

# Ricerche Genetiche sulla Fistula Auris Congenita

## V. Gualandri

1. Introduzione
  - 1.1. Considerazioni Anatomico-Patologiche
  - 1.2. Teorie Embrio-Patogenetiche
  - 1.3. Rassegna Bibliografica
2. Materiale e Metodi
  - 2.1. Materiale
  - 2.2. Considerazioni Teoriche circa la Metodica di Accertamento
  - 2.3. Teoria del Metodo Statistico Applicato
    - 2.3.1. Famiglie con fenotipo parentale: malato  $\times$  sano ( $F \times f$ )
    - 2.3.2. Famiglie con fenotipo parentale: sano  $\times$  sano
3. Risultati - Applicazione dei Modelli Statistici al Materiale in Esame
  - 3.1. Osservazioni Preliminari
  - 3.2. Valutazione della Penetranza
  - 3.3. Analisi e Risultati sullo Schema di Trasmissione del Carattere
  - 3.4. Analisi e Risultati sulla Frequenza Fenotipica e Genica del Carattere
4. Conclusioni
  - Riassunto
  - Bibliografia

## 1. Introduzione

### 1.1. CONSIDERAZIONI ANATOMO-PATOLOGICHE

Nel suo aspetto di gran lunga più frequente la fistula auris congenita (FAC) appare dall'esterno come un forellino nell'epidermide che si continua in un esile tragitto fistoloso a fondo cieco, anch'esso rivestito di epidermide, a mala pena esplorabile con un sottile specillo, lungo da 4 a 10 mm. Lo sbocco esterno si può trovare in posizioni variabili lungo una linea che passa per il tratto ascendente dell'elice, per il trago e per il margine esterno del meato acustico. Tuttavia, nella grande maggioranza dei casi, lo si reperisce nella regione dell'elice. Talvolta il forellino di sbocco della fistola si trova al fondo di una fossetta; molto raramente il tragitto fistoloso si approfonda fino a comunicare con l'orecchio medio. È stata anche segnalata, sia pure con frequenza non elevata, l'associazione della FAC con altre piccole malformazioni del padiglione auricolare: un piccolo tubercolo cartilagineo antistante al trago (Gates, 1946), piccoli tumori teratoidi, fibrosi o cartilaginei (Citelli, 1948), ed altre malformazioni ancora più variabili e rare.

La FAC è una piccola malformazione assolutamente benigna nella maggior parte dei casi non procurando per se stessa disturbi di sorta, tanto che alcuni portatori osservati nella presente ricerca non si erano mai accorti della sua presenza; ovviamente l'eventuale associazione con le altre malformazioni sopra descritte pone talvolta dei

problemi di ordine estetico. In alcuni casi, specialmente nell'infanzia, si può osservare o provocare mediante spremitura, la fuoriuscita dalla fistola di una secrezione latte-scente; in altri casi lo sbocco esterno della fistola si oblitera ed il tragitto si trasforma in una piccola cisti visibile e palpabile nello spessore della cute e facilmente soggetta ad infiammarsi. La flogosi suppurativa del tragitto fistoloso, con necessità di un intervento radicale, è invero una complicazione molto rara; tuttavia diversi soggetti esaminati nella presente ricerca hanno riferito di un tale evento occorso ad essi o a loro familiari portatori della malformazione.

## 1.2. TEORIE EMBRIO-PATOGENETICHE

Tenendo conto della complessità dello sviluppo embriologico del padiglione auricolare, complessità dovuta essenzialmente alla necessità di una confluenza armonica ed esatta di tessuti di diversa provenienza, è facile comprendere come siano state proposte diverse teorie sulla patogenesi della FAC. L'individualità e l'originalità di queste teorie, o in sostanza il motivo che le differenzia l'una dall'altra, è essenzialmente di ordine cronologico, e precisamente consiste nel localizzare in diverse fasi dello sviluppo il momento patogenetico primario della FAC. Sostanzialmente si possono prendere in considerazione tre teorie patogenetiche.

Secondo la teoria di Heusinger (1964) la FAC originerebbe dalla permanenza del primo solco branchiale, del quale pertanto ripete la localizzazione — la linea dell'elice — ed il decorso; in alcuni casi la FAC è risultata comunicante con l'orecchio medio. Secondo questa teoria il momento patogenetico della malformazione è molto precoce, in quanto la formazione del solco branchiale è praticamente il primo stadio evolutivo dello sviluppo embriologico dell'intera regione buccofaringea dell'intestino primitivo.

Whitney (1939) invece attribuisce la formazione della FAC ad una difettosa confluenza e saldatura del materiale dei due archi branchiali nella costituzione del padiglione auricolare: siccome la linea di saldatura fra i due archi passa per il bordo esterno del meato acustico, per il trago e per la parte ascendente dell'elice, si spiegherebbe la variabilità di localizzazione della malformazione, sempre però lungo questa linea, come è stato effettivamente osservato.

Secondo la teoria di Pires de Lima (1923) la patogenesi della FAC è ancora più tardiva e precisamente è attribuita ad un errore nella evoluzione dei sei tubercoli che — come è noto — si formano nella regione circostante il poro acustico.

Effettivamente tutte le teorie descritte hanno dei dati di osservazione a favore: il reperto di fistole comunicanti con l'orecchio medio, la distribuzione della malformazione lungo la linea di saldatura fra i due archi, ed infine la presenza di altre piccole malformazioni associate avvalorano rispettivamente le tre teorie.

Non sembra pertanto privo di fondamento porre anche l'ipotesi che l'errore evolutivo possa avvenire in diversi stadi dello sviluppo durante il quale pertanto potrebbero agire fattori etiologici diversi: sia idiotipici, sia paratipici. Sotto la denominazione di FAC potrebbero così essere comprese malformazioni diverse quanto ad etio-

logia (idiotipica o paratipica), eppure morfologicamente molto simili: ciò spiegherebbe le difficoltà di inquadrare la FAC in un modello definito di trasmissione ereditaria, le frequenti annotazioni di « trasmissione irregolare » che diversi autori fanno a commento dei ceppi familiari esaminati, e soprattutto la presenza di casi sporadici in famiglie anche relativamente ampie così numerosi da non potere essere tutti spiegati come neomutazioni.

I soggetti presi in considerazione nella presente ricerca sono risultati affetti per la grande maggioranza dalla FAC nella sua localizzazione più tipica e frequente (il tratto ascendente dell'elice); questa uniformità, del resto imposta dalla particolare configurazione del campione di studio, è stata anche ricercata al fine di tentare di eliminare eventuali malformazioni morfologicamente simili alla FAC, ma dovute a fattori etiologici diversi e probabilmente non ereditari.

### 1.3. RASSEGNA BIBLIOGRAFICA

La malformazione attualmente classificata come FAC è stata osservata e descritta già in tempi relativamente lontani: secondo Gates (1946) risale al 1832 la prima pubblicazione di un albero genealogico esteso a tre generazioni con otto casi della malformazione, allora chiamata « fistola branchiale » o « branchiogenica ».

Tuttavia la prima descrizione morfologica completa della FAC e la denominazione stessa, è opera di Heusinger (1864), che studiò due casi personali e ne raccolse altri 44 già descritti in letteratura: l'autore si interessò particolarmente degli aspetti anatomo-patologici e della patogenesi della malformazione, elencandone tutte le varietà quanto a dimensioni, profondità, localizzazione, associazione con altre malformazioni e possibili complicanze e proponendo una propria teoria patogenetica che è già stata riassunta precedentemente. Successivamente si trovano in letteratura diversi lavori, nella maggior parte dei quali però si prendono in considerazione uno o pochi ceppi familiari interessati dalla malformazione, o se ne studia il comportamento nei gemelli, o se ne calcola la frequenza in campioni più o meno grandi di diverse popolazioni: non risulta che sia mai stato condotto uno studio genetico-formale vero e proprio della malformazione.

Quelprud (1940) effettuò una revisione della letteratura sull'argomento e riferì che la particolare concentrazione familiare della FAC fu osservata e notata per la prima volta nel 1877: più precisamente fu allora indicata come « irregolarmente dominante » la particolare segregazione del carattere. Questa modalità di trasmissione ereditaria, che venne di volta in volta definita come « irregolarmente dominante » o « dominante con salto di generazioni » fu sottolineata da diversi autori: Lewis (1891); Kindred (1921), che pubblicò l'albero genealogico della propria famiglia esteso a quattro generazioni e con dieci casi di portatori della malformazione con frequenti salti di generazione; Stammers (1926); Catsh (1940); Connon (1941); Fox (1942); Miller (1950); Selkirk (1935); Whitney (1939), che notò in una famiglia personalmente studiata un salto di tre generazioni nella comparsa del carattere. Stiles (1945) prese in considerazione sette ceppi familiari con 38 casi della malforma-

zione, della quale confermò l'ereditarietà dominante e propose l'ipotesi di una penetranza bassa o comunque variabile, tenuto conto che in una famiglia osservata dallo stesso autore la malformazione — bilaterale — segregava con andamento strettamente dominante; anche nel ceppo familiare descritto da Starkenstein (1928) il carattere appariva regolarmente dominante.

Osservazioni e rilevazioni sul comportamento della FAC in coppie gemellari furono compiute da diversi autori: Quelprud (1940) segnalò su 5 coppie di gemelli MZ la concordanza, quanto alla presenza del carattere, in una sola coppia; McDonough (1941) segnalò una coppia di gemelli MZ discordante per la presenza della FAC bilaterale: i genitori erano sani e la malformazione comparve nei discendenti del gemello sano e non nei figli di quello affetto. Royk-Lewinsky (1900) prese in considerazione 115 coppie di gemelli MZ della popolazione di Berlino ed osservò una coppia concordante e 4 coppie discordanti per la presenza del carattere.

Quanto alla frequenza della malformazione si rilevano differenze ampiamente variabili nei vari gruppi etnici. Nella popolazione europea tale frequenza si aggira attorno all'1.5% secondo Gunther (1939) e Quelprud (1940), però sono state rilevate anche frequenze minori: 0.9% secondo Ewing (1946). Frequenze decisamente maggiori sono state invece osservate in popolazioni di colore: 4.5% nei Bantù del Nyasaland da Stannus (1940); 5.2% negli scolari negri degli USA da Selkirk (1935), mentre lo stesso autore riscontrò una frequenza dello 0.9% negli scolari bianchi dello stesso Stato; 10-14% nella popolazione di Hong-Kong da Ride (1935); 5-10% in tribù africane da Aird (1946); 4-6% in popolazioni orientali da Congdon (1932).

Quanto alla localizzazione mono- o bilaterale della FAC, in un lavoro riassuntivo di Waidelich (1960) si afferma che nel 72% di tutti i casi di FAC essa è monolaterale destra.

## 2. Materiale e Metodi

### 2.1. MATERIALE

Il campione di studio della presente ricerca è costituito da 321 soggetti portatori della FAC, individuati mediante esame clinico diretto degli alunni delle Scuole Elementari Comunali di Milano: complessivamente sono stati esaminati 29 309 individui, visitando quasi tutte le sedi scolastiche del Comune. Tenendo conto della omogeneità della distribuzione topografica delle Scuole visitate nel territorio comunale, del fatto che esse sono frequentate dalla grande maggioranza dei bambini in età scolare e del fatto che, per quanto consta, la malformazione non rappresenta un fattore selettivo, si può ritenere che il campione studiato sia rappresentativo della popolazione della città.

La popolazione di Milano è attualmente caratterizzata da un alto indice di mescolamento etnico, dovuto alla imponente immigrazione da diverse regioni italiane, con prevalenza di quelle meridionali; è stato anche effettuato un tentativo di distribuire gli individui affetti dalla malformazione a seconda della regione di provenienza dei genitori, nell'intento di valutare eventuali differenze nella frequenza della mal-

formazione sia pure fra grandi raggruppamenti etnici, per esempio fra le regioni settentrionali e quelle centro-meridionali. Questo tentativo tuttavia non ha potuto essere concretizzato per il frazionamento in numerosi gruppi di consistenza numerica irrilevante, cui il campione è sottoposto quando si operi la distribuzione sopra descritta, frazionamento dovuto appunto al fatto che praticamente non si trovano ceppi familiari « puri » dal punto di vista della provenienza regionale dei componenti, ceppi cioè nei quali non si innestino individui di diversa origine geografica.

I bambini riscontrati affetti dalla FAC costituiscono dunque altrettanti casi indice per ciascuno dei quali è stata effettuata, o per lo meno tentata, l'indagine genealogica. Il criterio che ha guidato quest'ultima è stato quello di costruire alberi genealogici relativamente ampi, estesi almeno a tre generazioni (quella dei casi indice, quella dei genitori e zii, quella dei nonni) e comprendenti, per la linea collaterale di consanguineità, anche le famiglie degli zii e delle zie del caso indice. Il fine di questo procedimento è stato quello di distinguere i casi sporadici veri e propri dai casi familiari isolati: per i primi, infatti, si pongono alternative etiologiche — neomutazioni, fenocopie, errori diagnostici, etc. — del tutto diverse rispetto ai secondi: mancata penetranza negli ascendenti; ovviamente quanto più estesa è l'indagine genealogica tanto maggiore è la probabilità che quello che poteva sembrare un caso sporadico di malformazione ad un esame preliminare, si ripeta in qualche componente della famiglia, rivelandosi quindi come caso familiare isolato, tanto più tenendo conto che, in definitiva, la penetranza del fattore è abbastanza alta.

Queste esigenze — del resto imprescindibili — hanno reso estremamente ardua l'indagine genealogica, perché ben difficilmente accade che tutte le famiglie di un ceppo siano residenti in Milano o in una sola città, sempre a motivo dell'alto indice di mescolamento della popolazione; in pratica sono state visitate di persona le famiglie residenti in Milano o in zone adiacenti, mentre per l'indagine delle numerosissime altre è stato preparato un questionario — illustrato quanto alla morfologia ed alla posizione della FAC — atto a rilevare la composizione della famiglia in esame e la presenza eventuale della malformazione nei suoi membri. Il questionario è stato inviato ai capi famiglia con preghiera di consultare il loro medico di fiducia prima di compilarlo. La mancanza di numerose risposte, la scarsa attendibilità o frammentarietà di altre, la mancata collaborazione di alcune famiglie residenti in Milano ed altri motivi contingenti, hanno limitato a 93 (su 321) il numero dei ceppi familiari completi, dotati però di una ottima attendibilità dei dati.

Un primo esame di tutti i casi indice e dei 93 ceppi familiari completi, porta alla necessità di definire alcuni termini e di effettuare alcune distribuzioni. Con il termine di « ceppi non segreganti » si intendono quei ceppi familiari nei quali non compaiono altri casi della malformazione oltre al caso indice, che deve essere inteso quindi come caso sporadico; conseguentemente i « ceppi segreganti » sono caratterizzati dalla presenza di « casi secondari » del carattere oltre al caso indice.

Nella Tab. I si presenta la distribuzione dei casi indice dei ceppi segreganti, dei casi indice dei ceppi non segreganti, dei casi indice totali e dei casi secondari a seconda del sesso e della sede della malformazione.

Tab. I. Distribuzione degli affetti da FAC per sesso e localizzazione

Individui esaminati	♂						♀					
	dx		sn		bilat.		dx		sn		bilat.	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Casi indice in genere	81	25.2	33	10.3	42	13.2	72	22.8	52	16.1	41	12.4
Casi indice studiati	24	25.8	10	10.7	13	13.9	20	21.7	14	15.0	12	12.8
Casi indice non segreganti	4	4.3	4	4.3	0	0.0	11	11.8	3	3.2	2	2.1
Casi secondari	52	30.0	17	9.8	18	11.0	59	34.3	16	9.3	10	5.6
Totale	133	26.7	50	10.2	60	12.3	131	26.6	68	13.8	51	10.4

Localizzazione dx: 264 (53.3%)

Localizzazione sn: 118 (24.0%)

Localizzazione bilat.: 111 (22.7%)

## 2.2. CONSIDERAZIONI TEORICHE CIRCA LA METODICA DI ACCERTAMENTO

La metodologia di indagine e di accertamento seguita è caratterizzata — da un punto di vista statistico teorico — dal fatto che sono stati indagati solo i ceppi familiari di individui affetti dalla malformazione e non le famiglie degli altri componenti sani della popolazione scolastica. Questo tipo di accertamento si definisce « incompleto troncato » perché evidentemente esclude la possibilità di avere notizie di quei ceppi familiari nei quali un solo membro — il bambino esaminato — è per qualche motivo sano, mentre la malformazione potrebbe essere presente in altri. Pertanto ogni caso indice, i suoi fratelli, sorelle ed i genitori, costituiscono una famiglia ad accertamento incompleto troncato. Nel corso dell'indagine genealogica compaiono però nei ceppi segreganti i casi secondari, che fanno parte di famiglie giunte all'osservazione per puro caso e non partendo da un loro componente sicuramente affetto: l'accertamento di queste famiglie si definisce « completo » perché appunto esclude la limitazione probabilistica caratteristica di quello incompleto troncato.

I due gruppi di famiglie esigono un trattamento statistico separato per una serie di ragioni teoriche e pratiche che si compendiano sostanzialmente nel fatto che le fratrie delle famiglie ad accertamento incompleto troncato, e specialmente quelle di piccola ampiezza, sono fortemente viziate dalla presenza obbligatoria di un membro sicuramente affetto, il caso indice.

Nella Tab. II si presenta la distribuzione delle fratrie di ampiezza determinata (valore *s*) e con un certo numero di figli affetti (valore *c*) derivanti da incroci fra un genitore affetto ed uno sano senza precisare il sesso del malato e del sano (incroci *M* × *S*) e da incroci fra due genitori sani (incroci *S* × *S*): gli incroci, e quindi le fratrie, sono suddivise a seconda del tipo di accertamento. Si noti come compaiano 69 famiglie ad accertamento incompleto troncato, mentre dovrebbero essere 93, ché tanti sono i casi indice con ceppo familiare completo: la differenza è data da 24 ceppi familiari non segreganti, nei quali cioè il caso indice si deve ritenere sporadico.

Tab. II. Distribuzione delle fratrie nei ceppi segreganti

Ampiezza s	Accertamento incompleto						Accertamento completo						Totali					
	incroci M×S			incroci S×S			incroci M×S			incroci S×S			incroci M×S			incroci S×S		
	n	n.s	c	n	n.s	c	n	n.s	c	n	n.s	c	n	n.s	c	n	n.s	c
1	9	9	9	4	4	4	9	9	3	3	3	3	18	18	12	7	7	7
2	33	66	34	3	6	5	19	38	17	3	6	3	52	104	51	6	12	8
3	15	45	20	1	3	2	11	33	13	3	9	3	26	78	33	4	12	5
4	2	8	3	0	0	0	8	32	11	0	0	0	10	40	14	0	0	0
5	0	0	0	0	0	0	4	20	7	0	0	0	4	20	7	0	0	0
6	1	6	2	0	0	0	3	18	8	0	0	0	4	24	10	0	0	0
7	0	0	0	1	7	1	2	14	3	0	0	0	2	14	3	1	7	1
8	0	0	0	0	0	0	3	24	5	0	0	0	3	24	5	0	0	0
9	0	0	0	0	0	0	2	18	5	0	0	9	2	18	5	0	0	0
Totale	60	134	68	9	20	12	61	206	72	9	18	9	121	340	140	18	38	21

s = ampiezza della fratria

n = numero delle fratrie

n.s = numero dei figli nelle fratrie di ampiezza "s"

c = numero dei figli affetti

## 2.3. TEORIA DEL METODO STATISTICO APPLICATO

Il metodo statistico applicato per lo studio della segregazione della FAC è sostanzialmente quello proposto da Smith (1955), al quale sono state apportate delle modificazioni atte a provare più direttamente la dominanza del carattere. L'impostazione del test di Smith si basa in sostanza sulla constatazione che non è statisticamente corretto verificare mediante un semplice test di significatività ( $\chi^2$ ) la concordanza fra le frequenze fenotipiche osservate fra i discendenti di un certo tipo di incrocio e quelle attese in base alla legge di Hardy-Weinberg. Il motivo che vizia questo procedimento è precisamente rappresentato dal fatto che i dati osservati in uno studio di questo genere non sono indipendenti, a causa dell'appartenenza di diverse fratrie ad un unico ceppo familiare; ciò determina un maggior peso delle differenze fra dati osservati e quelli teorici, e porta così a valori di « $\chi^2$ » erroneamente alti, tanto più quanto più ampi sono i ceppi familiari studiati. Ponendo, per esempio, che due ipotetici alleli autosomali G e g abbiano le frequenze  $G = p = 2/3$  e  $g = q = 1/3$ , tutti i genotipi possibili in una popolazione panmittica saranno, secondo la legge di Hardy-Weinberg:

$$GG = p^2 = 4/9; \quad Gg = 2pq = 4/9; \quad gg = q^2 = 1/9$$

Gli incroci fra individui di fenotipo  $G \times g$  possono corrispondere a due modelli teorici: (1)  $GG \times gg$  con frequenza  $(2 \cdot 4/9 \cdot 1/9) = 8/81$ , i cui discendenti sono tutti di genotipo Gg e quindi di fenotipo G; (2)  $Gg \times gg$  con la stessa frequenza  $(2 \cdot 4/9 \cdot 1/9)$

$g = 8/81$ ), i cui discendenti però sono per il 50% di genotipo Gg e quindi di fenotipo G e per il 50% di genotipo gg e quindi di fenotipo g. I due modelli teorici hanno dunque la stessa frequenza, eppure le frequenze fenotipiche attese nei discendenti sono molto differenti nell'uno rispetto all'altro. Considerando un certo numero di tali incroci — per esempio 4 — ed ammettendo che da ciascuno di essi derivi una fratria di 8 figli, la distribuzione teorica dei fenotipi nei 32 figli ottenuta in base alle formule di Hardy-Weinberg ed alla considerazione che i due modelli di incrocio sono equiprobabili, sarebbe:  $G = (32 + 16)/2 = 24$ ;  $g = 16/2 = 8$ . Secondo un certo valore di probabilità tutti i 4 incroci potrebbero essere del modello  $GG \times gg$  e pertanto tutti i 32 figli di fenotipo G, verificandosi così un disaccordo altamente significativo con la distribuzione teorica (24G; 8g), ma con la stessa probabilità tutti i 4 incroci potrebbero essere del tipo  $Gg \times gg$  e la distribuzione dei fenotipi nei figli 16G e 16g, prospettandosi un confronto fra le frequenze osservate e quelle attese diverso da quello precedente.

Secondo il test di Smith, invece, si distinguono anzitutto le famiglie con fenotipi parentali maschio sano  $\times$  femmina malata (oppure maschio malato  $\times$  femmina sana, che è lo stesso) e poi le famiglie con fenotipi parentali sano  $\times$  sano.

### 2.3.1. Famiglie con fenotipo parentale: malato $\times$ sano ( $F \times f$ )

Questi incroci possono corrispondere a due modelli teorici:  $FF \times ff$ , oppure  $Ff \times ff$ . In pratica questo secondo modello deve essere quello di gran lunga più frequente nel caso della FAC data la bassa frequenza del gene, tuttavia sarà sufficiente scartare tutte quelle fratrie nelle quali non vi siano figli recessivi, nelle quali cioè tutti i figli siano di genotipo Ff e quindi di fenotipo F, per essere certi di prendere in considerazione solo gli incroci fra un omozigote recessivo ed un eterozigote. Ora, dato l'incrocio  $Ff \times ff$  con fratrie di 2 figli, la distribuzione teorica dei fenotipi nei figli è:

$$2F = 1/4; \quad 1F \text{ e } 1f = 1/2; \quad 2f = 1/4$$

un rapporto cioè 1 : 2 : 1. Però, per le ragioni e per il fine sopra esposti, sono state scartate tutte le fratrie di tipo 2F, pertanto il rapporto teorico risulta troncato a: 1F e 1f = 2/3; 2f = 1/3 cioè a 2 : 1. Allora il numero atteso dei figli dominanti in una fratria di 2 figli derivante da un incrocio  $Ff \times ff$  è:

$$A_2 = 1 \cdot 2/3 = 2/3 = 0.667$$

e la sua varianza è:

$$V_2 = 1^2 \cdot 2/3 - (A_2)^2 = 1^2 \cdot 2/3 - 4/9 = 2/9 = 0.222.$$

Il numero atteso dei figli recessivi nella stessa fratria è:

$$a_2 = 1 \cdot 2/3 + 2 \cdot 1/3 = 4/3 = 1.333$$



cioè naturalmente il complemento a 2 di 0.667, e la sua varianza è:

$$v_2 = 1^2 \cdot 2/3 + 2^2 \cdot 1/3 - (a_2)^2 = 1^2 \cdot 2/3 + 2^2 \cdot 1/3 - 16/9 = 2/9 = 0.222$$

ovviamente uguale a quella relativa ai figli dominanti.

Passando alle fratrie di 3 figli, derivate dall'incrocio Ff × ff, si hanno i seguenti rapporti fenotipici teorici:

$$3F = 1; \quad 2F \text{ e } 1f = 3; \quad 1F \text{ e } 2f = 3; \quad 3f = 1.$$

Scartando le fratrie 3F, il rapporto risulta troncato a: (2F e 1f) = 3; (1F e 2f) = 3; (3f) = 1. Il numero atteso dei figli fenotipicamente dominanti in tale fratria risulta essere:

$$A_2 = 2 \cdot 3/7 + 1 \cdot 3/7 = 9/7 = 1.286$$

e la sua varianza:

$$V_2 = 2^2 \cdot 3/7 + 1^2 \cdot 3/7 - (A_2)^2 = 2^2 \cdot 3/7 + 1^2 \cdot 3/7 - 81/49 = 0.490.$$

Il numero atteso dei figli recessivi è il complemento a 3 di 1.286 oppure è calcolabile con la formula:

$$a_2 = 1 \cdot 3/7 + 2 \cdot 3/7 + 3 \cdot 1/7 = 12/7 = 1.714.$$

La varianza è sempre uguale, infatti:

$$v_2 = 1^2 \cdot 3/7 + 2^2 \cdot 3/7 + 3^2 \cdot 1/7 - (a_2)^2 = 1^2 \cdot 3/7 + 2^2 \cdot 3/7 + 3^2 \cdot 1/7 - 144/49 = 0.490.$$

Con lo stesso metodo si calcolano le frequenze attese dei figli dominanti (A), dei figli recessivi (a) e le loro varianze (v) in famiglie di ampiezza (c). Nella Tab. III sono riportati i valori di Ac, ac, e vc.

Come appare dalla descrizione, il metodo di Smith e la modificazione apportata consistono molto semplicemente nel calcolare i termini di sviluppo di una distribuzione binomiale troncata. Stabiliti questi principi, gli ulteriori procedimenti sono estremamente semplici. Si tabulano: il numero (n) delle fratrie di ampiezza (c) ed il numero complessivo (F) dei figli affetti dalla malformazione per ogni gruppo di fratrie di ampiezza (c); si confronta tale numero (F) con la frequenza attesa dei figli affetti per quel gruppo di fratrie: nell'ipotesi della dominanza tale frequenza attesa è data da:  $(n_c \cdot A_c)$ , eventualmente corretta per la penetranza  $(n_c \cdot A_c \cdot p)$ ; nell'ipotesi della recessività da:  $(n_c \cdot a_c)$ ; in entrambi i casi la varianza è data da  $(n_c \cdot v_c)$ . Si possono impostare singoli confronti per ogni valore di (c), cioè per ogni tipo di fratria, secondo la formula:

$$\chi^2 = [F - (n_c \cdot A_c \cdot p)]^2 / (n_c \cdot v_c)$$

con 1 gl per l'ipotesi della dominanza, oppure

$$\chi^2 = [F - (n_c \cdot a_c)]^2 / (n_c \cdot v_c)$$

con 1 gl per l'ipotesi della recessività. Si può anche verificare l'accordo generale per tutte le fratrie per l'ipotesi della dominanza:

$$\chi^2 = [\Sigma F - (\Sigma n_c \cdot A_c \cdot p)]^2 / (\Sigma n_c \cdot v_c)$$

con 1 gl, o per l'ipotesi della recessività:

$$\chi^2 = [\Sigma F - (\Sigma n_c \cdot a_c)]^2 / (\Sigma n_c \cdot v_c)$$

sempre con 1 gl.

### 2.3.2. Famiglie con fenotipo parentale: sano $\times$ sano

Questo incrocio non è teoricamente possibile se il carattere è dominante e se vi sono figli affetti nella fratria, a meno che la situazione fenotipica parentale non sia dovuta a difetto di penetranza del fattore in uno dei coniugi: infatti tali famiglie saranno usate proprio al fine di valutare preliminarmente la penetranza del carattere. Tuttavia si deve completare la verifica dell'ipotesi della recessività tenendo conto anche di queste situazioni. La metodologia tecnica è sempre quella della distribuzione binomiale troncata, cambiando ovviamente i termini. Ammettendo che il carattere sia recessivo, un incrocio « sano  $\times$  sano » può corrispondere a tre modelli genotipici: FF  $\times$  FF; Ff  $\times$  FF; Ff  $\times$  Ff; tuttavia, si possono scartare con sicurezza i primi due eliminando le fratrie in cui non compaiono figli di fenotipo recessivo. I rapporti fenotipici mendeliani per l'incrocio Ff  $\times$  Ff seguono i termini di sviluppo del binomio  $(3F + 1f)^n$ , dove (n) è l'ampiezza della fratria. Le fratrie di 2 figli quindi sono distribuite secondo i rapporti: (2F) = 9; (1F e 1f) = 6; (2f) = 1. Scartando le fratrie (2F), il rapporto è troncato a (1F e 1f) = 6; (2f) = 1. Il numero atteso dei recessivi in una fratria di 2 figli risulta pertanto essere:

$$r_2 = 1 \cdot 6/7 + 2 \cdot 1/7 = 8/7 = 1.142$$

e la sua varianza:

$$s_2 = 1^2 \cdot 6/7 + 2^2 \cdot 1/7 - (8/7)^2 = 6/49 = 0.122.$$

Con lo stesso metodo si calcolano i valori (r) e (s) per fratrie di ampiezza (c): tali valori sono tabulati nella Tab. III. I successivi calcoli e confronti sono gli stessi descritti per gli incroci (sano  $\times$  malato).

Tab. III. Valori attesi nelle fratrie di ampiezza (c)

c	$a_{(c)}$	$A_{(c)}$	$v_{(c)}$	$r_{(c)}$	$s_{(c)}$
2	1.333	0.667	0.222	1.143	0.122
3	1.714	1.286	0.490	1.297	0.263
4	2.133	1.867	0.782	1.463	0.420
5	2.581	2.419	1.082	1.639	0.592
6	3.048	2.952	1.379	1.825	0.776
7	3.528	3.472	1.667	2.020	0.970
8	4.016	3.984	1.945	2.223	1.172
9	4.509	4.491	2.215	2.433	1.380

### 3. Risultati

#### *Applicazione dei modelli statistici al materiale in esame*

##### 3.1. OSSERVAZIONI PRELIMINARI

In tutte le ricerche apparse in letteratura sulla FAC il carattere viene costantemente classificato come « dominante irregolare » o « dominante con salto di generazioni » o, con maggior precisione, « dominante con difetto di penetranza ». Non sembra però — come è stato rilevato altrove — che sia mai stata condotta finora una vera e propria ricerca di genetica formale al fine di dimostrare con una metodologia obiettiva quella che viene perlopiù espressa come un'impressione tratta da un'osservazione d'insieme di uno o più ceppi familiari. Da osservazioni di tal genere infatti si possono fare due rilevazioni fondamentali: in alcuni ceppi familiari o per qualche generazione di uno stesso ceppo, la malformazione si comporta come carattere strettamente dominante col passaggio diretto dai genitori ai figli, in altri ceppi o in altre famiglie si osserva un comportamento più tipico dei caratteri recessivi con salto di generazioni, comparsa di casi familiari isolati o, all'estremo, di casi sporadici. Lo studio dei gemelli non ha dato, per il limitato numero dei casi, delle informazioni utili allo scopo. Questa parte della presente ricerca — intesa cioè a dimostrare obiettivamente lo schema di trasmissione ereditaria della FAC — è stata condotta tenendo conto di tutte le informazioni che il materiale in esame e quello riportato in letteratura potevamo dare, e precisamente: (a) non vi sono differenze significative nella distribuzione del carattere nei due sessi, né per i casi indice ( $\chi^2 = 0.015$ ;  $P = 0.90$ ) né per quelli secondari ( $\chi^2 = 0.005$ ;  $P < 0.90$ ); (b) la localizzazione della fistola (destra o sinistra; mono- o bilaterale) non sembra avere un particolare significato, in quanto i diversi tipi di localizzazione sono contemporaneamente presenti nello stesso ceppo e la modalità di segregazione non appare assolutamente correlata con il tipo di localizzazione; (c) esistono, sia pure con bassa frequenza, degli incroci « sano  $\times$  sano » con figli affetti: questo schema di incrocio non è teoricamente compatibile con l'ipotesi della dominanza, a meno che non intervenga un difetto di penetranza del carattere; (d) invero l'impressione generale è quella di una segregazione dominante in certi ceppi davvero stretta; (e) esiste un certo numero di casi sporadici difficilmente spiegabili con il difetto di penetranza, data l'ampiezza dei ceppi familiari cui appartengono e dato l'effettivo valore di penetranza del carattere. Sulla base di queste considerazioni questa ricerca è stata condotta partendo anzitutto dal presupposto che il fattore cui la malformazione è correlata sia monomero autosomale, ed in secondo luogo prendendo in considerazione sia l'ipotesi della dominanza con un certo difetto di penetranza, sia anche l'ipotesi della recessività. Entrambe le ipotesi sono state verificate separatamente per le famiglie ad accertamento incompleto e per quelle ad accertamento completo.

## 3.2. VALUTAZIONE DELLA PENETRANZA

La valutazione preliminare della penetranza è stata effettuata rapportando il numero totale degli incroci con almeno un figlio affetto a quello degli incroci « sano  $\times$  sano » con almeno un figlio affetto. Precisamente tenendo conto che vi sono in totale 128 incroci con almeno un figlio affetto, e di essi 17 avvengono fra due soggetti fenotipicamente sani, si deve ammettere che in un coniuge per ciascuna delle 17 coppie il carattere non sia penetrato. Il rapporto  $17/128 = 0.13$  indica pertanto l'entità del difetto di penetranza. Per differenza ( $1 - 0.13$ ) è stata valutata la penetranza del carattere arrotondandola a 0.85.

## 3.3. ANALISI E RISULTATI SULLO SCHEMA DI TRASMISSIONE DEL CARATTERE

Nella Tab. IV sono presentati i calcoli eseguiti per verificare l'ipotesi della dominanza per le famiglie ad accertamento completo: la Tabella è costruita tabulando il numero osservato e quello atteso di figli affetti per ogni tipo di fratria e per una penetranza dell'85% del fattore. I valori di  $\chi^2$  ed i corrispondenti valori di P mostrano un ottimo accordo sia generale per tutti i tipi di fratria, sia singolarmente per ciascuno di essi: i modesti disaccordi che si osservano per le fratrie di ampiezza 2 e 8 debbono intendersi dovuti al loro numero non elevato tanto più che sono conseguenti a deviazioni di senso opposto.

Nella Tab. V sono riportati i calcoli analoghi eseguiti per le famiglie ad accerta-

Tab. IV. Verifica dell'ipotesi di dominanza. Famiglie ad accertamento completo

c	nc	F	nc . A <sub>e</sub>	nc . A <sub>e</sub> . p	nc . v <sub>e</sub>	$\chi^2$	P
2	18	15	12.01	10.21	3.99	5.750	0.02 — 0.01
3	11	13	14.15	12.03	5.39	0.175	0.95 — 0.90
4	8	11	14.94	12.70	6.26	0.462	0.50 — 0.30
5	4	7	9.68	8.23	4.33	0.349	0.70 — 0.50
6	3	8	8.86	7.53	4.14	0.053	0.95 — 0.90
7	2	3	6.94	5.90	3.33	2.526	0.20 — 0.10
8	3	5	11.95	10.15	5.83	4.549	0.05 — 0.02
9	2	5	8.98	7.63	4.43	1.561	0.30 — 0.20
Totali	51	67	87.51	74.38	37.71	1.444	0.30 — 0.20

c = grandezza della fratria

nc = numero delle fratrie di grandezza (c)

nc . A<sub>e</sub> = numero atteso dei figli affetti

F = numero osservato dei figli affetti

nc . A<sub>e</sub> . p = numero atteso dei figli affetti corretto per la penetranza

nc . v<sub>e</sub> = varianza

Tab. V. Verifica dell'ipotesi di dominanza. Famiglie ad accertamento incompleto

c	nc	F	nc . A <sub>c</sub>	nc . A <sub>c</sub> . p	nc . v <sub>c</sub>	χ <sup>2</sup>	P
3	14	17	18.01	15.31	6.86	0.416	0.70 — 0.50
4	2	3	3.73	3.17	1.56	0.018	0.95 — 0.90
6	1	2	2.95	2.51	1.38	0.188	0.70 — 0.50
Totali	17	22	24.69	20.99	9.80	0.104	0.80 — 0.70

c = grandezza della fratria  
 nc = numero delle fratrie di grandezza c  
 F = numero osservato dei figli affetti  
 nc . A<sub>c</sub> = numero atteso dei figli affetti  
 nc . A<sub>c</sub> . p = numero atteso dei figli affetti corretto per la penetranza  
 nc . v<sub>c</sub> = varianza

mento incompleto: l'accordo sia totale sia parziale fra le frequenze attese e quelle osservate è ottimo. In questa Tabella non sono state prese in considerazione le fratrie con due figli perché, come è stato detto precedentemente, esse sono fortemente viziate dalla presenza obbligatoria di un figlio affetto. L'entità di tale vizio statistico appare nella Tab. VI, dove sono considerati tutti gli incroci « malato × sano » sia ad accertamento completo sia incompleto. Per le fratrie di ampiezza 2 si nota un disaccordo altamente significativo fra le frequenze attese e quelle osservate dei figli affetti, disaccordo dovuto appunto ad un eccesso di figli affetti nel materiale in esame. Tuttavia questo eccesso verrebbe evidentemente compensato perché l'accordo gene-

Tab. VI. Verifica dell'ipotesi di dominanza. Totale delle famiglie

c	nc	F	Fr. att.	Fr. att. corr.	V	χ <sup>2</sup>	P
2	52	51	34.68	29.48	11.54	40.131	— 0.001
3	26	33	33.44	28.42	12.74	1.646	0.20 — 0.10
4	10	14	18.67	15.87	7.82	0.447	0.70 — 0.50
5	4	7	9.67	8.22	4.33	0.344	0.70 — 0.50
6	4	10	11.81	10.04	5.52	0.001	+ 0.95
7	2	3	6.94	5.89	3.33	2.508	0.20 — 0.10
8	3	5	11.95	10.15	5.83	4.549	0.05 — 0.02
9	2	5	8.98	7.63	4.43	1.561	0.30 — 0.20
Totale'	103	128	138.15	115.71	55.54	2.718	= 0.10
Totale''	69	92	113.48	96.44	48.03	0.410	0.70 — 0.50

Totale': comprese le fratrie di ampiezza 2, ad accertamento incompleto

Totale'': escluse le fratrie di ampiezza 2, ad accertamento incompleto

Tab. VII. Verifica dell'ipotesi di recessività. Incroci M × S

c	nc	F	nc . r <sub>e</sub>	nc . s <sub>c</sub>	χ <sup>2</sup>	P
Accertamento completo						
2	18	15	23.99	3.99	14.995	— 0.001
3	11	13	18.85	5.39	6.349	0.02 — 0.01
4	8	11	17.06	6.26	5.866	0.05 — 0.02
5	4	7	10.32	4.33	2.545	0.20 — 0.10
6	3	8	9.14	4.14	0.040	0.95 — 0.90
7	2	3	7.05	3.33	4.925	0.05 — 0.02
8	3	5	12.05	5.83	8.525	0.01 — 0.001
9	2	5	9.02	4.43	3.648	0.10 — 0.05
Totali	51	67	107.50	37.71	43.496	— 0.001
Accertamento incompleto						
2	30	28	39.99	6.66	21.585	— 0.001
3	14	17	23.99	6.86	7.122	0.01 — 0.001
4	2	3	4.27	1.56	1.033	0.30 — 0.20
6	1	2	3.05	1.38	0.798	0.50 — 0.30
Totali	47	50	71.30	16.46	27.563	— 0.001

c = grandezza della fratria  
nc = numero delle fratric di grandezza c  
F = numero osservato dei figli affetti  
nc . r<sub>e</sub> = numero atteso dei figli affetti  
nc . s<sub>c</sub> = varianza

rale — Totale' — è buono; il Totale'' si riferisce allo stesso materiale, essendo state detratte però le fratric ad accertamento incompleto di ampiezza 2.

Nella Tab. VII si riportano i dati relativi alla verifica dell'ipotesi della recessività per gli incroci « malato × sano » ad accertamento completo ed incompleto: in entrambi i casi si osserva un disaccordo altamente significativo sia generale che parziale.

Nella Tab. VIII si riportano invece i dati analoghi relativi agli incroci « sano × sano »: per sé non si osserva un disaccordo — almeno generale — fra le due frequenze, tuttavia l'esiguo numero di fratric e soprattutto i risultati emersi dalle due Tabelle precedenti non consentono di dare conferma all'ipotesi della recessività.

#### 3.4. ANALISI E RISULTATI SULLA FREQUENZA FENOTIPICA E GENICA DEL CARATTERE

La frequenza fenotipica della malformazione risulta, nel presente materiale, uguale a 1.09%. Fra i 93 casi indice per i quali è stato possibile raccogliere notizie genealogiche complete, sono risultati, com'è noto, 24 casi sporadici pari al 25.7%; tuttavia,

Tab. VIII. Verifica dell'ipotesi di recessività. Incroci S × S

c	nc	F	nc . r <sub>e</sub>	nc . s <sub>e</sub>	χ <sup>2</sup>	P
Accertamento incompleto						
2	3	5	3.43	0.366	6.735	0.01 — 0.001
3	1	2	1.30	0.263	1.863	0.20 — 0.10
7	1	1	2.02	0.970	1.072	0.30 — 0.20
Totali	5	8	6.74	1.599	0.993	0.50 — 0.30
Accertamento completo						
2	3	3	3.43	0.366	0.503	0.50 — 0.30
3	3	3	3.89	0.789	1.010	0.50 — 0.30
Totali	6	6	7.32	1.155	1.498	0.30 — 0.20

c = grandezza della fratria  
nc = numero delle fratrie di grandezza c  
F = numero osservato dei figli affetti  
nc . r<sub>e</sub> = numero atteso dei figli affetti  
nc . s<sub>e</sub> = varianza

tenendo conto della non completa penetranza del carattere, sui 93 casi indice in esame ci si aspettano già teoricamente circa 14 casi familiari isolati (figli di genitori sani); riducendo a circa 10 questi casi di FAC vera e propria, solo apparentemente sporadici per una mancata penetranza del carattere non solo nei genitori, ma anche nei nonni, restano 14/93, cioè il 15% circa di casi davvero sporadici, interpretabili per una minima parte come neo-mutazioni, ma quasi sempre come fenocopie o errori diagnostici. Detraendo dal totale dei casi osservati quelli presumibilmente interpretabili come fenocopie, la frequenza fenotipica del carattere sarebbe ridotta all'1.0% circa. Questa così bassa frequenza permette di identificare tutti i portatori della malformazione come genotipicamente eterozigoti (Ff): secondo le leggi dell'equilibrio panmittico la frequenza degli eterozigoti è uguale a 2pq, dove p = F è la frequenza dell'allele che condiziona la presenza della malformazione ed è un numero molto piccolo, e q = f è la frequenza dell'allele normale ed è un numero molto prossimo all'unità. L'espressione « 2Ff » si può pertanto ragionevolmente tradurre in « 2F · 1 » cioè in 2F, che starebbe a significare che la frequenza del gene per la FAC è circa uguale alla metà della sua frequenza fenotipica, cioè allo 0.5%. Ovviamente queste sono stime approssimative che potrebbero essere corrette da osservazioni su materiali ancora più ampi, ma soprattutto da un maggior numero di generazioni per i singoli ceppi familiari: per esempio l'osservazione dei figli dei casi indice della presente ricerca fornirebbe notizie utili per il riconoscimento delle neomutazioni.

#### 4. Conclusioni

Nel campione esaminato della popolazione scolastica milanese, la FAC ha una frequenza fenotipica dell'1.0% circa, in accordo quindi — in linea di massima — con quanto è stato calcolato da altri autori per la razza bianca. Tale valore di frequenza si deve ritenere riferito alla malformazione vera e propria geneticamente controllata, essendo state scartate le probabili fenocopie, la cui frequenza si avvicina al 15% dei casi totali diagnosticati come FAC.

La frequenza del fattore per la malformazione è valutabile a circa 0.5%. Questi dati tuttavia sono suscettibili di modifiche — del resto lievi — qualora si riuscisse a calcolare la frequenza delle neomutazioni e quindi distinguere i casi veri e propri di fenocopia.

Il carattere si trasmette come monomero autosomico dominante con un alto valore di penetranza, circa l'85%.

Il metodo di Smith, opportunamente modificato al fine di dimostrare più direttamente la dominanza del carattere, si è dimostrato atto allo scopo, sufficientemente sensibile e di facile applicabilità: esso quindi può essere utilmente impiegato anche per lo studio di altri caratteri.

Lo studio genetico formale della FAC, di questa piccola malformazione di scarso rilievo clinico, costituisce tuttavia un esempio delle difficoltà che si possono incontrare in ricerche di questo genere e può forse apportare un contributo alla soluzione di altri problemi analoghi, relativi però a caratteri ereditari di maggior importanza pratica. Gravi difficoltà infatti si incontrano già al momento dell'accertamento diagnostico e soprattutto dell'indagine genealogica: per il primo punto riveste una grande importanza l'esattezza della diagnosi e per contro determina difficoltà notevoli il mancato riconoscimento di individui affetti dal carattere in causa e, ancora più gravi, una diagnosi erroneamente positiva; per il secondo punto si deve essere assolutamente certi che l'indagine genealogica sia rigorosamente condotta, preferibilmente per visione diretta delle singole famiglie o anche, con molto criterio, per interrogazione indiretta mediante questionari. I modelli statistici teorici debbono essere applicati ad un materiale specifico, generalmente diverso da quello sul quale furono costruiti; pertanto si rende a volte necessario apportare delle modifiche che ne rendano possibile l'applicazione. Oltre a ciò resta il fatto che queste ed altre difficoltà contingenti determinate dalla particolare natura del campione di studio possono presentarsi ad ogni momento della ricerca e debbono essere adeguatamente risolte a quella specifica ricerca ed a quel determinato campione: sembra pertanto utile che studi di questo genere siano preceduti da una indagine pilota che ne ponga in luce gli eventuali ostacoli e permetta quindi di risolverli tempestivamente, al fine di evitare, una volta raccolto il materiale, vizi di accertamento e di selezione che ne rendano illecita ogni ulteriore elaborazione.



### Riassunto

La ricerca è stata condotta su un campione costituito da 29 309 alunni delle Scuole Elementari Comunali di Milano. Fra di essi sono stati individuati 321 portatori di fistula auris congenita. Di 93 individui è stato possibile costruire l'albero genealogico esteso a tre generazioni e comprendente, per la linea collaterale di consanguineità, anche le famiglie degli zii dei probandi. Il modello di segregazione del carattere, provato mediante il test di Smith modificato, si è dimostrato essere monomero autosomico dominante con una penetranza dell'85%. La frequenza fenotipica della malformazione geneticamente controllata, escluse cioè le probabili fenocopie, è dell'1%. La frequenza genica è valutabile a circa 0.5%.

### Bibliografia

- AIRD J. (1946). Ear pit (congenital aural and preauricular fistulae). *Edin. Med. J.*, **53**: 498.
- BECKER P. E. (1964). *Humangenetik*. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- CATSCH A. (1940). Korrelationspathologische Untersuchungen. 3. Die Fibrae medullares retinae des Menschen. Klinische erb- und konstitutionspathologische Untersuchungen. *Z. Menschl. Vererb. Konstitutionsl.*, **24**: 59.
- CITELLI S. (1948). *Malattie dell'Orecchio*. UTET, Torino.
- GONGDON E. D., ROWHANAVONGSE S., VARAMISARA P. (1932). Human congenital auricular and juxta-auricular fossae, sinuses and sears. *Amer. J. Anat.*, **51**: 439.
- CONNON F. E. (1941). Inheritance of ear pits in six generations of a family. *J. Hered.*, **32**: 413.
- EDMONDS H. W., KEELER C. E. (1940). Natural "Ear-ring" holes. *J. Hered.*, **31**: 507.
- EWONG M. R. (1946). Congenital sinuses of external ear. *J. Laryng.*, **61**: 18.
- FOX M. S. (1942). Congenital aural fistula. *Arch. Otolaryng.*, **35**: 431.
- GATES R. R. (1946). *Human Genetics*. The Macmillan Co., New York.
- GEDDA L. (1951). *Studio dei Gemelli*. Ed. Orizzonte Medico, Roma.
- GIANFERRARI L. (1944). Sulla trasmissione ereditaria della "Fistula auris congenita". *Natura*, **35**: 73.
- GOLDENHAR M. (1952). Associations malformatives de l'oeil et de l'oreille: en particulier le syndrome dermoïde épibulbaire, appendices auriculaires, fistula auris congenita et ses relations avec la dysostose mandibulofaciale. *J. Genet. Hum.*, **1**: 243.
- GUNTHER R. (1939). Anomalien und Anomaliekomplexe in der Gegend des ersten Schlundbogens. *Z. Menschl. Vererb. Konstitutionsl.*, **23**: 43.
- HEUSINGER (1864). Hals-Kiemen-Fisteln von noch nicht beobachteter Form. *Virchow Arch. Path. Anat.*, **29**: 338.
- KINDRED J. E. (1921). Inheritance of a pit in the skin of the left ear. *J. Hered.*, **12**: 366.
- LEWIS F. P. (1891). A peculiar inherited ear mark; fistula auris congenita. *J. Ophthal. Otolaryng.* (Chicago), **3**: 14.
- MC DONOUGH E. A. (1941). On the inheritance of ear pit with special reference to twins. *J. Hered.*, **5**: 169.
- (1941). On the inheritance of ear pit. *J. Hered.*, **32**: 169.
- MILLER J. B. (1957). Branchial cleft cystis, fistulae and appendages. *Laryngoscope* (St. Louis), **67**: 1123.
- (1950). Fistula auris congenita. *Arch. Otolaryng.*, **51**: 219.
- MONIE J. W. (1950). Three pedigrees of congenital auricular sinus. *J. Hered.*, **41**: 245.
- MORTON N. E. (1959). Genetic test under incomplete ascertainment. *Amer. J. Hum. Genet.*, **11**: 1.
- PIPKIN A. C., PIPKIN S. B. (1943). Ear pits and albinism in a negro family. *J. Hered.*, **34**: 240.
- PIRES DE LIMA J. A., MONTEIRO H. B. (1923). Aparelho branquial e suas perturbações evolutivas. *Arch. Anat. Antr.*, **8**: 185.

- QUELPRUD T. (1940). Ear pits and its inheritance. *Fistula auris congenita* described in 1864, still a genetical and embriological puzzle. *J. Hered.*, **31**: 379.
- RIDE J. (1935). Diskussionbemerkung in Bericht über die II. Versammlung der Internationalen Föderation Eugenischer Organisationen. 1934, Zurich. *Arch. Klaus Stift. Vererbungsforsch.*, **10**: 42.
- ROYK-LEWINSKY. Cit. Quelprud.
- SELKIRK T. K. (1935). *Fistula auris congenita*. *Amer. J. Dis. Child.*, **49**: 431.
- STAMMERS F. A. R. (1926). Pre-auricular fistules. *Brit. J. Surg.*, **14**: 359.
- SMITH C. A. B. (1955). A test for segregation ratios in family data. *Amer. J. Hum. Genet.*, **20**: 257.
- STANNUS H. S. (1940). Congenital anomalies in a native African race. *Biometrika*, **10**: 1.
- STARKENSTEIN E. (1928). Über die Vererbung einer branchiogenen Fistel. *Med. Klin.*, **24**: 701.
- STILES K. A. (1945). The inheritance of pitted ear. *J. Hered.*, **36**: 53.
- TESTUT L. (1949). *Anatomia Umana*. UTET, Torino.
- WAIDELICH E. (1960). Die Anthropogenetik der menschl. Ohrmuschel. Inaug. Diss., Tübingen.
- WHINNEY D. D. (1939). Three generations of ear pits. *J. Hered.*, **30**: 323.

### SUMMARY

A research has been carried out on a sample of 29.309 Milan school children. Among them, 321 carriers of congenital aural fistula (FAC) have been found. Pedigrees could be drawn in 93 cases, covering three generations and including as collateral branches families of uncles and aunts. According to Smith's test (modified) the trait appears to be inherited as an autosomal dominant, with a penetrance of 85%. The phenotypical frequency (genetically controlled, i.e. excluding phenocopies) is of 1%, while the gene frequency may be estimated around 0.5%.

### RÉSUMÉ

Une recherche a été conduite sur un échantillon des 29.309 élèves des écoles primaires de Milan. Parmi eux, 321 conducteurs de fistula auris congenita (FAC) ont été individués. En 93 cas, il a été possible de construire l'arbre généalogique sur trois générations, incluant, en ligne collatérale, les familles des oncles et tantes. D'après le test de Smith modifié, le caractère paraît se transmettre en dominant autosomique, avec une pénétrance de 85%. La fréquence phénotypique (contrôlée génétiquement, c'est-à-dire excluant les phénoopies) est de 1%, tandis que la fréquence génique peut être évaluée à environ 0.5%.

### ZUSAMMENFASSUNG

Die Untersuchung wurde an einer Mustergruppe von 29309 Schülern der Städtischen Volksschulen in Mailand vorgenommen. Darunter wurden 321 Kinder gefunden, die eine angeborene *Fistula auris* hatten. Bei 93 konnte ein Stammbaum über drei Generationen aufgestellt werden, der in der Nebenlinie der Blutsverwandtschaft auch die Familien der Onkel und Tanten der Probanden umfasste. Mittels des etwas abgeänderten Tests nach Smith konnte man feststellen, dass das Segregationsmodell des Merkmals monomer, autosom und mit einer 85%igen Penetranz dominant ist. Das phänotypische Vorkommen — d.h. eventuelle Phänokopien ausgeschlossen — der erbbedingten Missbildung beträgt 1%. Die Genfrequenz lässt sich mit ca. 0.5% bewerten.

Prof. V. Gualandri, Centro di Studi di Genetica Umana, Università di Milano, Italia.

---