

# Caracterización citogenética y molecular de una paciente ecuatoriana con cromosoma 4 en anillo: análisis clínico comparativo con 37 casos internacionales

Ana Proaño <sup>(1)</sup> Paola E. Leone <sup>(1)</sup> Ma. Eugenia Sánchez <sup>(1)</sup> Stella D. Verdezoto <sup>(1)</sup> Juan Luis García <sup>(2)</sup>  
 Jesús María Hernández <sup>(2)</sup> César Paz-y-Miño <sup>(1)</sup>



Este artículo está bajo una licencia de Creative Commons de tipo Reconocimiento - No comercial - Sin obras derivadas 4.0 International

1 Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de las Américas. Quito, Ecuador.  
 2 Instituto de Investigación Biomédica de Salamanca - Instituto de Estudios de Ciencias de Salud de Castilla y León. Salamanca, España.

## Correspondencia:

César Paz-y-Miño, M.D. Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de las Américas. José Queri S/N y Av Granados, Bloque 5, 2° piso. Quito. Tel. 3970073 Fax. 3340229  
 E-mail: cesar.pazymino@udla.edu.ec

Recibido: 10 - Julio - 2014

Aceptado: 06 - Noviembre - 2014

**Palabras clave:** Cromosomas en anillo, Cromosoma 4, Cariotipo, Hibridación in situ fluorescente (FISH), Arrays de ADN, Reporte de caso, Revisión.

## Forma de citar este artículo:

Proaño A, Leone PE, Sánchez ME, Verdezoto SD, García JL, Hernández JM, Paz-y-Miño C. Caracterización citogenética y molecular de una paciente ecuatoriana con cromosoma 4 en anillo: análisis clínico comparativo con 37 casos internacionales. Rev Med Vozandes 2014; 25: 7 - 22

## Resumen

### Contexto

Los cromosomas en anillo son alteraciones genéticas muy inusuales, consecuencia de deleciones en las regiones terminales y de la unión de los extremos expuestos del cromosoma afectado. En un cromosoma 4 en anillo las regiones que con más frecuencia se afectan son 4p16.3 del brazo corto y 4q35.2 del brazo largo.

### Sujeto y métodos

Se presenta el caso de una paciente con cromosoma 4 en anillo diagnosticado cuando tenía diez días de edad. Al examen clínico presentó dismorfogénesis importante: frente plana, nariz puntiforme, implantación baja de pabellones auriculares, clinodactilia del quinto dedo, microcefalia, micrognatia, un orificio en la región lumbosacra, estatura baja y retardo mental leve. A los 10 años de edad se le realizó una evaluación citogenética con técnicas más modernas: hibridación in situ fluorescente (FISH) y mapeo genético por arrays de ADN. El fenotipo de la paciente fue comparado con 37 casos reportados en la literatura internacional.

### Resultados

En el análisis clínico de la paciente y los 37 casos internacionales se encontró alrededor de 41 características clínicas diferentes y variables en cada sujeto. Las más frecuentes fueron retraso en el crecimiento (78%), microcefalia (67%), retardo mental (62%), bajo peso al nacer (48%), clinodactilia del quinto dedo (37%), micrognatia (29%), hipertelorismo (21%) y alguna cardiopatía (18%). El estudio citogenético de la paciente a los diez días de edad mostró un cariotipo en mosaico 46,XX/46,XX,r(4) con anillo del cromosoma 4 en el 80% de las metafases. A los diez años de edad se encontró r(4) en el 90% de las células. El análisis por FISH reveló un cariotipo 46,XX,r(4).ish r(4)(p16.3q35.2)(492870-793359-,190183811-190408149-). Los arrays evidenciaron las regiones de pérdida de los brazos cortos y largos del cromosoma 4 involucrados en la formación del anillo. Los genes que con seguridad inciden en el fenotipo de la paciente en estudio son LETM1, WHSC1, WHSC2, MIR943, TACC3, IDUA, C4orf48 para retardo mental; LETM1 y WHSC1 para microcefalia y KIAA1530 para retraso en el crecimiento.

### Conclusión

El progreso en el diagnóstico genético a través de los hallazgos clínicos, citogenéticos y moleculares, ha permitido un mejor entendimiento de los síndromes genéticos. Las reestructuraciones cromosómicas que dan lugar a un cromosoma 4 en anillo presentan un patrón similar en relación a la pérdida de las regiones teloméricas y su posterior rearreglo; sin embargo el fenotipo de los pacientes es muy variado. Este trabajo es una nueva contribución a la ciencia, porque es el primer estudio que reporta una paciente ecuatoriana con cromosoma 4 en anillo aplicando técnicas citogenéticas y moleculares avanzadas para comprender el comportamiento clínico y la base genética de esta rara patología.

## Abstract

### Cytogenetic and molecular characterization of an Ecuadorian patient with ring chromosome 4: Comparative clinical analysis with 37 international cases

**Keywords:**

Ring chromosomes, Chromosome 4, Karyotype, FISH Technique, DNA microarrays, Case report, Review.

#### Context

Ring chromosomes are rare chromosomal structure abnormalities; they are formed when a chromosomal deletion leads to the fusion of both ends of the chromosome. The most frequent altered regions in ring chromosome 4 are 4p16.3 in short arm and 4q35.2 in long arm.

#### Subject and methods

Here we report a 10 days old female patient whose first cytogenetic diagnosis showed a ring chromosome 4. Clinical examination showed congenital abnormalities including flattened forehead, prominent nose, low set ears, clinodactyly of the fifth finger, microcephaly, micrognathia, small sacrococcygeal dimple, short stature and mild mental retardation. At the aged of ten fluorescence in situ hybridization (FISH) and DNA microarrays were performed. Finally, patient phenotype was compared with other 37 cases reported in the literature.

#### Results

The clinical analysis between the patient and the 37 cases reported showed about 41 different clinical features that vary between each individual. The most frequent features were growth retardation (78%), microcephaly (67%), mental retardation (62%), short stature at birth (48%), clinodactyly of the fifth finger (37%), micrognathia (29%), hypertelorism (21%) and some type of cardiopathy (18%). Chromosome analysis of the patient at 10 days old appeared as a chromosomal mosaicism 46,XX/46,XX,r(4), with ring chromosome 4 in 80% of the metaphases analyzed. At 10 years old of the patient it was observed r(4) in 90% of the cells. FISH analysis showed a karyotype 46,XX,r(4).ish r(4)(p16.3q35.2)(492870-793359-,190183811-190408149-). The arrays showed deleted regions at the short and long arms of chromosome 4 involved in the formation of ring chromosome. The genes that are manifested in the patient phenotype are LETM1, WHSC1, WHSC2, MIR943, TACC3, IDUA, C4orf48 for mental retardation; LETM1 y WHSC1 for microcephaly and KIAA1530 for growth retardation.

#### Conclusion

The progress in genetic diagnosis using clinical, cytogenetic and molecular tools has allowed a better understanding of genetic syndromes. Chromosomal rearrangements leading the formation of a ring chromosome 4 showed a similar pattern as the loss of telomeric regions and subsequent fusion of the breaking points; however the phenotype of patients varies widely. This work is a new contribution to science because this study is the first report of an Ecuadorian patient with a ring chromosome 4 which took into account several molecular and cytogenetic analyses. The findings will help to gain a better understanding of the clinical behavior and genetic basis.

## Introducción

Los cromosomas en anillo son considerados una anomalía genética rara en los seres humanos<sup>[1-3]</sup>, que se producen por varios mecanismos citogenéticos como: roturas en un brazo del cromosoma seguido de una fusión de esa porción terminal con la región telomérica opuesta, roturas en un brazo del cromosoma seguido de una unión de esa porción terminal con la región subtelo mérica opuesta, fusión de las dos regiones teloméricas opuestas o fusión entre las dos regiones subtelo méricas opuestas<sup>[4-7]</sup>; provocando pérdida del material genético y fenotipos alterados. El fenotipo general de esta alteración genética muestra retardo en el crecimiento y microcefalia; en algunos casos se reporta implantación baja de pabellones auriculares, nariz puntiforme, micrognatia, pliegues epicánticos, paladar hendido, clinodactilia, cifosis, escoliosis, orificio en la región lumbosacra y disminución del tono muscular; adicionalmente, los pacientes pueden presentar retardo mental<sup>[8-44]</sup>. Desde 1969, se han reportado alrededor del mundo aproximadamente 37 casos de cromosoma 4 en anillo<sup>[8-44]</sup>, lo que la hace una alteración de interés investigativo.

A continuación se presenta el caso de una paciente que acudió a la consulta por dos ocasiones (a los diez días y diez años de edad) y se le realizó una evaluación clínico-genética, empleando en su segundo control técnicas más modernas: hibridación in situ fluorescente (FISH) y mapeo genético por arrays. Además, se compara su fenotipo con las características clínicas descritas en los casos de cromosoma 4 en anillo reportados internacionalmente.

## Sujeto y métodos

### Presentación del caso en estudio

El sujeto de estudio fue una paciente femenina de diez años de edad, producto de una tercera gestación, de padres sanos sin anomalías conocidas. La madre -aparentemente sana- presentó amenaza de aborto e infección a las vías urinarias en el primer trimestre de embarazo. El resto de antecedentes familiares no fué de interés genético.

La paciente nació por cesárea a las 40 semanas de gestación, con un APGAR de 8-9; talla 47 cm, perímetro cefálico 32 cm y peso 2940 gr. Presentó adecuada succión, tolerancia gástrica y llanto fuerte. Evidenció dismorfogénesis importante: frente plana, nariz puntiforme, implantación baja de las orejas, clinodactilia de la quinta falange, microcefalia, micrognatia y un orificio de 0.5 mm en la región lumbosacra), estatura baja y retardo mental leve. A los diez días se le evaluó por primera vez citogenéticamente, revelándose un anillo del cromosoma 4 en el 80% de las metafases analizadas y la línea normal de 46 cromosomas en el 20% restante. A los ocho meses de edad se le realizó una resonancia magnética contrastada de columna lumbar y se encontró un pequeño trayecto fistuloso que comunicaba la piel de la región sacra con la punta del coxis; no hubo presencia de lipoma, médula anclada, ni meningocele. A los dos años de edad se le realizó una tomografía simple y tridimensional de encéfalo, en donde no se evidenciaron anomalías.



**Foto1. Paciente de estudio.** Izquierda: Paciente a los diez días de edad. En la imagen inferior se observa el orificio en la región lumbosacra. Centro y Derecha: Paciente en la actualidad (diez años de edad), vista frontal y lateral, en donde se observa microcefalia, frente aplanada, implantación baja de las orejas, nariz puntiforme y micrognatia.

[Imágenes utilizadas bajo consentimiento informado de los representantes legales].

A los diez años de edad acudió a consulta para control y se le realizó una segunda evaluación clínico-genética. Al examen físico presentaba estatura baja (talla de 125 cm) y un peso de 35 kg; conservaba una dismorfogénesis importante (frente plana, nariz puntiforme, implantación baja de las orejas, clinodactilia de la quinta falange, microcefalia, micrognatia y un orificio de 0.5 mm en la región lumbosacra), presentando retardo en el desarrollo y adicionalmente, como dato de interés, una personalidad muy agradable; **foto 1**.

Con la finalidad de efectuar un análisis clínico comparativo, el fenotipo de la paciente fue cotejado con los hallazgos descritos en 37 casos reportados en la literatura internacional<sup>[8-44]</sup>. Se determinaron las diferentes características clínicas identificadas en los casos (incluyendo las de la paciente en estudio) y se calculó el porcentaje de presentación de cada una.

### Estudio citogenético

Se estudió a la paciente y a sus progenitores con la metodología probada en trabajos anteriores<sup>[44]</sup>. Para la citogenética convencional se tomó muestra de sangre periférica con heparina y se cultivó 72 horas en medio RPMI 1640 suplementado con suero fetal bovino 15%; los linfocitos fueron estimulados con fitohemaglutinina. Se realizó la cosecha con la técnica estándar de colchicina y fijador de carnoy; se extendió en un portaobjetos y se realizó bandeado GTG (Giemsa-Tripsina-Giemsa). Adicionalmente se realizaron cultivos para estudios citogenéticos a los padres de la paciente; se contabilizaron 100 metafases por individuo.

### Hibridación in situ fluorescente (FISH)

Se aplicó FISH a la paciente para corroborar los resultados obtenidos por citogenética y se emplearon sondas para evaluar el estado de la región 4p16.3 (Chr4: 492870-793359) y 4q35.2 (Chr4: 190183811-190408149) y como control el centrómero del cromosoma 4 (Chr4: 48461959-49066696) según el protocolo de origen (Agilent, Estados Unidos).

### Array de mapeo genético

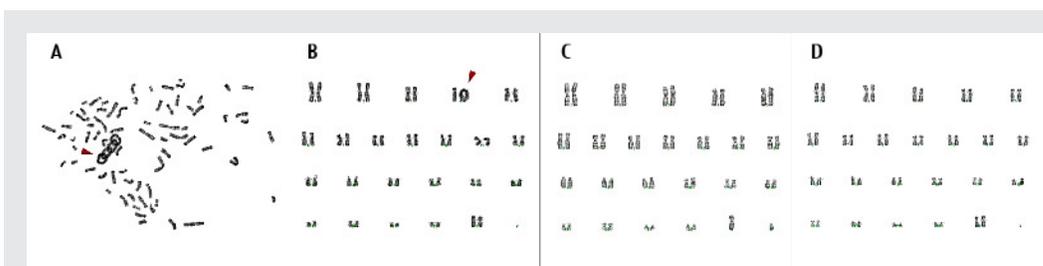
Para el análisis de arrays en la paciente, se utilizó 750 ng de ADN para la hibridación en el array Affymetrix 750K siguiendo las instrucciones del fabricante (Affymetrix, Santa Clara, CA). Los arrays se procesaron en la estación de fluidos Affymetrix 450 y fueron escaneados utilizando el escáner GeneChip 3000 (Affymetrix, Santa Clara, CA).

## Resultados

### Análisis clínico comparativo

En la revisión de las manifestaciones clínicas de los 37 casos reportados en la literatura y de la paciente estudiada, se encontró alrededor de 41 características clínicas diferentes, presentes de forma variada en cada sujeto.

El 78% de los casos presentaron retraso en el crecimiento, el 67% microcefalia, 62% retardo mental, 48% peso bajo al nacer, 37% clinodactilia del quinto dedo, 29% micrognatia, 21% hipertelorismo; y el 18% alguna cardiopatía como: falla cardíaca al nacimiento, comunicación intraventricular o interauricular, dextrocardia, transposición de grandes vasos. Adicionalmente los pacientes tuvieron malformación del pabellón auricular, como deformidad en forma de murciélago, orejas largas, hélices y lóbulos hipoplásicos. El 16% mostró criptorquidia (en pacientes masculinos), epicanto bilateral, implantación baja de las orejas y alguna malformación de los pliegues palmares, como pliegue palmar transversal o pliegue palmar único. El 13% presentaron paladar ojival, paladar hendido, nariz plana,



**Foto 2. Cariotipos de la paciente y sus progenitores.**

- A) Metáfase de la paciente; la flecha indica duplicaciones del anillo.
- B) Cariotipo alterado de la paciente, flecha indica cromosoma 4 en anillo.
- C) Cariotipo normal del padre.
- D) Cariotipo normal de la madre.

convulsiones, edad ósea retrasada, un pequeño orificio en la región sacro-coxígea y falla renal al nacimiento. En el 10% hubo fisura labial, nariz puntiforme, hipospadias, falanges cortas y cambios en el tono de la piel como lesiones hipopigmentadas de bordes irregulares en el séptimo y décimo dermatoma, patrón de hiperpigmentación e hipopigmentación en la frente, y lentigo solar. En el 8% de los casos se encontró diferentes características clínicas como manchas café con leche, exoftalmia, coloboma, ptosis palpebral, dislocación de la cadera. El 5% de los casos tuvieron sobreposición de los dedos de los pies, cuello corto y cara redonda; y en el 2% de los casos se encontró genu valgum, microstomía, cifoescoliosis, ectrodactilia, agenesia bilateral radial, separación entre el primero y segundo orjejo y alteraciones en los dientes como falta de esmalte y caninos puntiagudos; **tabla 1**.

### Análisis citogenético

Los resultados del cariotipo convencional de la paciente a los diez días de edad revelaron 46,XX,r(4)(p16q35)/46,XX con un anillo del cromosoma 4 en mosaicismo con 20% de células normales y fórmula sexual 46,XX. La otra línea celular con 46,XX,r(4) en el 80% de las células. A los diez años se encontró 10% de las células normales y r(4) en el 90% de las células. Los resultados de los análisis citogenéticos en los padres fueron normales 46,XX y 46,XY; **foto 2**.

### Análisis por FISH

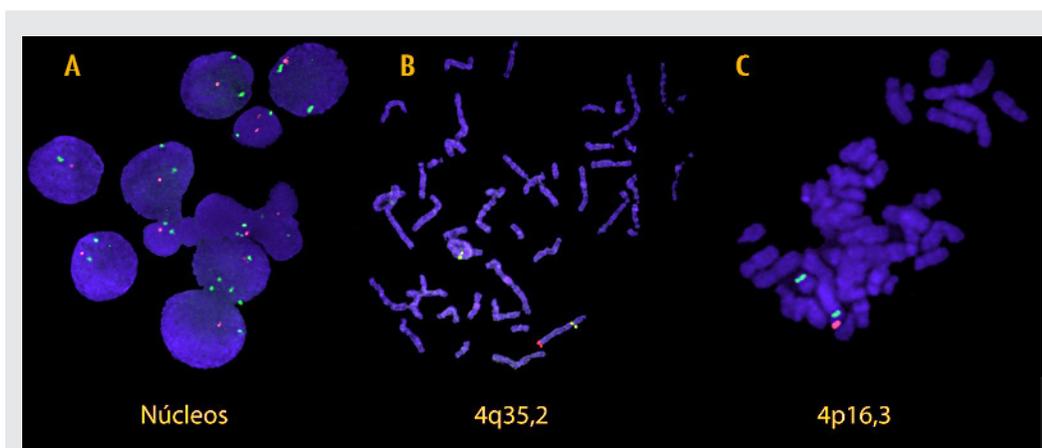
Los resultados mostraron en la paciente un cariotipo 46,XX,r(4).ish r(4)(p16.3q35.2)(492870-793359-,190183811-190408149-). Para la sonda centromérica se observaron dos señales, en cambio para las regiones de 4p y 4q se observó una señal en cada una; **foto 3**.

### Análisis de arrays de mapeo genético

La utilización de los arrays evidenció las regiones de pérdida de los brazos cortos y largos del cromosoma 4 involucrados en la formación del anillo. En el brazo corto del cromosoma 4 en la región p16.3 se obtuvo una ganancia de tres copias de los genes FGFR3, LETM1, WHSC1, WHSC2, MIR943, C4orf48, NAT8L y POLN y pérdida de una copia de los genes ZNF141, PIGG, PDE6B, ATP5I, MYL5, MFSD7, CPLX1, GAK, DGKQ, SLC26A1, IDUA, FGFRL1, SPON2, CTBP1, MAEA, KIAA1530, SLBP, TACC3. En el brazo largo del cromosoma 4 en la región q35.2 se obtuvo pérdida de una copia de los genes ZFP42, TRIML2, TRIML1, LOC401164, FRG1, TUBB4Q y FRG2; **tabla 2**. Los genes que con seguridad inciden en el fenotipo de la paciente en estudio son LETM1, WHSC1, WHSC2, MIR943, TACC3, IDUA, C4orf48 para retardo mental; LETM1 y WHSC1 para microcefalia y KIAA1530 para retraso en el crecimiento.

## Discusión

La formación del anillo en el cromosoma 4 en este caso se da por roturas en las porciones teloméricas de los brazos de ambos cromosomas seguido de una fusión de las porciones terminales de cada brazo. Lo anterior se corresponde con la hipótesis más utilizada para explicar el origen de los anillos reportada en la literatura <sup>[4, 6, 44-45]</sup>.



**Foto 3. Hibridación in situ fluorescente (FISH) del cromosoma 4.**

A) Se observan dos señales verdes correspondientes a la región centromérica del cromosoma 4 y una señal roja correspondiente a 4q.

B) Metafase de la paciente en donde se observa dos señales verdes correspondientes al centrómero del cromosoma 4 y una señal roja correspondiente a la región 4q35.2.

C) Metafase de la paciente en donde se observa dos señales verdes correspondientes al centrómero del cromosoma 4 y una señal roja correspondiente a la región 4p16.3.

**Tabla 1. Comparación de las características clínicas de todos los casos reportados con cromosoma 4 en anillo.**

Autor (Referencia)	Caso en estudio	Carter (8)	Bobrow (9)	Surana (10)	Parker (11)	Niss (12)
Año del reporte	2014	1969	1971	1971	1974	1975
Cariotipo	46,XX,r(4) (p16.3q35.2)	46,XY,r(4)	46,XY,r(4)/46,XY, r(4),Ep+	46,XX,r(4)	46,XX,r(4)	46,XY,r(4)
Edad del paciente	10	Recién nacido	4	Recién nacido	10	8
Padres jóvenes (21-25 años de edad)	x	x	x	x		x
Microcefalia	x	x	x	x		x
Micrognatia	x		x			
Microstomia						
Cifoescoliosis						
Talla baja	x	x	x	x	x	x
Cara redonda						
Retardo mental	x	x	x		x	x
Separación entre el 1 y 2 orjejo						
Peso bajo al nacimiento	x	x	x	x		
Ectrodactilia						
Café-au-lait en tórax						
Agenesia bilateral radial						
Ptosis palpebral						
Criptorquidia			x			x
Exoftalmia		x				
Coloboma		x				
Paladar hendido		x				
Labio leporino		x				
Nariz aplanada		x				
Nariz puntiforme	x					
Hipospadia		x				x
Malformación en los pliegues palmares		x	x			
Sobreposición de dedos (pies)		x				
Malformación del pabellón auricular		x				
Implantación baja de orejas	x		x			
Patología cardiaca		x				
Patología renal		x	x			
Falta de esmalte en dientes						
Caninos puntiagudos						
Clinodactilia de 5ta falange	x	x	x			x
Genu valgum						
Hoyuelo sacrocoxígeo	x		x			
Convulsiones			x			
Cambios en el tono de la piel						x
Edad ósea retrasada	x		x	x		
Hipertelorismo			x			
Epicanto bilateral			x			
Cuello corto						
Paladar arqueado alto						x
Falanges cortas						x
Dislocación de cadera						



Tabla 1. -Continuación-

Autor (Referencia)	Finley (21)	Gułkowska (22)	Kosztolanyi (23)	Giuffre (24)	Fryns (25)
Año del reporte	1981	1985	1985	1987	1988
Cariotipo	46,XY,r(4)	r(4)	46,XX,r(4)	46,XY,r(4)(p16q35)	46,XY/46,XY,r(4)
Edad del paciente	No Disponible	No Disponible	1	11 meses	Recién nacido
Padres jóvenes (21-25 años de edad)					
Microcefalia	x			x	
Micrognatia	x			x	
Microstomia					
Cifoescoliosis					
Talla baja	x		x		
Cara redonda					
Retardo mental	x		x	x	
Separación entre el 1 y 2 ordeño					
Peso bajo al nacimiento	x				
Ectrodactilia					
Café-au-lait en tórax					
Agenesia bilateral radial					
Ptois palpebral					
Criptorquidia					
Exoftalmia					
Coloboma					
Paladar hendido	x				
Labio leporino					
Nariz aplanada	x				
Nariz puntiforme				x	
Hipospadia					
Malformación en los pliegues palmares				x	
Sobreposición de dedos (pies)					
Malformación del pabellón auricular				x	
Implantación baja de orejas					
Patología cardiaca					
Patología renal					x
Falta de esmalte en dientes					
Caninos puntiagudos					
Clinodactilia de 5ta falange				x	
Genu valgum					
Hoyuelo sacrocoxígeo					
Convulsiones					
Cambios en el tono de la piel					
Edad ósea retrasada					
Hipertelorismo					
Epicanto bilateral					
Cuello corto					
Paladar arqueado alto					
Falanges cortas					
Dislocación de cadera					

Tabla 1. -Continuación-

Halal (26)	Freyberger (27)	Pezzolo (28)	Hou (29)	Anderson (30)	Calabrese (31)	Sigurdardottir (32)
1990	1991	1993	1996	1997	1997	1999
46,XX,r(4) (p16q35)	46,XY,r(4) (p16q35)	46,XX,r(4)	46,XX/46,XX,-4,+r(4) (p16q22.3)/47,XX,4,+r(4) (p16q22.3),+del(4)(pter-q22.3)	46,XY,r(4) (p16.3q35)	46,XY,r(4) (pterq35.2-qter) /45,XY,-4	46,XX,r(4) (p16.3q35.2)
Recién nacido	8	2	Recién nacido	26	Recién nacido	1
	x				x	
x	x			x	x	x
x		x		x	x	
x	x	x		x	x	x
					x	
x				x	x	
x	x				x	x
		x				x
				x		
		x				
x				x		
						x
		x		x		
x			x		x	
	x	x		x	x	
x						
				x		
		x				x
	x					x
		x			x	
x				x	x	x
		x		x		
		x				

Tabla 1. -Continuación-

Autor (Referencia)	Pinto-Escalante (33)	Kocks (34)	Blackett (35)	Lee (36)	Balci (37)
Año del reporte	2001	2002	2005	2005	2006
Cariotipo	46,XX,r(4)(p16q35)	46,XX,r(4)(p1?6;q3?3)	46,XX,r(4)(p16q35)	46,XX,r(4)(p16q35)	46,XY,r(4)(p16.3q35)
Edad del paciente	17	Feto	2	27	Recién nacido
Padres jóvenes (21-25 años de edad)	x	x			x
Microcefalia	x		x		x
Micrognatia	x				
Microstomía					
Cifoescoliosis	x				
Talla baja	x	x	x	x	x
Cara redonda					
Retardo mental	x	x	x	x	x
Separación entre el 1 y 2 orjejo	x				
Peso bajo al nacimiento	x		x	x	x
Ectrodactilia					
Café-au-lait en tórax					
Agenesia bilateral radial					
Ptosis palpebral					
Criptorquidia					x
Exoftalmia					
Coloboma					x
Paladar hendido		x			x
Labio leporino		x			x
Nariz aplanada					x
Nariz puntiforme					
Hipospadia					x
Malformación en los pliegues palmares					
Sobreposición de dedos (pies)					
Malformación del pabellón auricular					x
Implantación baja de orejas					
Patología cardiaca		x			x
Patología renal					x
Falta de esmalte en dientes					
Caninos puntiagudos					
Clinodactilia de 5ta falange			x		
Genu valgum					
Hoyuelo sacrocoxígeo					
Convulsiones				x	x
Cambios en el tono de la piel					
Edad ósea retrasada					
Hipertelorismo		x			x
Epicanto bilateral					
Cuello corto			x		
Paladar arqueado alto					
Falanges cortas			x		
Dislocación de cadera					

Tabla 1. -Continuación-

Laleye (38)	Chen (39)	Kim (40)	Soysal (41)	Sodre (42)	Chen (43)	Guilherme (44)
2006	2007	2009	2009	2010	2011	2011
r(4)	46,XY,r(4)(p1 5.2q35.2)	46,XY,r(4) (p16q35)	46,XY,r(4) (p16.3qter)	46,XY,r(4) (p16q35)	46,XX,r(4) (p16.3q35.2)	46,XX,r(4) (p16.3q35.2)
No Disponible	Feto	10 meses	1	4	2	11
			x			
	x		x	x	x	x
	x					
	x	x	x	x	x	x
					x	
	x	x	x		x	x
	x		x	x		
				x		
				x		
				x		
					x	
						x
	x					
			x			x
	x				x	
		x			x	
			x			
			x			
	x					
						x
			x			

Tabla 2. Genes afectados por el cromosoma 4 en anillo de la paciente.

Región cromosómica	Pares de bases	Alteración genética	Nº de copias	Genes
4p16.3	1784441-2126584	Ganancia	3	FGFR3, LETM1, WHSC1, SCARNA22, WHSC2, MIR943, C4orf48, NAT8L, POLN
4p16.3	68345-1778803	Pérdida	1	ZNF595, ZNF718, ZNF876P, ZNF732, ZNF141, ABCA11P, ZNF721, PIGG, PDE6B, ATP5I, MYL5, MFSD7, PCGF3, LOC100129917, CPLX1, GAK, TMEM175, DGKQ, SLC26A1, IDUA, FGFR1, RNF212, TMED11P, SPON2, LOC100130872-SPON2, LOC100130872, CTBP1, C4orf42, MAEA, KIAA1530, CRIPAK, FAM53A, SLBP, TMEM129, TACC3
4q35.2	187900881-190957460	Pérdida	1	ZFP42, TRIML2, TRIML1, LOC401164, FRG1, TUBB4Q, FRG2

En los casos reportados en la literatura, el diagnóstico del cromosoma 4 en anillo tuvo lugar a diferentes edades. En el 43% de los casos el diagnóstico se hizo al momento de nacer y hasta el primer año de vida, partiendo de las alteraciones fenotípicas que presentaban los pacientes, lo cual determina realizar un estudio cromosómico. El diagnóstico inicial en el presente caso bajo estudio ocurrió en similar grupo etario. En otro 29% de los casos fue entre el año y los diez años de edad, en el 16% después de los diez años de edad y sólo el 5% de pacientes se detectaron en el periodo fetal. Los afectados con anillo del 4 son más hombres (54%) que mujeres (45%) y en el 37% de los casos los pacientes fueron producto de gestas de padres jóvenes (21 - 25 años de edad), algo similar a lo que ocurre con el presente caso bajo estudio; **tabla 1**.

La mayoría de los casos con cromosoma 4 en anillo reportados en la literatura son mosaicos; se encontraron entre un rango de 5% a 55% de células normales y 45% a 95% con presencia de anillo en el cromosoma 4. En 6 de los 37 casos<sup>[26, 36, 39, 40, 41, 43]</sup> se

evidenciaron mosaicismos más complejos:

- 46,XX,r(4)[81]/45,XX,-r(4)[12]/47,XX,-4,+r(4),+r(4)[2]
- 46,XX,r(4)(p16q35)[160]/45,XX,-4[16]/46,XX,dicr(4)::p16→q35::p16→q35::[9]/47,XX,r(4),+r(4)[8]/46,XX[20]
- 45,XY,-4[6]/46,XY,r(4)(p15.2q35.2)[31],idicr(4)(p15.2q35.2;p15.2q35.2)[3]
- 46,XY,r(4)(p16q35)[84]/45,XY,-4[9]/91,XXYY,dicr(4;4)(p16q35;p16q35)[5]/46,XY,dicr(4;4)(p16q35;p16q35)[2]
- 46,XY,r(4)[83]/45,XY,-4[6]/47,XY,r(4),+r(4)[5]/48,XY,r(4),+r(4),+dicr(4)-[1]/46,XY[5]
- 46,XX,r(4)(p16.3q35.2)[82]/45,XX,-4[7]/47,XX,r(4)(p16.3q35.2),+r(4)(p16.3q35.2)[4]/46,XX,dicr(4)(p16.3q35.2)[3]/46,XX,broken r(4)(p16.3q35.2)[4]dn

Tabla 3. Manifestaciones clínicas asociadas a genes localizados en el cromosoma 4.

4p16.3			
Gen	Alteración genética	Nº de copias	Manifestación clínica
FGFR3	Ganancia	3	Acondroplasia, hipocondroplasia, acrocefalosindactilia, mieloma múltiple, cáncer de vejiga.
LETM1	Ganancia	3	Síndrome de Wolf-Hirschhorn, retraso intelectual, microcefalia y atrofia óptica.
WHSC1	Ganancia	3	Infarto de miocardio, síndrome de Wolf-Hirschhorn, microcefalia, accidente cerebrovascular, síndrome de Sotos, síndrome del ojo seco, síndrome de Waterhouse-Friderichsen, mieloma múltiple y retraso intelectual.
WHSC2	Ganancia	3	Waterhouse-Friderichsen, mieloma múltiple y retraso intelectual.
(MIR943)	Ganancia	3	Síndrome de Wolf-Hirschhorn, microcefalia, retraso intelectual, estenosis aórtica y hepatitis.
C4orf48	Ganancia	3	Síndrome de Wolf-Hirschhorn, déficit de atención por hiperactividad y retraso intelectual.
NAT8L	Ganancia	3	Leucemia
POLN	Pérdida	1	Anemia de Fanconi, reacción de hipersensibilidad tipo I, hepatitis B y neuroblastoma.
ZNF141	Pérdida	1	Enfermedad de Huntington, síndrome de Wolf-Hirschhorn y polidactilia.
PIGG	Pérdida	1	Púrpura trombocitopénica autoinmune, lupus eritematoso sistémico, melanoma conjuntival maligno, dependencia alcohólica y proteinuria.
PDE6B	Pérdida	1	Retinitis pigmentosa, ceguera nocturna, síndrome de Usher y atrofia óptica.
ATP5I	Pérdida	1	Infertilidad
MYL5	Pérdida	1	Cáncer de mama
MFSD7	Pérdida	1	Retinitis pigmentosa y cáncer de ovario.
CPLX1	Pérdida	1	Encefalopatía de Wernicke, dependencia a la cocaína, tetralogía de Fallo, defecto del septum ventricular, enfermedad de Huntington, enfermedad de Parkinson, dermatomiositis, enfermedad de Alzheimer y autismo.
GAK	Pérdida	1	Enfermedad de Parkinson, osteosarcoma, reticulosarcoma y sarcoma.
DGKQ	Pérdida	1	Enfermedad de Parkinson, atrofia óptica, enfermedad de Chagas, degeneración de la retina y degeneración cerebral.
SLC26A1	Pérdida	1	Hiperoxaluria primaria, nefrolitiasis, nefrocalcinosis y artropatía.
IDUA	Pérdida	1	Mucopolisacaridosis, enfermedad autosómica recesiva, síndrome del túnel carpiano, retraso intelectual, dilatación gástrica, enfermedad aórtica y enfermedad de la válvula aórtica.
FGFRL1	Pérdida	1	Sinostosis radioulnar, síndrome de Wolf-Hirschhorn, reflujo vesiculoureteral, hernia diafragmática congénita, craneosinostosis, agenesia renal, falla respiratoria, acondroplasia y defecto cardíaco congénito.
SPON2	Pérdida	1	Cáncer de ovario, glaucoma primario de ángulo abierto, paladar hendido y autismo.
CTBP1	Pérdida	1	Cáncer de mama, poliposis adenomatosa familiar, lisencefalia, cáncer colorectal, leucemia, adenoma, melanoma y anemia de Fanconi.
MAEA	Pérdida	1	Mieloma múltiple, sinusitis frontal, enfermedad vascular, leucopenia, desorden obsesivo-compulsivo y menopausia prematura.
KIAA1530	Pérdida	1	Síndrome cocaínico y carcinoma de piel.
SLBP	Pérdida	1	Síndrome de Wolf-Hirschhorn, síndrome de DiGeorge, gangrena gaseosa, microcefalia y úlcera péptica.
TACC3	Pérdida	1	Candidiasis vulvovaginal, síndrome de Wolf-Hirschhorn, linfadenitis y vaginitis.
4q35.2			
ZFP42	Pérdida	1	Teratoma y endometriosis.
FRG1	Pérdida	1	Distrofia miotónica, hipotiroidismo congénito, linfadenitis supurativa y distrofia muscular fascioescapulohumeral.
TUBB4Q	Pérdida	1	Neuropatía motora distal hereditaria y distrofia muscular fascioescapulohumeral.
FRG2	Pérdida	1	Síndrome de Rett, distrofia miotónica y distrofia muscular fascioescapulohumeral.

En solo un caso no se encontró mosaicismo, al menos en sangre periférica, y se informó como cariotipo 46XY,r(4)(p16q35) y el anillo fue observado en el 100% de las células<sup>[16]</sup>.

Las manifestaciones clínicas de pacientes con un cromosoma 4 en anillo se deben más al proceso de delección por el que pasa el anillo que a la propia inestabilidad genética<sup>[5]</sup>; mientras más material genético se pierda, el fenotipo se verá más afectado<sup>[44]</sup>. Aunque existen

ciertos rasgos similares entre la paciente estudiada y los casos informados en la literatura, como el retraso en el crecimiento, microcefalia, micrognatia, orejas con implantación baja, orificio en la región sacra, clinodactilia de la quinta falange, frente aplanada y adicionalmente retardo mental, no se puede definir un fenotipo común en el síndrome de cromosoma 4 en anillo, ya que todos los casos presentan manifestaciones clínicas diferentes.

En relación a la FISH, de los 37 casos reportados en la literatura, 13 estudios aplicaron esta técnica<sup>[28, 30-32, 34-41, 44]</sup>. Estos 13 casos presentaron señales de pérdida a nivel del brazo corto del cromosoma 4 en la región p16.3 y solo cinco casos presentaron señales de pérdida a nivel del brazo largo del cromosoma 4 en la región 4q35 adicionalmente a la pérdida en el brazo corto<sup>[31, 34-35, 38-39]</sup>, como en nuestro caso de estudio. En un solo paciente se reportó la cantidad de material genético que se perdió al formarse el anillo, que fue de 145 kb<sup>[35]</sup>. El estudio de arrays de mapeo genético realizado en la paciente mostró que en el brazo corto del cromosoma 4, en la región p16.3 se detectó una deleción de 1710,458 Kb y una ganancia de 342,143 Mb; en el brazo largo del cromosoma 4, en la región 4q31.22 se detectó una deleción de 72,099 Mb y en la región 4q35.2 se detectó una deleción de 3056,579 Kb; en ambas regiones cromosómicas del cromosoma 4 en anillo hubo ganancias y pérdidas de varios genes, los cuales provocan diferentes manifestaciones clínicas; **tabla 3**.

De los 37 casos reportados, solo cuatro casos aplicaron arrays<sup>[35, 37, 41, 43]</sup>; de estos cuatro casos solo dos mencionaron el tamaño de la deleción en las regiones; en un caso la deleción de la región 4p fue de aproximadamente 8.6 Mb y la deleción de la región 4q de aproximadamente 7 Mb<sup>[37]</sup>, en otro se evidenció una deleción de 900 kb en la región 4p16.3<sup>[41]</sup>, lo que indica que éste fue un array con mejor resolución que el anterior. Solamente tres casos compararon algunos genes justificando el fenotipo de sus pacientes<sup>[35, 41, 43]</sup>, dos de éstos casos compararon a los genes WHSC1 y WHSC2<sup>[41, 43]</sup> y solo un caso comparó a varios genes del brazo corto del cromosoma 4 ZNF595, ZNF718, ZNF141, ZNF721, PIGG, PDE6B, MFSD7, MYL5, ATP5I, PCGF3, CPLX1 y GAK<sup>[41]</sup>, lo cual es similar al análisis empleado en nuestro estudio. Los datos de arrays muestran un complejo comportamiento de los genes involucrados en la deleción cromosómica y un resultado muy variable en los genes perdidos y ganados, lo que explicaría el fenotipo tan variable entre los casos publicados. De los 37 casos, solo tres aplicaron las dos técnicas (FISH y arrays) juntas<sup>[35, 37, 41]</sup>.

El avance en el diagnóstico genético a través de pruebas por citogenética convencional y molecular ha permitido un mejor entendimiento de varios síndromes genéticos. Las reestructuraciones cromosómicas que dan lugar a un cromosoma 4 en anillo presentan un patrón similar en relación a la pérdida de las regiones teloméricas y su posterior re-arreglo; sin embargo el fenotipo de los pacientes analizados es muy variado y no existe mayor información de pérdidas y ganancias genéticas en los casos reportados lo que dificulta un diagnóstico claro y un tratamiento adecuado. Este estudio es un nuevo aporte a la investigación genética porque es el único que reporta el caso de un cromosoma

4 en anillo en una paciente ecuatoriana aplicando técnicas modernas con el propósito de dilucidar el comportamiento clínico y la base genética de esta patología que es rara a nivel mundial.

## Conflictos de interés

Los autores no poseen conflictos de interés.

## Financiamiento

Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad de las Américas.

## Contribuciones de los autores

Los autores han contribuido de manera similar en el estudio.

## Referencias

- Carey J, White B. *Genética Médica*. 3ra ed. Barcelona: Mosby; 2008.
- Guilherme RS, Meloni VFA, Takeno SS, Pellegrino R, Brunoni D, Kulikowski LD, Melaragno MI. Twenty-year cytogenetic and molecular follow-up of a patient with ring chromosome 15: a case report. *J Med Case Rep* 2012; 6: 283.
- Van Zelderen-Bhola SL, Bovée JVMG, Wessels HW, Mollevanger P, Nijhuis JV, van Eendenburg JDH, et al. Ring Chromosome 4 as the sole cytogenetic anomaly in a chondroblastoma: a case report and review of the literature. *Cancer Genet Cytogenet* 1998; 105: 109-12.
- Kosztolányi G. Does "ring syndrome" exist? An analysis of 207 case reports on patients with a ring autosome. *Hum Genet* 1987; 75: 174-9.
- Paz-y-Miño C, Benítez J, Ayuso C, Sánchez-Cascos A. Ring chromosome 6: clinical and cytogenetic behaviour. *Am J Med Genet* 1990; 35: 481-3.
- Kosztolányi G, Méhes K, Hook EB. Inherited ring chromosomes: an analysis of published cases. *Hum Genet* 1991; 87: 320-4.
- Lurie IW. Further study of genetic interactions: loss of short arm material in patients with ring chromosome 4 changes developmental pattern of del(4)(q33). *Am J Med Genet* 1995; 56: 308-11.
- Carter R, Baker E, Hayman D. Congenital malformations associated with a ring 4 chromosome. *J Med Genet* 1969; 6: 224-7.
- Bobrow M, Jones LF, Clarke G. A complex chromosomal rearrangement with formation of a ring 4. *J Med Genet* 1971; 8: 235-9.
- Surana RB, Bailey JD, Conen PE. A ring-4 chromosome in a patient with normal intelligence and short stature. *J Med Genet* 1971; 8: 517-21.
- Parker CE, Alfi OS, Derencsenyi A, Mavalwala J, Donnell G. A child with a ring-4 chromosome (46,XX/46,XX,r4). *Am J Dis Child* 1974; 128: 371-4.
- Niss R, Passarge E. Derivative chromosomal structures from a ring chromosome 4. *Hum Genet* 1975; 28: 9-23.
- Bartram CR. Sister chromatid exchanges in a ring chromosome 4. *Cytogenet Cell Genet* 1977; 18: 238-41.
- Chavin-Colin F, Turleau C, Limal JM, de Grouchy J. Ring of the chromosome 4. II. Without facial dysmorphism. *Ann Genet* 1977; 20: 105-9.
- Fraisse J, Lauras B, Couturier J, et al. Ring of the chromosome 4. I - With 4p-phenotype. *Ann Genet* 1977; 20: 101-4.
- McDermott A, Voyce MA, Romain D. Ring chromosome 4. *J Med Genet* 1977; 14: 228-32.
- Pérez-Castillo A, Abrisqueta JA. Ring chromosome 4 and Wolf syndrome. *Hum Genet* 1977; 37: 87-91.
- Bernstein R, Milne AT, Jenkins T. Translocation of chromosome 4 and 9 with ring formation of chromosome 4 short arm. *J Med Genet* 1978; 15: 310-4.
- del Mazo J, Abrisqueta JA, Pérez-Castillo A, Aller V, de Torres ML et al. Partial deletion of 4p16 band in a ring chromosome and Wolf syndrome. *Hum Genet* 1978; 44: 105-8.
- Young RS, Zalneraitis EL. Neurological and neuropathological findings in ring chromosome 4. *J Med Genet* 1980; 17: 487-90.
- Finley WH, Finley SC, Chonmaitree T, Koors JE, Chandler WC. Ring 4 chromosome with terminal p and q deletions. *Am J Dis Child* 1981; 135: 729-31.
- Gutkowska A, Krajewska-Walasek M, Wisniewski L. Ring chromosome 4: 46,XY,r(4)(p16q35) in a boy. *Klin Pediatr* 1985; 197: 294-6.
- Kosztolányi G. Ring chromosome 4: Wolf syndrome and unspecific developmental anomalies. *Acta Paediatr Hung* 1985; 26: 157-65.
- Giuffré L, Cammarata M, Corsello G, Benigno V, Graziano L, Roccella F, et al. Cromosoma 4 ad anello in gemello. *Pediatr Med Chir* 1987; 9: 349-50.
- Fryns JP, Kleczkowska A, Jaeken J, Van den Berghe H. Ring chromosome 4 mosaicism and Potter sequence. *Ann Genet* 1988; 31: 120-2.
- Halal F, Vekemans M. Ring Chromosome 4 in a child with duodenal atresia. *Am J Med Genet* 1990; 37: 79-82.
- Freyberger G, Wamsler C, Schmid M. Ring chromosome 4 in a child with mild dysmorphic signs. *Clin Genet* 1991; 39: 151-5.
- Pezzolo A, Gimelli G, Cohen A, Lavaggetto A, Romano C, Fogu G, et al. Presence of telomeric and subtelomeric sequences at the fusion points of ring chromosomes indicates that the ring syndrome is caused by ring instability. *Hum Genet* 1993; 92: 23-7.
- Hou JW, Wang TR. Amelia, dextrocardia, asplenia, and congenital short bowel in deleted ring chromosome 4. *J Med Genet* 1996; 33: 879-81.
- Anderson CE, Wallerstein R, Zamerowski ST, Witzleben C, Hoyer JR, Gibas L, et al. Ring chromosome 4 mosaicism coincidence of oligomeganephronia and signs of Seckel syndrome. *Am J Med Genet* 1997; 72: 281-5.
- Calabrese G, Giannotti A, Mingarelli R, Di Gillo MC, Piemontese MR, Palka G. Two newborns with chromosome 4 imbalances: deletion 4q33-q35 and ring r(4) (pterq35.2-qter). *Clin Genet* 1997; 51: 264-7.
- Sigurdardottir S, Goodman BK, Rutberg J, Thomas GH, Jabs EW, Geraghty MT. Clinical, cytogenetic, and fluorescence in situ hybridization findings in two cases of "complete ring" syndrome. *Am J Med Genet* 1999; 87: 384-90.
- Pinto-Escalante D, Ceballos-Quintal JM, Castillo-Zapata I, Canto-Herrera J. Síndrome del anillo en una paciente con mosaico del cromosoma 4 en anillo. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2001; 58: 532-6.
- Kocks A, Endeles S, Heller R, Schroder B, Schafer HJ, Stadler C, et al. Partial deletion of 4p and 4q in a fetus with ring chromosome 4: phenotype and molecular mapping of the breakpoints. *J Med Genet* 2002; 39: e23.

35. Blackett PR, Li S, Mulvihill JJ. Ring Chromosome 4 in a patient with early onset type 2 diabetes, deafness, and developmental Delay. *Am J Med Genet* 2005; 137A: 213-6.
36. Lee MH, Park SY, Kim YM, Kim JM, Yoo KJ, Lee HH, et al. Molecular cytogenetic characterization of ring chromosome 4 in a female having a chromosomally normal child. *Cytogenet Genome Res* 2005; 111: 175-8.
37. Balci S, Engiz O, Aktas D, Vargel I, Beksac MS, Mrasek K, et al. Ring chromosome 4 and Wolf-Hirschhorn syndrome (WHS) in a child with multiple anomalies. *Am J Med Genet* 2006; 140A: 628-32.
38. Laleye A, Alao MJ, Adjagba M, Hans C, Delneste D, Gnamey DK, et al. Wolf Hirschhorn syndrome in a case of ring chromosome 4: phenotype and molecular cytogenetic findings. *Genet Couns* 2006; 17: 35-40.
39. Chen CP, Hsu CY, Tzen CY, Lee CC, Chen WL, Chen LF, et al. Prenatal diagnosis of mosaic ring chromosome 4. *Prenat Diagn* 2007; 27: 479-87.
40. Kim JH, Oh PS, Na HY, Kim SH, Cho HC. A case of mosaic ring chromosome 4 with subtelomeric 4p deletion. *Korean J Lab Med* 2009; 29: 77-81.
41. Soysal Y, Balci S, Hekimler K, Liehr T, Ewers E, Schoumans J, et al. Characterization of double ring chromosome 4 mosaicism associated with bilateral hip dislocation, cortical dysgenesis, and epilepsy. *Am J Med Genet* 2009; 149A: 2782-7.
42. Sodré CP, Guilherme RS, Meloni VFA, Brunoni D, Juliano Y, Andrade JAD, et al. Ring chromosome instability evaluation in six patients with autosomal rings. *Genet Mol Res* 2010; 1: 134-43.
43. Chen CP, Lin SP, Su YN, Chern SR, Tsai FJ, Wu PC, et al. Mosaic ring chromosome 4 in a child with mild dysmorphisms, congenital heart defects and developmental delay. *Genet Couns* 2011; 22: 321-6.
44. Guilherme RS, Meloni VFA, Kim CA, Pellegrino R, Takeno SS, Spinner NB, et al. Mechanisms of ring chromosome formation, ring instability and clinical consequence. *BMC Med Genet* 2011; 12: 171-7.
45. Kistenmacher ML, Punnett HH. Comparative behavior of ring chromosomes. *Am J Hum Genet* 1970; 22: 304-18.