



FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

CARACTERIZACIÓN CITOGENÉTICA Y MOLECULAR DE UNA PACIENTE
CON CROMOSOMA 4 EN ANILLO

Trabajo De Titulación presentado en conformidad con los requisitos
establecidos para optar por el título de Médico General.

Profesor Guía:

César Antonio Paz-y-Miño Cepeda

Autora:

Ana Carolina Proaño Proaño

2014

DECLARACIÓN PROFESOR GUÍA

Declaro haber dirigido este trabajo a través de reuniones periódicas con la estudiante, orientando sus conocimientos y competencias para un eficiente desarrollo del tema escogido y dando cumplimiento a todas las disposiciones vigentes que regulan los Trabajos de Titulación.

César Paz-y-Miño

Doctor en medicina y biología. Especialidad en genética

CI: 1704345097

DECLARACIÓN DE AUTORÍA DEL ESTUDIANTE

Declaro que este trabajo es original, de mi autoría, que se han citado las fuentes correspondientes y que en su ejecución se representaron las disposiciones legales que protegen los derechos de autor vigentes.

Ana Carolina Proaño Proaño

CI: 1715904643

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mis padres, familia y amigos por todo el apoyo que me han dado durante mi carrera; sin ellos nada de esto hubiera sido posible.

CARACTERIZACIÓN CITOGÉNÉTICA Y MOLECULAR DE UNA PACIENTE CON CROMOSOMA 4 EN ANILLO

Ana Proaño, MD¹, Paola E. Leone, PhD¹, Ma. Eugenia Sánchez, MSc¹, Stella D. Verdezoto, MD¹, Juan Luis García, PhD², Jesús María Hernández, MD PhD², César Paz-y-Miño, MD¹.

¹Instituto de Investigaciones Biomédicas. Universidad de las Américas. Quito, Ecuador.

²Instituto 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. Decano del Instituto de Investigaciones Biomédicas.
Universidad de las Américas.

José Queri S/N y Av Granados, Bloque 5, 2° piso. Quito

Tel. 3970073

Fax. 3340229

Mail: cesar.pazymino@udla.edu.ec

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.

Presentación del caso

Se presenta el análisis clínico, citogenético (convencional y FISH) y molecular (arrays) de una paciente de 10 años de edad afecta de un cromosoma 4 en anillo. El examen clínico muestra dismorfogénesis importante (frente plana, nariz puntiforme, implantación baja de pabellones auriculares, clinodactilia bilateral del quinto dedo, microcefalia, micrognatia, adicionalmente un orificio en la región lumbosacra), estatura baja y retardo mental leve. El estudio citogenético revela un cariotipo en mosaico 46,XX/46,XX,r(4) con anillo del cromosoma 4 en el 80% de las metafases y se decide aplicar técnicas moleculares de mapeo genético (arrays) e hibridación in situ por fluorescencia (FISH).

Conclusión

El avance en el diagnóstico genético a través de pruebas por citogenética convencional y molecular ha permitido un mejor entendimiento de varios síndromes genéticos. 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.

Palabras clave: Anillo 4, Cromosoma, Cariotipo, Técnica de FISH, Arrays de ADN

ABSTRACT

Context

Ring chromosomes are rare and are the consequence of breakages of end segments of both arms followed by the fusion of the broken ends. In a ring chromosome 4 the regions that are affected more frequently are 4p16.3 and 4q35.2.

Case Report

We report the clinical, cytogenetic and molecular findings in a 10-year-old girl with ring chromosome 4. Examination revealed congenital anomalies including microcephaly, flattened forehead, prominent nose, micrognathia, low set ears, bilateral clinodactyly of the fifth finger, small sacrococcygeal dimple, low height and mental retardation. Cytogenetic studies showed a mosaic karyotype 46,XX/46,XX,r(4) with a ring chromosome 4 in 80% of metaphases and we decided to apply FISH and fine molecular studies, arrays.

Conclusion

The progress in genetical diagnosis through clinical, cytogenetic and molecular findings has allowed a better understanding of genetic syndromes. This case report is a new contribution to science because is the first study that reports an Ecuadorian patient with a ring 4 chromosome applying advanced cytogenetic and molecular tools to comprehend the behavior of this pathology.

Key words: Ring 4, Chromosome, Karyotype, FISH Technique, DNA microarrays

INTRODUCCIÓN

Los cromosomas en anillo son considerados una anomalía genética rara en los seres humanos [1-3], 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 subtelomérica opuesta, fusión de las dos regiones teloméricas opuestas o fusión entre las dos regiones subteloméricas opuestas [4-7], 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 [8-44]. Desde 1969, se han reportado aproximadamente 37 casos sobre cromosoma 4 en anillo alrededor del mundo [8-44], lo que hace de este caso patológico una alteración de interés investigativo (**tabla 1**).

A continuación se presenta el caso de una paciente femenina que acude a la consulta por dos ocasiones, a los dos y a los diez años de edad y se le realiza una evaluación clínico-genética, con miras a evaluarla con técnicas más modernas: hibridación in situ por fluorescencia (FISH) y mapeo genético por arrays.

PRESENTACIÓN DEL CASO

Se reporta el caso de una paciente femenina de diez años de edad, producto de una tercera gestación, de padres sanos y 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 muestra interés genético. La paciente nació por cesárea a las 40 semanas de gestación, con un APGAR de 8-9. Talla 47 cm, perímetro cefálico de 32 cm y peso 2.940 g. Presentó adecuada succión, tolerancia gástrica y llanto fuerte. Evidencia dismorfogénesis importante (frente plana, nariz puntiforme, implantación baja de las orejas, clinodactilia bilateral 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 ocho meses de edad se le realiza una resonancia magnética contrastada de columna lumbar y se encuentra un pequeño trayecto fistuloso que comunica la piel de la región sacra con la punta del coxis; no hay presencia de lipoma, médula anclada, ni meningocele. A los dos años de edad se le realiza una tomografía simple y tridimensional de encéfalo en donde no se evidencian anomalías y se le evalúa 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 diez años de edad acude a consulta para control y se le realiza una segunda evaluación clínico-genética, al examen físico presenta estatura baja (talla de 125 cm) y un peso de 35 kg, mantiene una dismorfogénesis importante (frente plana, nariz puntiforme, implantación baja de las orejas, clinodactilia bilateral de la quinta falange, microcefalia, micrognatia y un orificio de 0,5 mm en la región lumbosacra), presenta retardo en el desarrollo y adicionalmente presenta una personalidad muy agradable (**figura 1**).

Estudio citogenético

Se realiza estudio a la paciente y a sus progenitores con la metodología probada en estudios anteriores [44]. 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

El fenotipo de la paciente estudiada se comparó con los 37 casos reportados en la literatura y se encontró alrededor de 41 características clínicas diferentes; de todas estas manifestaciones clínicas, incluyendo las de la paciente en estudio, se calculó el porcentaje de presentación de cada una en los diferentes casos, ya que se presentan de forma variada en cada paciente. El 78% de los casos presentó retraso en el crecimiento; el 67% microcefalia; el 62% retardo mental; el 48% peso bajo al nacer; el 37% clinodactilia bilateral del quinto dedo; el 29% micrognatia; el 21% hipertelorismo; el 18% presentan alguna cardiopatía como falla cardiaca al nacimiento, comunicación intraventricular o

interauricular, dextrocardia, transposición de grandes vasos; adicionalmente los pacientes presentan malformación del pabellón auricular, como deformidad en forma de murciélago, orejas largas, hélices y lóbulos hipoplásicos. El 16% presentó criptorquidia (pacientes masculinos), epicanto bilateral, implantación baja de las orejas y alguna malformación de los pliegues palmares, como pliegue palmar transverso, pliegue palmar único. El 13% presentaron paladar ojival, paladar hendido, nariz plana, convulsiones, edad ósea retrasada, un pequeño orificio en la región sacro-coxígea y falla renal al nacimiento. En el 10% se presentó 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, 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 presenta sobreposición de los dedos de los pies, cuello corto y cara redonda y en el 2% de los casos se encontró genuvalgum, microstomía, cifoescoliosis, ectrodactilia, agenesia bilateral radial, separación entre el primero y segundo orjeo 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 dos años 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 46,XX y 46,XY, normales (**figura 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 (**figura 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, FGFR1, 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 que corresponde con la hipótesis más utilizada para explicar el origen de los anillos que dice la literatura [4, 6, 44-45].

El diagnóstico del cromosoma 4 en anillo se obtuvo a diferentes edades en los casos reportados en la literatura. En el 43% de los casos el diagnóstico se hace al momento de nacer hasta el primer año de vida partiendo de las alteraciones fenotípicas que presentan los pacientes, lo que determina realizar un estudio cromosómico; el diagnóstico inicial en el presente estudio se encuentra en similar grupo etario; en el 29% se lo hace entre el año y los diez años de edad, en el 16% se lo hace después de los diez años de edad. Solo el 5% de pacientes se detectan 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), como ocurre con el presente 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 se evidenciaron mosaicismos más complejos, 46,XX,r(4)[81]/45,XX,-r(4)[12]/47,XX,-4,+r(4),+r(4)[2][26]; 46,XX,r(4)(p16q35)[160]/45,XX,-4[16]/46,XX,dic r(4)(:p16→q35::p16→q35::)[9]/47,XX,r(4),+r(4)[8]/46,XX[20][36]; 45,XY,-4[6]/46,XY,r(4)(p15.2q35.2)[31],idic r(4)(p15.2q35.2;p15.2q35.2)[3][39]; 46,XY,r(4)(p16q35)[84]/45,XY,-4[9]/91,XXYY,dic r(4;4)(p16q35;p16q35)[5]/46,XY,dic r(4;4)(p16q35;p16q35)[2] [40]; 46,XY,r(4)[83]/45,XY,-4[6]/47,XY,r(4),+r(4)[5]/48,XY,r(4),+r(4),+dic r(4)-[1]/46,XY[5] [41]; y 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,dic r(4)(p16.3q35.2)[3]/46,XX,broken r(4)(p16.3q35.2)[4]dn [43]. 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 [16].

Las manifestaciones clínicas de pacientes afectados de un cromosoma 4 en anillo se deben más al proceso de delección por el que pasa el anillo que a la propia inestabilidad genética [5], mientras más material genético se pierda el fenotipo se verá más afectado [44]. 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 de 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 [28, 30-32, 34-41, 44]. Los 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 [31, 34-35, 38-39], como nuestro caso en estudio. En un solo caso se reportó la cantidad de material genético que se perdió al formarse el anillo, que fue de 145 kb [35]. 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 delección 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 delección de 72,099 Mb y en la región 4q35.2 se detectó una delección 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 [35, 37, 41, 43]; de estos cuatro casos solo dos mencionaron el tamaño de la delección en las regiones, como se lo menciona en este estudio, en un caso la delección de la región 4p fue de aproximadamente 8.6 Mb y la delección de la región 4q de aproximadamente 7 Mb [37], en otro caso se evidenció una delección de 900 kb en la región 4p16.3 [41], 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 [35, 41, 43], dos de éstos casos

compararon a los genes WHSC1 y WHSC2 [41, 43] 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 [41], lo cual es similar al análisis empleado en nuestro estudio. Los datos de arrays muestran un complejo comportamiento de los genes involucrados en la delección cromosómica y un muy variable resultado en los genes perdidos y ganados, lo que explicaría el fenotipo tan variable entre los estudios publicados. De los 37 casos publicados, solo tres aplicaron las dos técnicas juntas, FISH y arrays [35, 37, 41].

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 rearreglo; 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.

Contribución de los autores

Los autores han contribuido de manera similar en el estudio.

REFERENCIAS

- 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.
- 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.
- Bartram CR. Sister chromatid exchanges in a ring chromosome 4. *Cytogenet Cell Genet* 1977; 18: 238-41.
- 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.
- 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.
- Bobrow M, Jones LF, Clarke G. A Complex Chromosomal Rearrangement with Formation of a Ring 4. *J Med Genet* 1971; 8: 235-9.
- Calabrese G, Giannotti A, Mingarelli R, Di Gilio 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.
- Carey J, White B. *Genética Médica*. 3ra ed. Barcelona: Mosby; 2008.
- Carter R, Baker E, Hayman D. Congenital Malformations Associated with a Ring 4 Chromosome. *J Med Genet* 1969; 6: 224-7.
- 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.
- Chen BP, 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.
- 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.

- del Mazo J, Abrisqueta JA, Pérez-Castillo A, Aller V, Angeles Martín Lucas M, Luisa de Torres M et al. Partial Deletion of 4p16 Band in a Ring Chromosome and Wolf Syndrome. *Hum Genet* 1978; 44: 105-8.
- 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.
- Fraisse J, Lauras B, Couturier J, et al. Ring of the chromosome 4. I – With 4p-phenotype. *Ann Genet* 1977; 20: 101-4.
- Freyberger G, Wamsler C, Schmid M. Ring chromosome 4 in a child with mild dysmorphic signs. *Clin Genet* 1991; 39: 151-5.
- Fryns JP, Kleczkowska A, Jaeken J, Van den Berghe H. Ring chromosome 4 mosaicism and Potter sequence. *Ann Genet* 1988; 31: 120-2.
- 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.
- 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.
- Guilherme RS, Meloni VFA, Takeno SS, Pellegrino S, 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.
- Gutkowska A, Krajewska-Walasek M, Wisniewski L. Ring chromosome 4: 46,XY,r(4)(p16q35) in a boy. *Klin Padiatr* 1985; 197: 294-6.
- Halal F, Vekemans M. Ring Chromosome 4 in a Child With Duodenal Atresia. *Am J Med Genet* 1990; 37: 79-82.
- Hou JW, Wang TR. Amelia, dextrocardia, asplenia, and congenital short bowel in deleted ring chromosome 4. *J Med Genet* 1996; 33: 879-81.
- 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.
- Kistenmacher ML, Punnett HH. Comparative Behavior of Ring Chromosomes. *Am J Hum Genet* 1970; 304-18.

- Kocks A, Ende S, Heller R, Schroder B, Schafer HJ, Stadtler 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.
- Kosztolányi G, Méhes K, Hook EB. Inherited ring chromosomes: an analysis of published cases. *Hum Genet* 1991; 87: 320-4.
- Kosztolányi G. Does "ring syndrome" exist? An analysis of 207 case reports on patients with a ring autosome. *Hum Genet* 1987; 75: 174-9.
- Kosztolányi G. Ring chromosome 4: Wolf syndrome and unspecific developmental anomalies. *Acta Paediatr Hung* 1985; 26: 157-165.
- Laleye A, Alao MJ, Adjagba M, Hans C, Delneste D, Gnamey DK, et al. Wolf Hirshhorn syndrome in a case of ring chromosome 4: phenotype and molecular cytogenetic findings. *J Genet Couns* 2006; 17: 35-40.
- 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.
- 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.
- McDermott A, Voyce MA, Romain D. Ring Chromosome 4. *J Med Genet* 1977; 14: 228-32.
- Niss R, Passarge E. Derivative Chromosomal Structures from a Ring Chromosome 4. *Hum Genet* 1975; 28: 9-23.
- 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.
- Paz-y-Miño C, Benítez J, Ayuso C, Cascos-Sánchez A. Ring Chromosome 6: Clinical and Cytogenetic Behaviour. *Am J Med Genet* 1990; 35: 481-3.
- Pérez-Castillo A, Abrisqueta JA. Ring Chromosome 4 and Wolf Syndrome. *Hum Genet* 1977; 37: 87-91.
- 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: 23-27.

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.

Rawatmal BS, Bailey JD, Conen PE. A Ring-4 Chromosome in a Patient with Normal Intelligence and Short Stature. *J Med Genet* 1971; 8: 517-21.

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.

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.

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; 2782-7.

Van Zelderen-Bhola SL, Bovée JVMG, Wessels HW, Mollegar 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.

Young RS, Zalneraitis EL. Neurological and Neuropathological Findings in Ring Chromosome 4. *J Med Genet* 1980; 17: 487-90.

ANEXOS

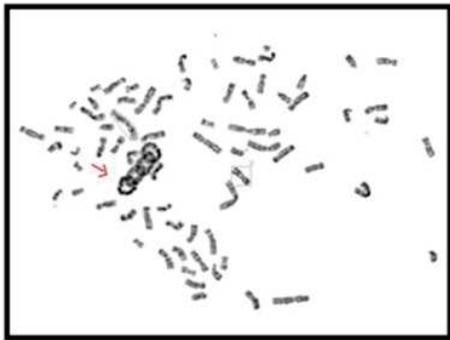
FIGURAS



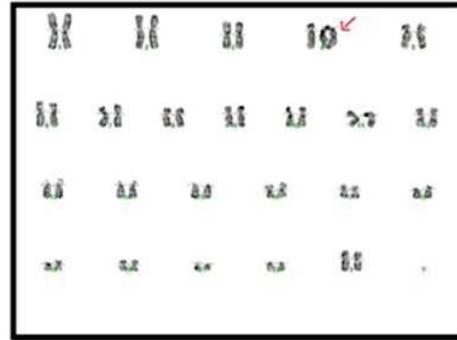
A

B

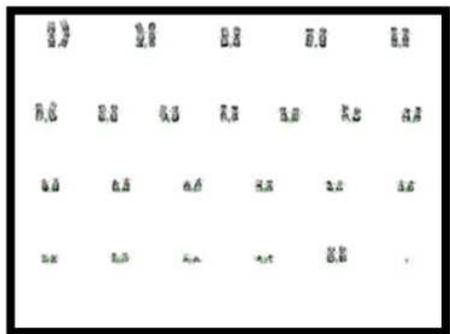
Figura 1. Paciente de estudio. A, Paciente (diez días de edad) en la que se observa el orificio en la región lumbosacra. B, Paciente en la actualidad (diez años de edad), vista frontal y vista lateral, en donde se observa microcefalia, frente aplanada, implantación baja de las orejas, nariz puntiforme y micrognatia.



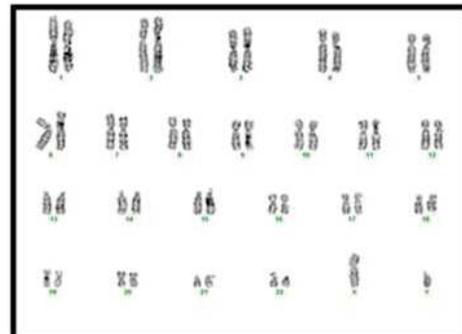
A



B



C



D

Figura 2. Cariotipos de la paciente y sus progenitores. A, Metafase de la paciente, la flecha indica duplicaciones del anillo. B, Cariotipo alterado de la paciente, la flecha indica el cromosoma 4 en anillo. C, Cariotipo normal de la madre. D, Cariotipo normal del padre

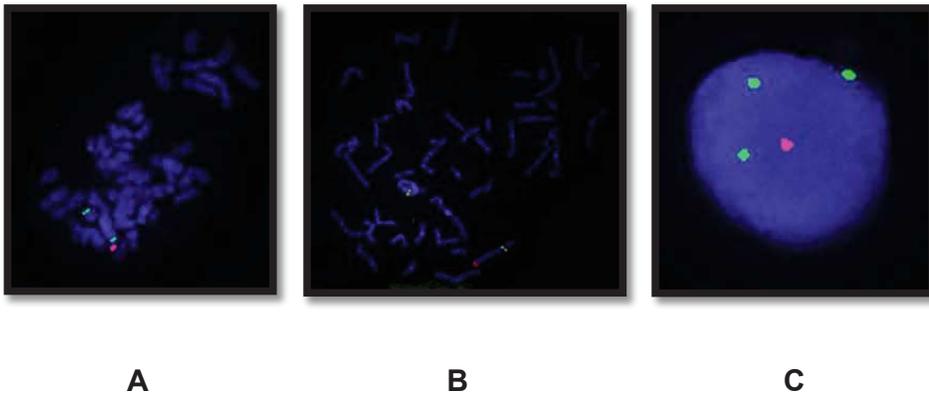


Figura 3. FISH del cromosoma 4. A, Se observan tres señales verdes correspondientes a la región centromérica del cromosoma 4 y una señal roja correspondiente a 4q. B, Metafase de la paciente en donde se observa dos señales verdes correspondientes al centrómero del cromosoma 4 y una señal roja correspondiente 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.

TABLAS

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

cromosoma 4 en anillo	caso en estudio	Carter, et al. 1969	Bobrow, et al. 1971	Rawatmal, et al. 1971	Parker, et al. 1974	Niss, et al. 1975	Bartram, et al. 1977	Chavin-Colin, et al. 1977	Fraisse, et al. 1977	McDermott, et al. 1977
cariotipo	46,XX,r(4)	No Disponible	46,XY,r(4)/46,XY,4r,ep+	No Disponible	No Disponible	46,XY,r(4)	No Disponible	No Disponible	No Disponible	46,XY,r(4)(p16q35)
edad del paciente	10	Recién nacido	4	Recién nacido	10	8	12	5	8	Recién nacido
padres jóvenes a su nacimiento (21-25 años de edad)	x	x	x	x		x				
microcefalia	x	x	x	x		x	x			x
micrognatia	x		x							
microstomía										
cifoescoliosis										
talla baja	x	x	x	x		x	x	x	x	x
cara redonda										
retardo mental	x	x	x		x	x	x		x	x
separación entre el 1 y 2 ortejo										
peso bajo al nacimiento	x	x	x	x	x					
ectrodactilia										
café-au-lait en tórax										
agenesia bilateral radial										
ptosis palpebral							x			
criptorquidia			x			x				
exoftalmia		x								
coloboma		x								
paladar hendido		x								
labio leporino		x								
nariz aplanada		x								
nariz puntiforme	x									
hipospadia		x				x				

malformación del pabellón auricular			x					x	
Implantación baja de orejas	x	X							
patología cardiaca									
patología renal									x
falta de esmalte en dientes									
caninos puntiagudos									
clinodactilia de 5ta falange	x	X						x	
genu valgum									
hoyuelo sacrocoxígeo				x					
convulsiones									
cambios en el tono de la piel									
edad ósea retrasada									
hipertelorismo	x		x						
epicanto bilateral	x								
cuello corto				x					
paladar arqueado alto				x					
falanges cortas				x					
dislocación de cadera				x					

sobreposición de dedos (pies)			x					
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	x		x	x		
genu valgum								
hoyuelo sacrocoxígeo	x							
convulsiones					x			
cambios en el tono de la piel			x				x	
edad ósea retrasada		x					x	
hipertelorismo			x			x		
epicanto bilateral	x				x	x	x	
cuello corto								
paladar arqueado alto			x		x			
falanges cortas								
dislocación de cadera			x					

cromosoma 4 en anillo	Kocks, et al. 2002	Blackett, et al. 2005	Lee, et al. 2005	Balci, et al. 2006	Laleye, et al. 2006	Chen, et al. 2007	Kim et al. 2009	Soysal, et al. 2009	Sodre, et al. 2010	Chen, et al. 2011	Guilherme, et al. 2011
cariotipo	46,XX,r(4)(p1?6;q3?3)	46,XX,r(4)(p16q35)	46,XX,r(4)(p16q35)	46,XY,r(4)(p16.3q35)	No Disponible	46,XY,r(4)(p15.2q35.2)	46,XY,r(4)(p16q35)(84)/45,XY,-4(9)/91,XXYY	46,XY,r(4)(83)/45,XY	46,XY, r(4)(p16q35)	46,XX,r(4)(p16.3q35.2)	No Disponible
edad del paciente	feto	2	27	Recién nacido	No Disponible	feto	10 meses	1	4	2	11
padres jóvenes a su nacimiento (21-25 años de edad)	x			x				x			
microcefalia		x		x		x		x	x	x	x
micrognatia						x					
microstomía											
cifoescoliosis											
talla baja	x	x	x	x		x	x	x	x	x	x
cara redonda										x	
retardo mental	x	x	x	x		x	x	x		x	x
separación entre el 1 y 2 ordejo											
peso bajo al nacimiento		x	x	x		x		x	x		
ectrodactilia											
café-au-lait en tórax									x		
agenesia bilateral radial											
ptosis palpebral									x		
criptorquidia				x					x		
exoftalmia											
coloboma				x							
paladar hendido	x			x							
labio leporino	x			x							
nariz aplanada				x						x	
nariz puntiforme											x
hipospadia				x		x					

malformación en los pliegues palmares											
sobreposición de dedos (pies)											
malformación del pabellón auricular				x				x			x
implantación baja de orejas						x				x	
patología cardíaca	x			x			x			x	
patología renal				x							
falta de esmalte en dientes											
caninos puntiagudos											
clinodactilia de 5ta falange		x						x			
genu valgum											
hoyuelo sacrocoxígeo											
convulsiones			x	x				x			
cambios en el tono de la piel											
edad ósea retrasada											
hipertelorismo	x			x		x					
epicanto bilateral											
cuello corto		x									
paladar arqueado alto											x
falanges cortas		x									
dislocación de cadera								x			

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

región cromosómica	pares de bases	alteración genética	# 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

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

4p16.3			
gen	alteración genética	# 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 (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	ganancia	3	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 Fallot, 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	Sinostosisradioulnar, 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, poliposisadenomatosa familiar, lisencefalia, cáncer colorectal, leucemia, adenoma, melanoma y anemia de Fanconi.
MAEA	pérdida	1	Mieloma múltiple, sinusitis frontal, enfermedad vascular, leucopenia, desorden obsesivocompulsivo 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.