit di sviluppo mentale associato a modeste malformazioni somatiche.

Caso Clinico

G. G., di sesso femminile; secondogenita; nata ad Udine il 30/1/1962. I genitori sono apparentemente sani e non consanguinei; non sono stati esposti ad irradiazioni o intossicazioni. Età materna alla nascita 30 anni; età paterna 31 anni. La sorella della paziente, nata nel 1961, è sana.

La gravidanza ha avuto un decorso normale; il parto è stato regolare, a termine. Peso alla nascita 2900 g; pianto normale; allattamento misto. Ha cominciato a stare seduta a 8 mesi, a stare in piedi a 15 mesi, a camminare a 17 mesi.

All'età di 7 anni e 3 mesi vengono rilevati i seguenti dati: peso 21 kg, altezza 109 cm, distanza pube-suolo 50 cm, circonferenza cranica 50 cm, circonferenza toracica 59 cm. Al viso non si notano malformazioni rilevanti (Fig. 1): le rime palpebrali sono orizzontali, le orecchie hanno impianto regolare; la distanza interpupillare è di 58 mm; il mento è piuttosto piccolo e sfuggente; la dentatura ed il palato sono normali; la lingua è piuttosto



Fig. 1. Fotografie della paziente all'età di sei anni

grossa, ma viene tenuta nel cavo orale. Il collo è tozzo, senza accenno a pterigio; alle mani si nota brevità dei mignoli. Nulla di rilevante a carico dell'apparato cardiorespiratorio e degli organi addominali.

La paziente è molto chiusa in presenza di estranei e non pronuncia alcuna parola. I genitori affermano che ha cominciato a dire le prime parole dopo i 12 mesi e che ora è in grado di formare frasi di senso compiuto. Nelle composizioni con i pezzi non riesce neppure a costruire piccoli complessi. Non disegna: esegue qualche spontanea composizione di linee non definibili.

I comuni esami di laboratorio (esame delle urine, emocromocitometrico, glicemia, azotemia, colesterolemia, protidemia totale e frazioni elettroforetiche) hanno dato risultati nei limiti normali. La fosfatasi alcalina leucocitaria era normale; negativa la ricerca di anticorpi antitiroidei, di eritrociti con emoglobina fetale (Kleihauer) e dell'acido fenilpiruvico. Il dosaggio per immunodiffusione radiale delle frazioni IgA, IgG, IgM ha dato valori normali per l'età.

ECG normale. Un EEG eseguito nel 1966 aveva messo in evidenza «segni di duplice focolaio epilettogeno centrale destro e parietale sinistro»; un altro tracciato, eseguito nel 1968, è risultato nei limiti normali per l'età.

Gli esami radiografici del cranio, torace, bacino, arti non hanno messo in evidenza anomalie di rilievo a parte una spiccata ipoplasia della seconda falange del V dito delle mani.

GRUPPI SANGUIGNI (Prof. Menini, Ferrara):

	C	c	D	E	e	M	N	S	P	K	k	Fy
Madre	O	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Padre	B	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+
Proposita	O	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-
Sorella	B	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+

DERMATOGLIFI

Lo schema dei dermatoglifi delle mani è illustrato nella Fig. 2. La conta totale delle creste sui polpastrelli è bassa (77); è presente un'ansa radiale sul I dito a sinistra; il conteggio delle creste fra i triradi digitali *a* e *b* è elevato (51 a sinistra; 53 a destra); a sinistra vi è un disegno vestigiale nella IV area interdigitale; i triradi palmari assiali sono dislocati distalmente (*tt'* a destra, *tt''* a sinistra). Le pieghe di flessione palmari sono irregolari, ma non vi è una vera « piega scimmiesca ».

ESAMI CITOGENETICI

La cromatina sessuale è risultata positiva negli strisci di mucosa orale. Negli strisci di sangue periferico sono stati trovati 16 *drumsticks* su 1000 granulociti.

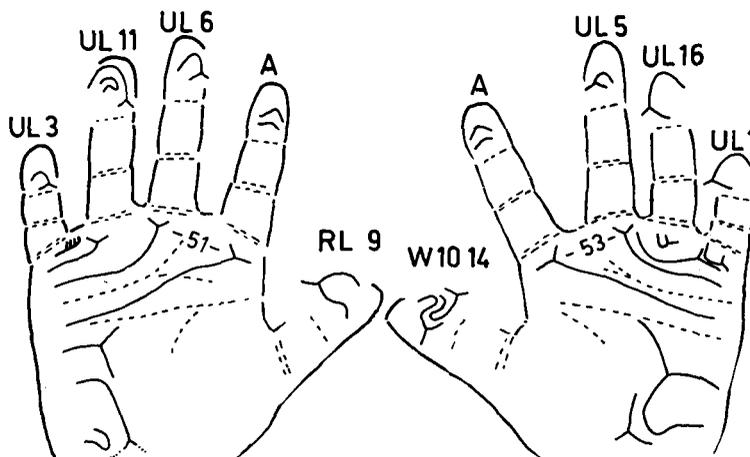


Fig. 2. Schema dei dermatoglifi delle mani

In una prima cultura di sangue periferico sono state analizzate 31 metafasi (Tab. I): il numero modale è risultato di 46 e nella maggior parte delle cellule era visibile un cromosoma ad anello di piccole dimensioni (Fig. 3) che sostituiva un cromosoma 18. Accanto alle metafasi con cariotipo 46,XX,18r sono state notate alcune cellule prive del cromosoma ad anello (cellule a 45 cromosomi) o con cromosoma ad anello di dimensioni abnormi (Fig. 4).

Tab. I. Risultato dell'analisi cromosomica eseguita su una cultura di sangue periferico

	N. cromosomi					Totale
	43	44	45	46	47	
N. metafasi	—	1	4*	26**	—	31

* Tre metafasi tipo 45,XX,18-; una metafase 45,XX,18r,G-.

** Tutte con cromosoma 18 ad anello; due di esse con anello di grandezza abnorme.

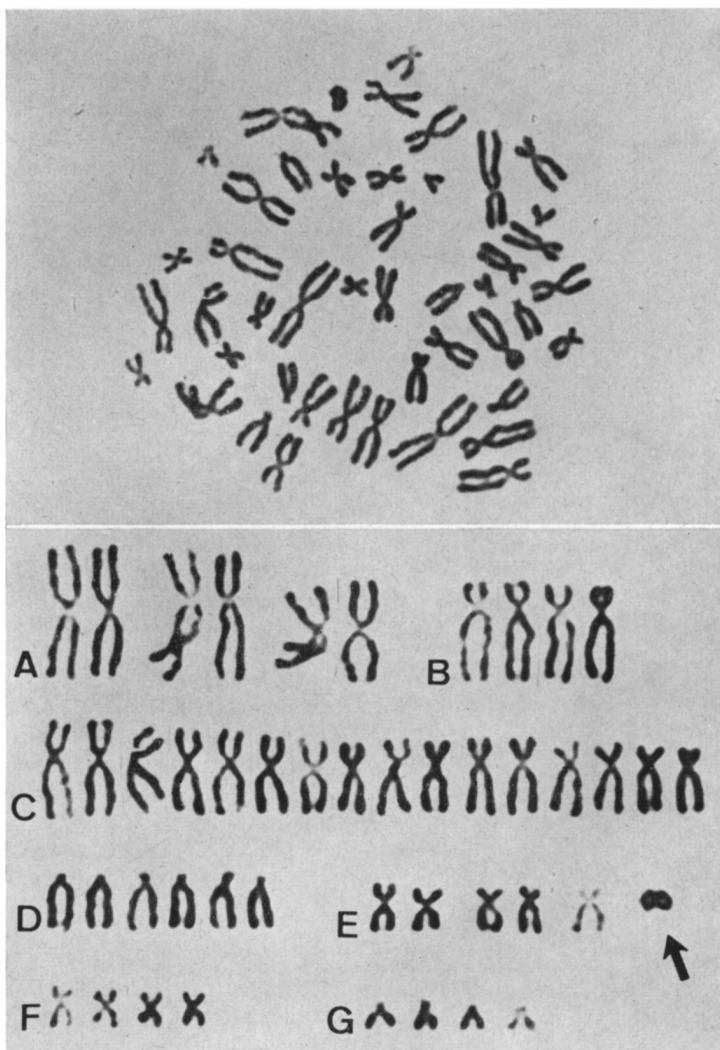


Fig. 3. Metafase e relativo cariotipo: un cromosoma ad anello
sostituisce un cromosoma 18

In base a questi reperti preliminari abbiamo eseguito una successiva serie di culture di sangue periferico, allo scopo di valutare: la frequenza delle metafasi prive del cromosoma ad anello; la frequenza delle metafasi con cromosomi ad anello di dimensioni abnormi; la possibilità che tali frequenze variassero in rapporto alla durata della cultura in vitro delle cellule ematiche; le caratteristiche dell'incorporazione di timidina tritiata nel cromosoma ad anello alla fine del periodo di duplicazione.

Per quanto riguarda la frequenza delle metafasi prive dell'anello e con anelli di forma abnorme (Fig. 5) sono state studiate direttamente al microscopio tre culture raccolte rispet-

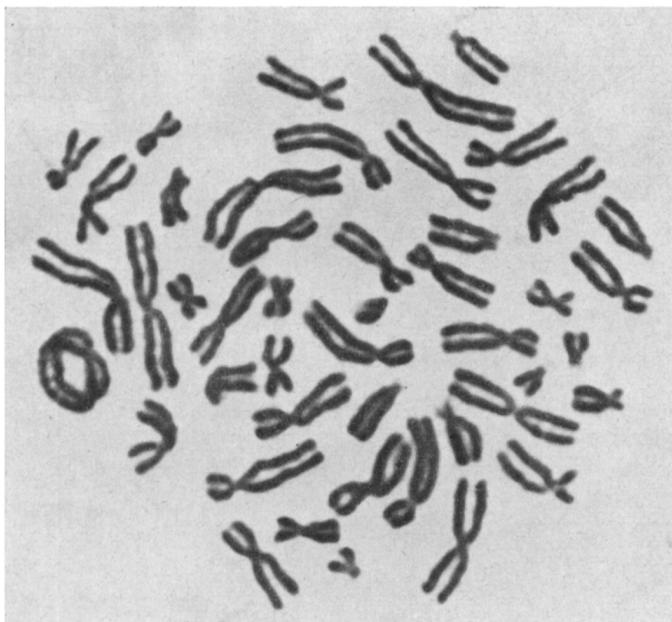


Fig. 4. Metafase con un grande cromosoma ad anello monocentrico

tivamente alla 48^a ora, alla 70^a ora ed alla 144^a ora (quest'ultima dopo avere sostituito il terreno di cultura con terreno fresco al quarto giorno): i risultati di questo studio non rivelano sensibili differenze in rapporto ai tempi di cultura (Tab. II).

Per lo studio autoradiografico della duplicazione cromosomica, ad una cultura è stata aggiunta timidina tritiata¹ 4 ore prima della raccolta e colchicina 90 minuti prima della raccolta (durata totale della cultura 70 ore).

Dopo avere fotografato ed identificato le metafasi migliori, i vetrini sono stati ricoperti con Kodak AR 10 ed esposti per 9 giorni. Sono state successivamente scelte per l'analisi ed il conteggio dei grani le metafasi che rispondevano ai seguenti requisiti: riconoscibilità dei cinque cromosomi normali del gruppo E; presenza del cromosoma ad anello di dimen-

¹ Amersham Radiochemical Centre, attività specifica 17 700 mCi/mM, concentrazione 0.2 μ Ci/ml.

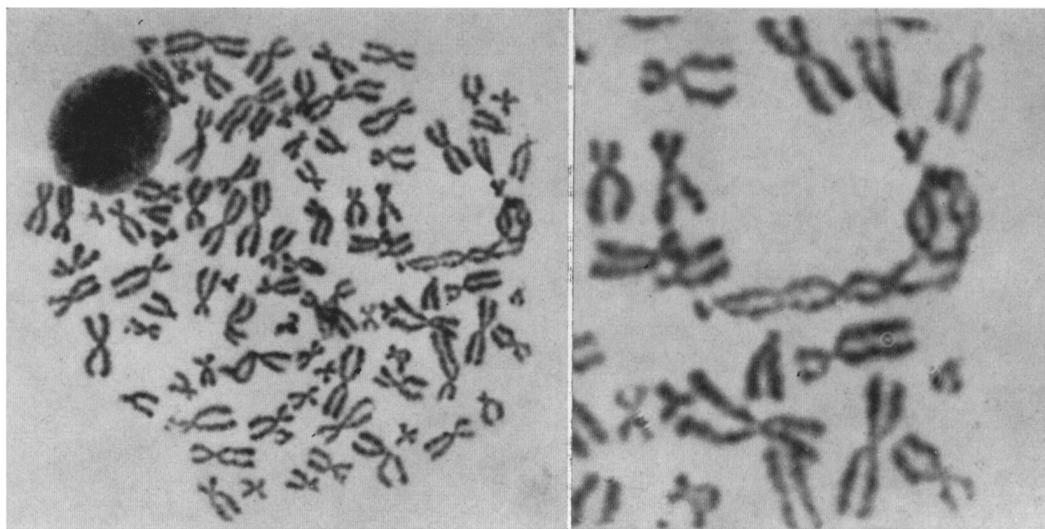


Fig. 5. Metafase con 90 cromosomi e con un grande cromosoma policentrico a struttura complessa

Tab. II. Studio microscopico diretto di tre culture di sangue periferico, raccolte a diversi intervalli di tempo: distribuzione delle metafasi con anello apparentemente regolare, senza anello o con anelli di dimensione o forma abnormi

Tempi di cultura	N. metafasi osservate						Totale
	Con anello		Senza anello		Con anello di dimensioni abnormi		
	N.	%	N.	%	N.	%	
48 ore	135	85	12	8	11	7	158
70 ore	294	86	26	8	21	6	341
144 ore	155	87	18	10	5	3	178
Totale	584	86	56	8	37	6	677

sioni regolari; presenza di un cromosoma X « caldo ». In 31 metafasi selezionate in base ai suddetti criteri sono stati contati al microscopio i grani corrispondenti ai due cromosomi 17, al cromosoma 18 normale ed al cromosoma 18 ad anello (Fig. 6). Il risultato del conteggio dei grani è rappresentato nella Fig. 7: sulla coppia identificata come 17 il numero dei grani appare sensibilmente inferiore a quello osservato sia sul cromosoma 18 normale, sia sul cromosoma ad anello.

Una cultura ottenuta da un frammento di cute dell'avambraccio (eseguita presso il Centro Euratom per le Radiazioni e la Citogenetica Umana, diretto dal Prof. M. Fraccaro, Pavia) ha dimostrato la presenza e la persistenza dell'anello ancora dopo vari mesi di cultura.

I corredi cromosomici dei genitori e della sorella della proposita sono risultati apparentemente normali.

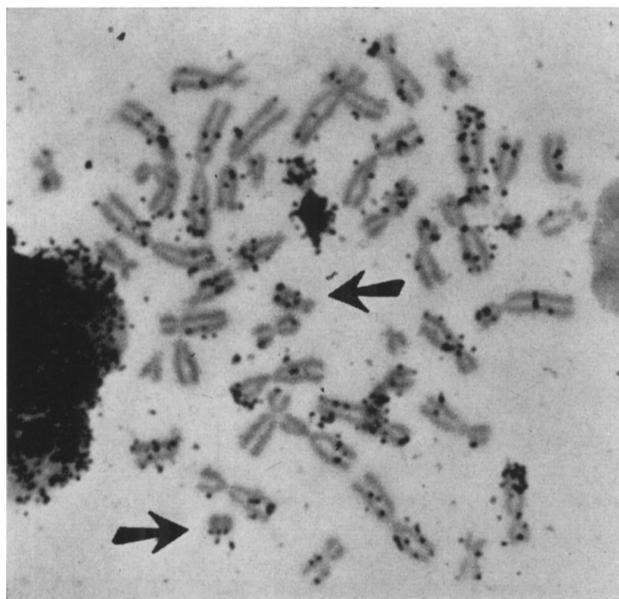


Fig. 6. Immagine autoradiografica di una metafase: le frecce indicano il cromosoma ad anello ed il cromosoma 18 normale. Si noti la presenza di un « X caldo ».

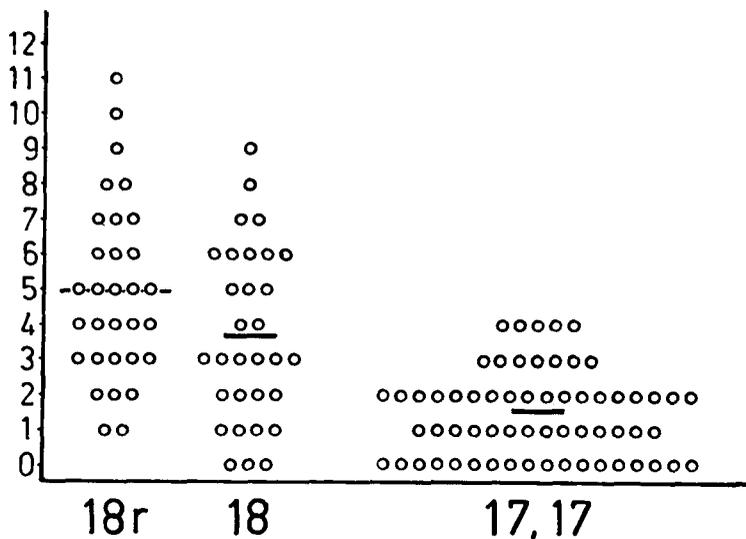


Fig. 7. Risultati dell'analisi autoradiografica dell'incorporazione di timidina tritziata in 31 metafasi. Distribuzione dei grani contati in corrispondenza del cromosoma 18 ad anello, del cromosoma 18 normale e dei due cromosomi 17.

Discussione e Conclusioni

Dal punto di vista clinico la paziente da noi studiata presenta essenzialmente un deficit di sviluppo mentale associato ad ipoevolutismo staturale ed a qualche dismorfismo (mento piccolo e sfuggente, collo tozzo, mignoli brevi). Questa osservazione costituisce un'ulteriore dimostrazione della variabilità nell'estrinsecazione clinica dell'aberrazione cromosomica « 18 ad anello ».

A differenza delle altre forme di anomalie autosomiche congenite oggi note (trisomie G; D; E; delezione Bp-; etc.), alle quali si associano in genere quadri clinici abbastanza ben definiti, al « 18 ad anello » non sembra si accompagni una sindrome caratteristica: l'unico elemento costante descritto è la compromissione dello sviluppo mentale, che tuttavia è aspecifica ed è comune ad ogni tipo di patologia autosomica.

Dal punto di vista genetico, il corredo cromosomico di questi pazienti può essere considerato fondamentalmente una monosomia parziale di parti variabili del braccio corto e del braccio lungo del cromosoma 18. A questo difetto fondamentale può sovrapporsi un ulteriore squilibrio genico cellulare, correlato a successive modificazioni cromosomiche conseguenti all'instabilità della struttura ad anello (Lejeune, 1968): una parte delle cellule può perdere il cromosoma ad anello e trovarsi perciò in condizioni di completa monosomia 18; un'altra parte delle cellule può risultare portatrice di cromosomi ad anello rimaneggiati (anelli giganti, doppi, piccoli, dicentrici, policentrici, etc.) e venire così a trovarsi in condizioni complesse di squilibrio genico del tipo della monosomia/trisomia parziali e simili.

Nel nostro caso, ad esempio, circa il 14% dei linfociti del sangue periferico si troverebbe in condizioni diverse da quella fondamentale del corredo 46,XX,18r.

È possibile che la variabilità dei fenotipi associati all'anomalia « 18 ad anello » sia in rapporto con la diversità dei frammenti cromosomici perduti nella formazione dell'anello e con la presenza di proporzioni variabili di cellule ulteriormente squilibrate per successivi rimaneggiamenti dell'anello stesso.

Bibliografia

- BERNARD R., STAHL A., GIRAUD F., HARTUNG M., BRUSQUET Y. (1966). Encéphalopathie avec dysmorphie complexe et chromosome 17-18 en anneau. *Ann. Pédiat. (Paris)* **13**: 2129.
- BORGAONKAR D. S., BIAS W. B., SCOTT C. I., WADIA R. S., BORKOWF S. P. (1969). IgA and abnormal chromosome 18. *Lancet*, **1**: 206.
- FINLEY S. C., FINLEY W. H., NOTO T. A., UCHIDA I. A., RODDAM R. F. (1968). IgA absence associated with a ring-18 chromosome. *Lancet*, **1**: 1095.
- GENEST P., LECLERC R., AUGER C. (1963). Ring chromosome and partial translocation in the same cell. *Lancet*, **1**: 1426.
- GRIPENBERG U. (1967). The cytological behaviour of a human ring chromosome. *Chromosoma*, **20**: 284.
- GROPP A., JUSSEN A., OFTERINGER K. (1964). Multiple congenital anomalies associated with a partially ring shaped chromosome probably derived from chromosome N. 18 in man. *Nature (London)*, **202**: 829.
- GROUCHY DE J., LEVEQUE B., DEBAUCHEZ C., LAMY M., MARIE J. (1964). Chromosome 17-18 en anneau et malformations congénitales chez une fille. *Ann. Genet. (Paris)*, **7**: 17.
-

- HERRAULT A., COHEN-SOLAL J. (1968). Une observation de chromosome 18 en anneau (18r). *Ann. Genet. (Paris)*, **11**: 33.
- LEISTI J., GRIPENBERG U., KIVALO E., PALO J., VON SCHOULTZ B., SUOMALAINEN E. (1968). Two patients with a 46,XX,Er chromosome constitution. *Acta Paediat. Scand.*, **57**: 441.
- LEJEUNE J. (1968). De la duplication de structures circulaires. *Ann. Genet. (Paris)*, **11**: 71.
- RETHORE M., BERGER R., BAHEUX G., CHABRUN J. (1966). Sur un cas de chromosome 18 en anneau. *Ann. Genet. (Paris)*, **9**: 173.
- LUKAS M., KEMP N. H., ELLIS J. R., MARSHALL R. (1963). A small autosomal ring chromosome in a female infant with congenital malformations. *Ann. Hum. Genet.*, **27**: 189.
- MIKELSAAR A. V. N., TALVIK T. A., SITSKA M. E. (1967). A ring shaped chromosome (presumably N. 18) and its bearing on the multiple congenital anomalies in man. *Genetika*, **5**: 63.
- PALMER C. G., FAREED N., MERRITT A. D. (1967). Ring chromosome 18 in a patient with multiple anomalies. *J. Med. Genet.*, **4**: 117.
- RICHARDS B. W., HOBBS J. R. (1968). IgA and ring-18 chromosome. *Lancet*, **1**: 1426.
- SINHA A. K. (1967). Human ring chromosome syndromes. An «E» ring associated with an abnormal phenotype. *Acta Genet. Med. Gemellol.*, **17**: 487.
- STEWART J., GO S., ELLIS E., ROBINSON A. (1968). IgA and partial deletions of chromosome 18. *Lancet*, **2**: 779.
- WANG H. G., MELNYK J., McDONALD L. T., UCHIDA I. A., CARR D. H., GOLDBERG B. (1962). Ring chromosomes in human beings. *Nature (London)*, **195**: 733.

RIASSUNTO

In una bambina affetta da deficit di sviluppo mentale, con modeste malformazioni somatiche, è stato osservato un corredo cromosomico di tipo 46,XX,18r. Nel 14% delle metafasi ottenute da culture di sangue periferico il cromosoma ad anello era di dimensioni o forma alterate o era assente. L'incorporazione di timidina tritiata nel cromosoma ad anello aveva caratteristiche simili a quelle del cromosoma 18 normale.

RÉSUMÉ

Un caryotype 46,XX,18r a été trouvé chez une enfant atteinte de retard mental et de légères malformations somatiques. Le chromosome en anneau était altéré ou absent dans 14% des métaphases. L'incorporation de thymidine tritiée dans le chromosome en anneau présentait les mêmes caractéristiques du chromosome 18 normal.

ZUSAMMENFASSUNG

Bei einem geistig etwas zurückgebliebenen Mädchen mit leichten Körpermissbildungen beobachtete man eine Chromosomenausstattung des Types 46,XX,18r. Bei 14% der durch Kulturen der peripheren Bluts gewonnenen Metaphasen war das Ringchromosom entweder in Form oder Größe verändert, oder es fehlte gänzlich. Einverleibung von mit Tritium behandeltem Thymidin in das Ringchromosom erfolgte in ähnlicher Art und Weise wie beim normalem Chromosom 18.

Dr. N. RICCI, Clinica Medica dell'Università, Ferrara, Italy.