

Studi Cromosomici nella Sindrome di Turner

F. Franceschini, B. Dallapiccola, N. Ricci, B. Ventimiglia

La sindrome di Turner fu identificata clinicamente nel 1938 come associazione fra infantilismo sessuale, pterigium colli, cubito valgo. Essa fu ritenuta secondaria ad una ipofunzione della ipofisi, ma ulteriori indagini cliniche (Albright et al., 1942; Wilkins e Fleischmann, 1944, ecc.) dimostrarono da un lato un aumento delle gonadotropine urinarie, e dall'altro la presenza di agenesia ovarica, cosicchè la forma morbosa venne ricondotta dalla maggior parte degli AA. ad una insufficienza ovarica primitiva. Molte ricerche e molte discussioni erano state fatte sulla patogenesi di questa sindrome, anche nella letteratura italiana (riassunte tra gli altri da Larizza et al., 1956); frattanto fu osservato che la maggioranza delle pazienti affette da sindrome di Turner apparivano dotate di « sesso nucleare » di tipo maschile (Polani et al., 1954; Wilkins et al., 1954; Barr., 1959, ecc.); non era visibile cioè quella mascherella cromatinica, evidenziabile con comuni tecniche istologiche alla periferia del nucleo (cromatina sessuale), che è visibile nelle cellule delle femmine normali e non in quelle dei maschi. Sebbene fenotipicamente femmine, queste pazienti ne erano prive, cioè presentavano un reperto di tipo maschile.

Sulla base di questo dato venne avanzata l'ipotesi che la forma morbosa fosse legata ad un fenomeno di « inversione sessuale » verso un fenotipo femminile in soggetti cromosomicamente maschi.

Più recentemente, gli studi del cariotipo umano hanno permesso di dimostrare che queste pazienti sono dotate di un corredo cromosomico anormale (Ford et al., 1954, presto confermato da numerosi altri, vedi in Zampa, 1963). Possono distinguersi su questa base vari tipi di sindrome di Turner:

1) Casi in cui è riscontrabile la mancanza di uno dei due cromosomi X (corredo tipo XO); in questi, che sono i più frequenti, manca la cromatina sessuale.

2) Casi nei quali sono presenti due cromosomi X, ma uno di essi presenta anomalie strutturali caratteristiche (ad esempio isocromosoma-X); questi sono dotati di cromatina sessuale.

3) Altri casi infine sono caratterizzati dalla presenza contemporanea di cellule con corredi cromosomici differenti (« mosaici » di tipo XO/XX, XO/XXX, XO/X isocromosoma-X, ecc.); in questi casi lo studio della cromatina sessuale può dare reperti variabili, a seconda del corredo delle cellule studiate.

I rapporti fra cromatina sessuale e corredo cromosomico, e la natura della anomalia isocromosoma-X, verranno discussi più oltre.

Riportiamo qui le osservazioni citogenetiche relative a 5 casi di sindrome di Turner con corredo XO, e ad un caso con presunto isocromosoma-X, da noi recentemente studiati.

Metodi di studio

La analisi del cariotipo è stata eseguita su preparazioni ottenute da culture a breve termine di leucociti in presenza di fitoemoagglutinina, secondo la tecnica di Moorhead et al. (1960).

Per lo studio della cromatina sessuale sono stati impiegati strisci di mucosa orale (in alcuni casi anche strisci di sedimento urinario) fissati in alcool-etere e colorati con ematossilina o con Feulgen. Per la ricerca dei « drum-stick » sono stati usati strisci di sangue periferico colorati con May-Grünwald-Giemsa.

Lo studio autoradiografico della incorporazione di timidina tritiata è stato eseguito secondo la tecnica di Muldal et al., 1963: il nucleoside marcato (Thymidine 6-T(n), Amersham Radiochemical Center, attività specifica 14,8 c/mM) è stato aggiunto alla cultura in dose di 0,4 microcurie per ml 68 ore dopo l'inizio; due ore e mezza dopo è stata aggiunta colchicina, e dopo un'altra ora e mezza la cultura è stata raccolta e trattata secondo l'usuale metodo di preparazione cromosomica. La autoradiografia¹ è stata eseguita con Kodak AR 10; tempo di esposizione 7 giorni a 4° C; sviluppo a 18° C, per 5'.

Le metafasi marcate sono state fotografate una prima volta mettendo a fuoco i granuli d'argento; poi i vetrini sono stati liberati completamente dalla pellicola tramite successivi passaggi in benzolo, alcool assoluto, alcool etere, alcool 70°, acqua, acido acetico glaciale, e ricolorati con Giemsa. Le stesse metafasi sono state fotografate una seconda volta, allo scopo di identificare con chiarezza i cromosomi che erano stati occultati dai granuli d'argento.

I dermatoglifi sono stati rilevati impiegando inchiostro nero da timbri, e sono stati analizzati seguendo gli schemi e la nomenclatura esposti da Cummins e Midlo (1961).

Gli anticorpi antitiroidei nel siero sono stati ricercati secondo il metodo di Boyden (Dr. Carrozzini, Istituto di Clinica Medica, Università di Ferrara).

Descrizione dei casi

CASO 1. M. M. L. di anni 43. Età materna alla nascita 25 anni, età paterna 32. Due fratelli sono apparentemente sani. La paziente è nata a termine, da parto fisiologico. Sviluppo somatico ritardato. Non sono mai comparse mestruazioni. Altezza 135 cm; peso 36 Kg. Epicanto bilaterale; impianto basso dei capelli alla nuca; collo

¹ Ringraziamo il Dr L. Tiepolo, del Gruppo EURATOM per le Radiazioni e la Citogenetica Umana dell'Università di Pavia, diretto dal Prof. M. Fraccaro, per la cortese collaborazione.

corto con accenno a *pterygium*. Assenza di sviluppo pilifero alla regione pubica ed alle ascelle. Mammelle e genitali esterni di tipo infantile. Alla palpazione per via rettale l'utero appare ipotrofico. Valgismo dei gomiti e delle ginocchia. Non è stato possibile eseguire la ricerca degli anticorpi antitiroidei nel siero e le impronte digitali.

Gli esami citogenetici dimostrano un numero cromosomico modale di 45, con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X); negli strisci di mucosa orale e di sangue periferico non sono stati reperiti corpi di Barr nè drumstick (cfr. Tab. 1).

Tab. 1

	Numero cromosomico					Cromatina sessuale		Note
	43	44	45	46	90	Corpi di Barr ¹	Drumsticks	
1. M. M. L.								
mitosi contate	—	2	17	—	1	0 su 200	0 su 1000	Corredo cromosomico XO.
mitosi analizzate			5			cellule	granulociti	
2. D. M.								
mitosi contate	1	3	30	—	—	0 su 200	0 su 1600	Corpi di Barr assenti anche nelle cellule del sedimento urinario. Corredo cromosomico XO.
mitosi analizzate			7			cellule	granulociti	
3. D. M. T.								
mitosi contate	1	3	19	—	—	0 su 150	0 su 1800	Corpi di Barr assenti anche nelle cellule del sedimento urinario. Corredo cromosomico XO.
mitosi analizzate			5			cellule	granulociti	
4. M. A.								
mitosi contate	—	2	13	—	—	0 su 250	0 su 1000	Corredo cromosomico XO.
mitosi analizzate			5			cellule	granulociti	
5. I. F.								
mitosi contate	2	2	32	1	—	0 su 150	0 su 1200	Corredo cromosomico XO.
mitosi analizzate			10	1		cellule	granulociti	
6. F. B.								
mitosi contate	1	3	5	40	—	42%	28% (su 300	Corpi di Barr presenti anche nella cute e nel sedimento urinario. Cromatina sessuale di dimensioni maggiori del normale. Numero medio dei lobi nucleari dei granulociti = 3,16. Corredo cromosomico: presunto isocromosoma X. Le mitosi con 45 cromosomi appaiono dovute a perdite casuali.
mitosi analizzate			5	15	—	(su 250 cellule)	+ 14% noduli sessili.	

¹ Strisci di mucosa orale; contati solo i corpi cromatinici periferici.

CASO 2. D. M. di anni 16. Età materna alla nascita 23 anni, età paterna 24. Una sorella di 10 anni è apparentemente normale. Una cugina paterna viene descritta come affetta da nanismo. La paziente è nata a termine da parto fisiologico; peso alla nascita 2500 g; sviluppo somatico ritardato. Non sono mai comparse mestruazioni. Intelligenza normale. Altezza 128 cm; peso 35 Kg. Accenno ad epicanto bilaterale; basso impianto dei capelli sulla nuca. Collo con accenno a *pterigium*. Assenza dei peli ascellari e pubici; mammelle e genitali esterni di tipo infantile. Valgismo dei gomiti, con limitazione della estensione; linfedema alla superficie estensoria degli arti inferiori.

Ricerca degli anticorpi antitiroidei nel siero: negativa.

Dermatoglifi. Mano destra: formula palmare 7.5".5".3h — t — Lr.O.O.O.L; angolo atd = 39°; polpastrelli UL, RL, UL, UL, UL; conteggio totale creste = 74. Mano sinistra: è presente una linea di flessione trasversa completa; formula palmare 9.X.5".3h — t — Lr.O.O.O.O; angolo atd = 36°; polpastrelli UL, RL, UL, UL, UL; conteggio totale creste = 70.

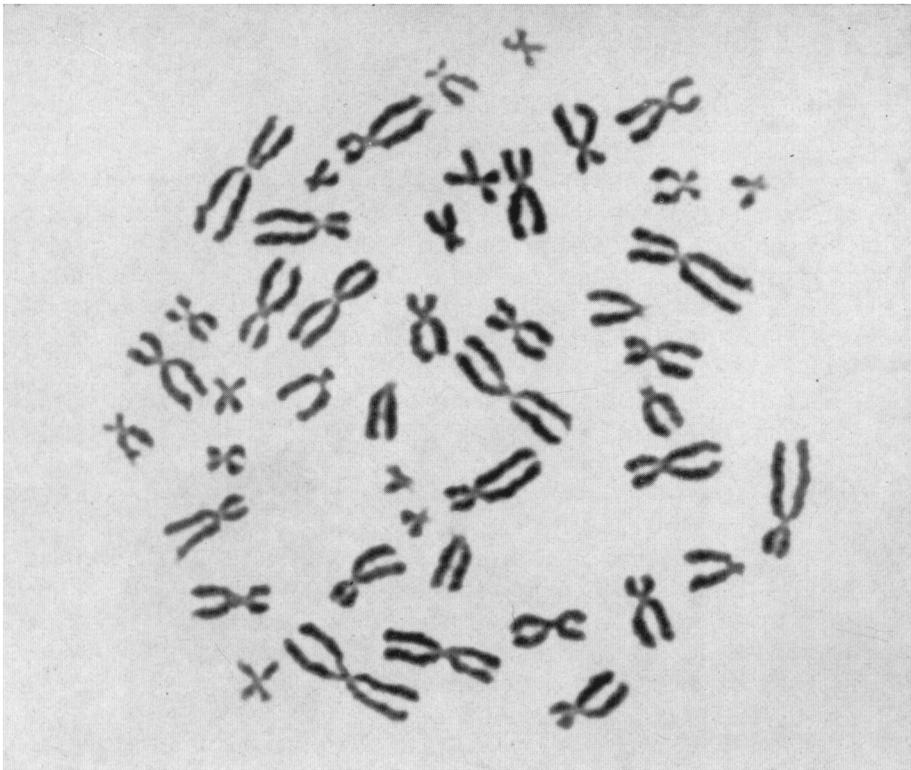
Numero cromosomico modale 45, con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X). (cfr. Fig. 1). Corpi di Barr e drumstick assenti (cfr. Tab. 1).

CASO 3. D. M. T. di anni 19. Età materna alla nascita anni 21, età paterna 23. Primogenita, una sorella di dieci anni è apparentemente normale. La madre ha avuto due aborti. La paziente è nata a termine da parto fisiologico; peso alla nascita 2500 g; sviluppo somatico ritardato. Non sono mai comparse mestruazioni. All'età di 12 anni fu eseguita una laparotomia esplorativa, e fu rilevata una grave ipoplasia dell'utero e delle salpingi, accompagnata da aplasia ovarica.

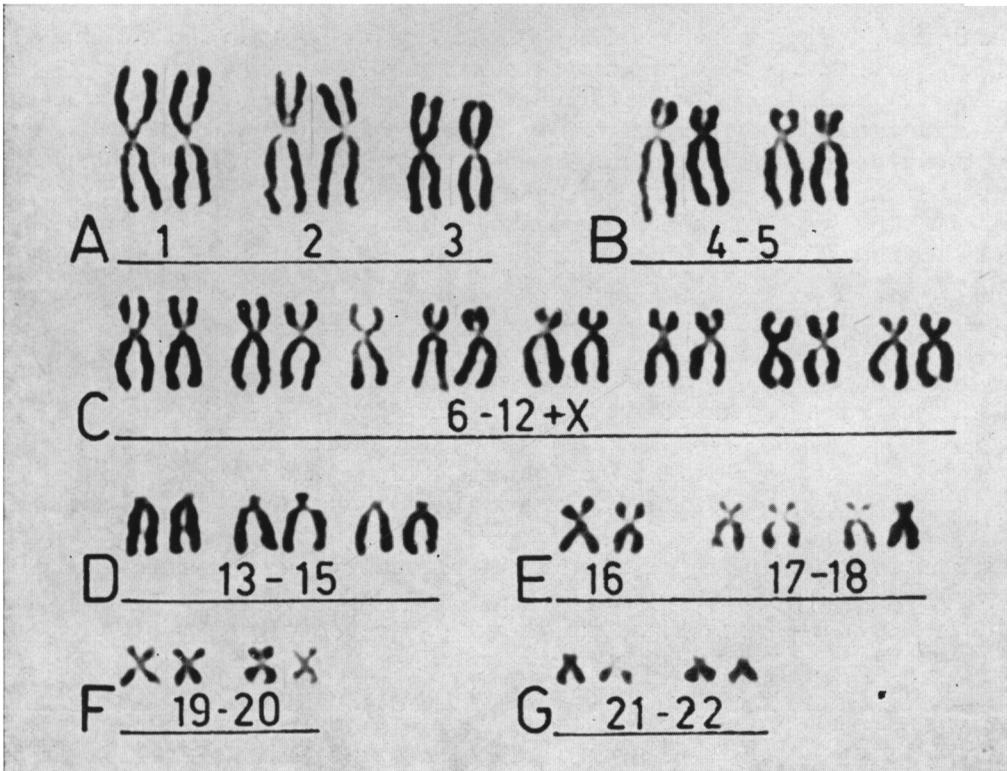
Gli esami radiologici con pielografia discendente e ascendente dimostrarono una apparente agenesia del rene destro. Due anni fa comparve una tumefazione circoscritta in sede tiroidea, che raggiunse le dimensioni di un uovo di gallina, per cui venne operata di tiroidectomia subtotale; l'esame istologico dimostra (cfr. Fig. 2) una struttura prevalentemente microfollicolare. La ricerca degli anticorpi antitiroidei nel siero è negativa. Intelligenza normale. Altezza 138 cm; peso 41 Kg. Impianto basso dei capelli alla nuca; *pterigium colli* caratteristico (cfr. Fig. 3); alcune formazioni nevice sul volto. Modesto sviluppo dei caratteri sessuali secondari dopo terapia ormonale.

Viene riferito che alla nascita la paziente presentava tumefazione degli arti inferiori. Dermatoglifi. Mano destra: formula palmare 9.7.5".2 — t t' t'' — Y.V.O.O.L; angolo atd = 40°, at'd = 53°, at''d = 66°; polpastrelli UL, UL, UL, UL, UL; conteggio totale creste = 100. Mano sinistra: formula palmare 9(10).9.5"(6).2 — t t' — W^s.O.O.L.O; angolo atd = 42°, at'd = 66°; polpastrelli UL, UL, UL, UL, UL; conteggio totale creste = 81.

Esami citogenetici: numero cromosomico modale 45, con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X); cromatina sessuale negativa nella cute, nella mucosa orale, nel sedimento urinario, e nei granulociti del sangue periferico (cfr. Tab. 1).



a



b

Fig. 1. Caso N. 2. Metafase (a) e relativo cariogramma (b): vi sono 45 cromosomi con 15 elementi nel gruppo C (6-12+X)

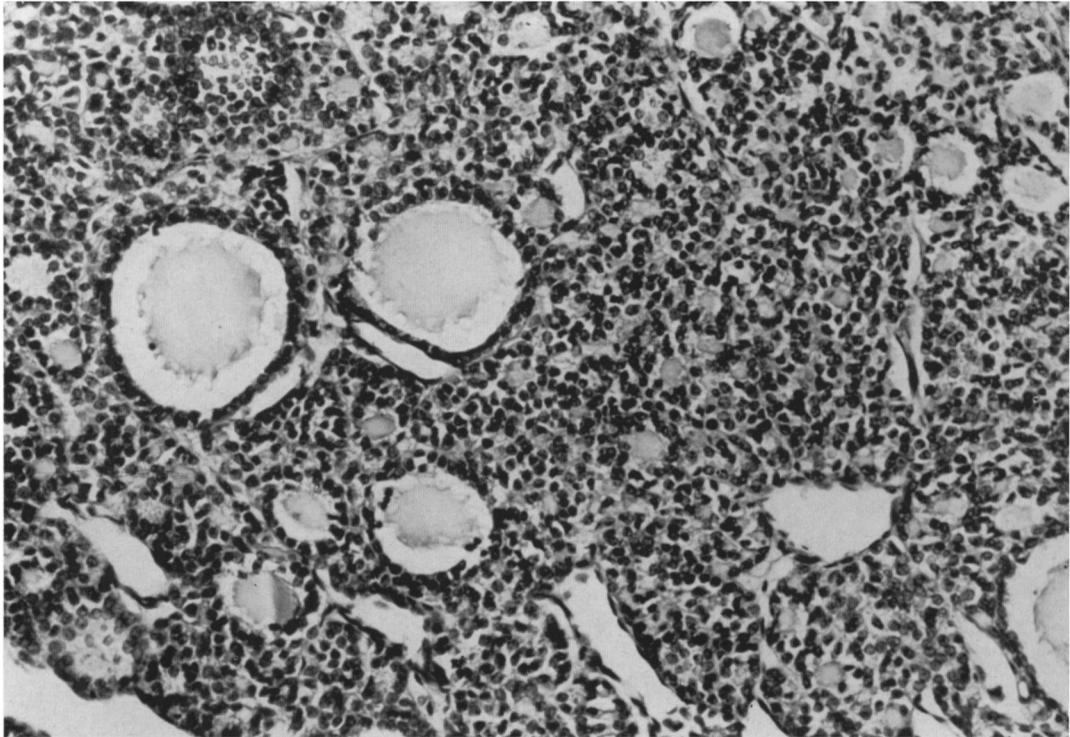


Fig. 2. Caso N. 3. Aspetto istologico della massa tiroidea

CASO 4. M. A. di anni 18. Età materna alla nascita 28 anni, età paterna 31. Terzogenita, tre fratelli ed una sorella di tre anni sono apparentemente normali. Nata a termine da parto fisiologico; sviluppo somatico ritardato. Modesto ipoevolutismo psichico. Non sono mai comparse mestruazioni. Altezza 132 cm; peso 33 Kg. Impianto basso dei capelli alla nuca, accenno a *pterygium colli*; assenza dei peli ascellari e pubici. Mammelle e genitali esterni di tipo infantile. Valgismo delle ginocchia e dei gomiti. Ricerca degli anticorpi antitiroidei nel siero: negativa. Dermatoglifi. Mano destra: formula palmare 11.11.9.5"/11 — t' — A^c.V.L.L.O; angolo at'd = 42°; polpastrelli A, A, A, UL, UL; conteggio totale creste = 18. Mano sinistra: formula palmare 11.9.7.5' — t' — A^c/V.V.M.I.O; angolo at'd = 48°; polpastrelli A, A, A, A, UL; conteggio totale creste = 7.

Esami citogenetici: il numero cromosomico modale è risultato di 45, con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X); corpi di Barr e drumstick assenti (cfr. Tab. 1).

CASO 5. I. F. di anni 50. Primogenita, una sorella e due fratelli sono apparentemente normali. Nata a termine di parto fisiologico; sviluppo psichico normale.

La paziente riferisce che per molti anni ha presentato tumefazione (di tipo lin-



Fig. 3. Caso N. 3. Caratteristico *pterygium colli* e basso impianto dei capelli alla nuca

fedematoso) alle mani ed ai piedi. Altezza 137 cm; peso 39 Kg. Modesto ipertelismo, orecchie ad impianto basso, accenno a *pterygium*; mammelle e genitali esterni di tipo infantile, assenza dei peli ascellari e pubici; valgismo delle ginocchia. Non è stato possibile eseguire la ricerca degli anticorpi antitiroidei nel siero.

Dermatoglifi. Mano destra: formula palmare 11.9.7.5' — t' — A^c.V.O.L.W; angolo at'd = 46°; polpastrelli UL, UL, W, W, UL; conteggio totale creste = 119. Mano sinistra: formula palmare 9.9.5''.5' — t' — A^c.V.O.L.O; angolo at'd = 47°; polpastrelli UL, UL, UL, W, UL; conteggio totale creste = 130.

Esami citogenetici: numero cromosomico modale 45, con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X); cromatina sessuale negativa nella mucosa orale e nei granulociti del sangue periferico (cfr. Tab. 1).

CASO 6. F. B. di anni 51. Età materna alla nascita 45 anni, età paterna 70. Ventesimofigenita di una fratria di 21. Mancano notizie precise sui fratelli. Nata a termine da parto fisiologico. Sviluppo somatico ritardato. Non sono mai comparse mestruazioni. Infantilismo psichico. La paziente è stata ricoverata due volte in Ospedale Psichiatrico per crisi depressive. Altezza 128 cm; peso 32 Kg. Al viso si notano alcuni nevi rilevati. Tiroide modicamente aumentata di volume. Assenza dello sviluppo pilifero ascellare e pubico. Mammelle e genitali esterni di tipo infantile (cfr. Fig. 4). Alla esplorazione rettale l'utero appare ipoplastico. Scoliosi destroconvessa dorso-lombare; segni radiologici di artrosi lombare; schisi del primo e secondo metameri sacrale; mancata saldatura delle epifisi delle ossa lunghe.

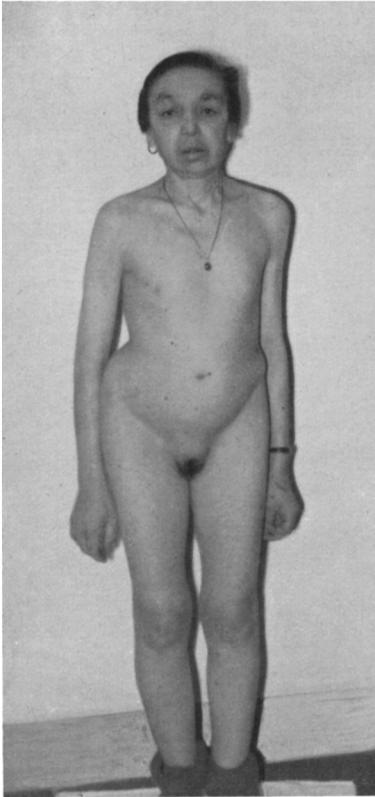


Fig. 4. Caso N. 6. Caratteri sessuali secondari di tipo infantile

Metabolismo basale: +8%. Iodemia gamma 5%/ml. Anticorpi antitiroidei positivi nel siero fino alla diluizione di 1:150.

Dermatoglifi. Mano destra: formula palmare 10(11).9.7(6).3h — t — L^r.L^c/V.O.L.O; angolo atd = 39°; polpastrelli UL, W, W, W, W; conteggio totale creste = 82. Mano sinistra: formula palmare 11(10).9.7(6).3h — t — L^r.O/V.O.L.O; angolo atd = 37°; polpastrelli UL, W, W, W, W; conteggio totale creste = 82.

Esami citologici e cromosomici: una precedente biopsia cutanea aveva dimostrato la presenza di cromatina sessuale nei nuclei epidermici. Dalle nostre indagini è risultato che i corpi di Barr erano presenti nel 42% delle cellule della mucosa orale, come pure nelle cellule del sedimento urinario: in entrambi i casi essi apparivano di dimensioni nettamente superiori al normale. Nel sangue periferico i « drumstick » erano presenti in una elevata percentuale dei granulociti, ed essi pure apparivano di grandezza abnorme. La impressione soggettiva che la cromatina sessuale in questo caso fosse di grandezza superiore al normale è stata confermata dal risultato delle misurazioni eseguite su ingrandimenti fotografici dei corpi di Barr e dei drumstick della paziente e rispettivamente di una donna cromosomicamente normale (cfr. Figg. 5 e 6): i valori medi, per 16 misurazioni ciascuno, sono apparsi di

micron² 0,842 ± 0,103 e 0,535 ± 0,075 per l'area del corpo di Barr; di micron² 1,827 ± 0,235 e 1,444 ± 0,171 per l'area del drumstick.

L'analisi cromosomica ha dimostrato, in ripetuti esami, un numero modale di 46 elementi, con 3 grandi metacentrici di aspetto simile al N° 3 dello schema di Denver e con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X) (cfr. Fig. 7). L'analisi morfologica è stata integrata dallo studio autoradiografico della incorporazione di timidina tritiata nel periodo terminale della sintesi di ADN, che ha dimostrato un netto ritardo in uno dei tre grandi metacentrici (cromosoma *caldo*, cfr. Fig. 8).

Discussione

Sul piano citogenetico, tralasciando le situazioni di mosaicismo, la maggior parte dei soggetti clinicamente classificabili come sindrome di Turner può essere suddivisa in due principali categorie:

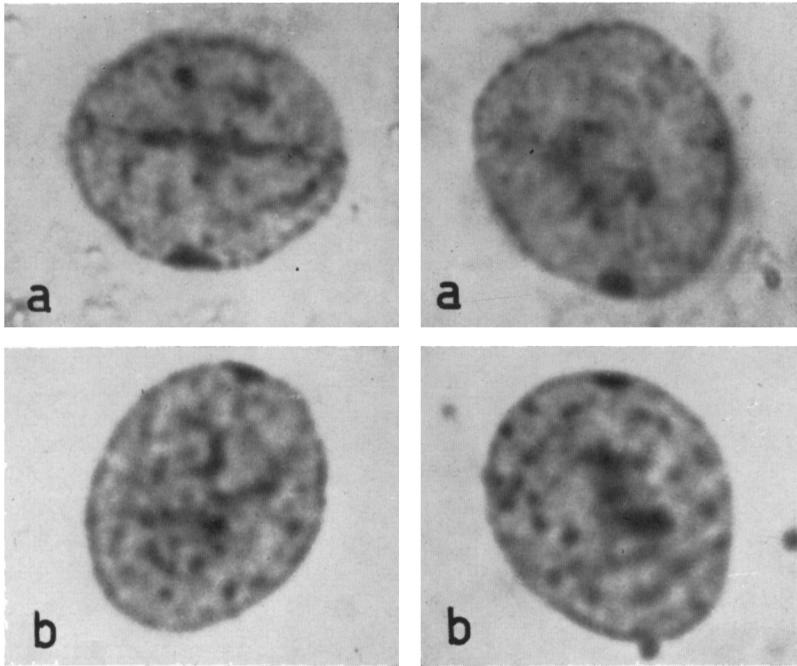


Fig. 5. Due nuclei di cellule della mucosa orale del caso N. 6 (a) e due nuclei di una donna normale (b): si noti la maggior grandezza del corpo di Barr nel caso N. 6

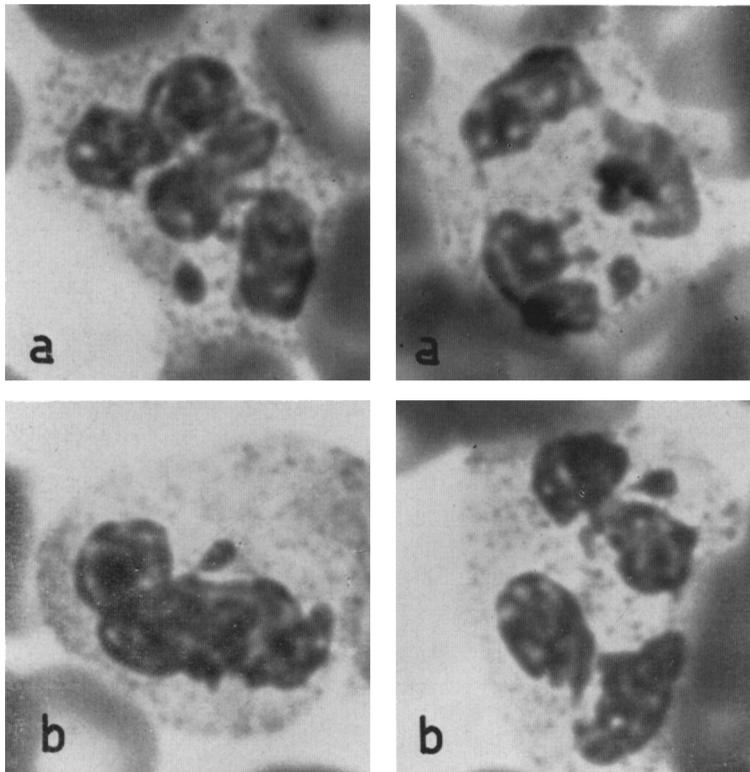
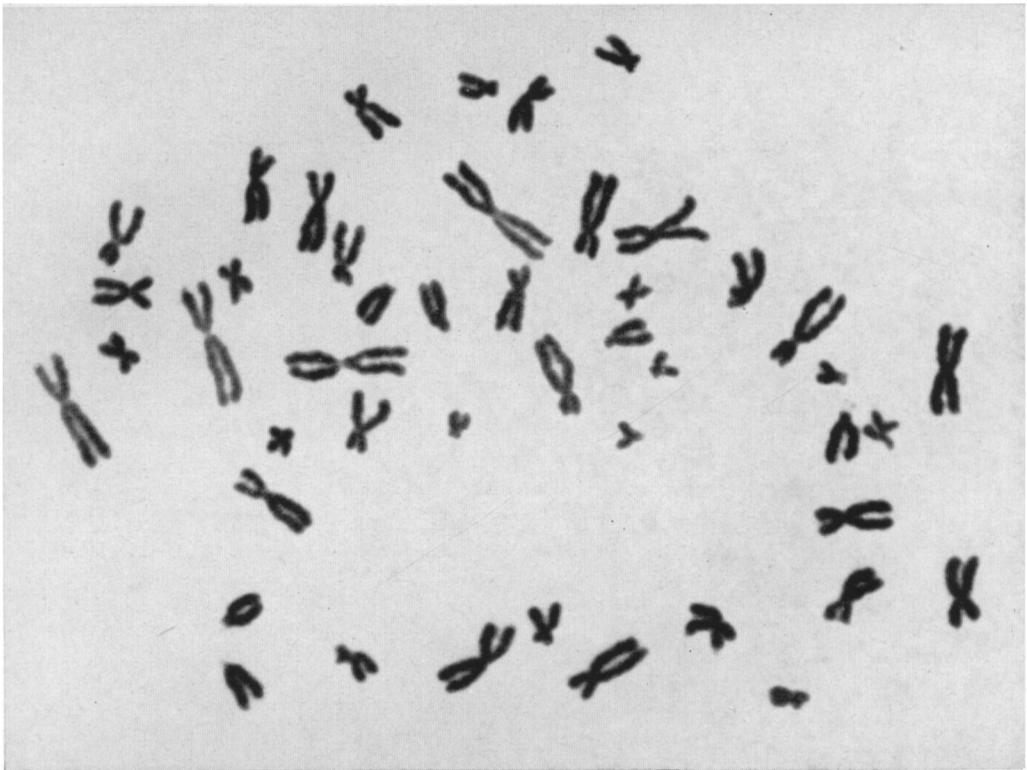
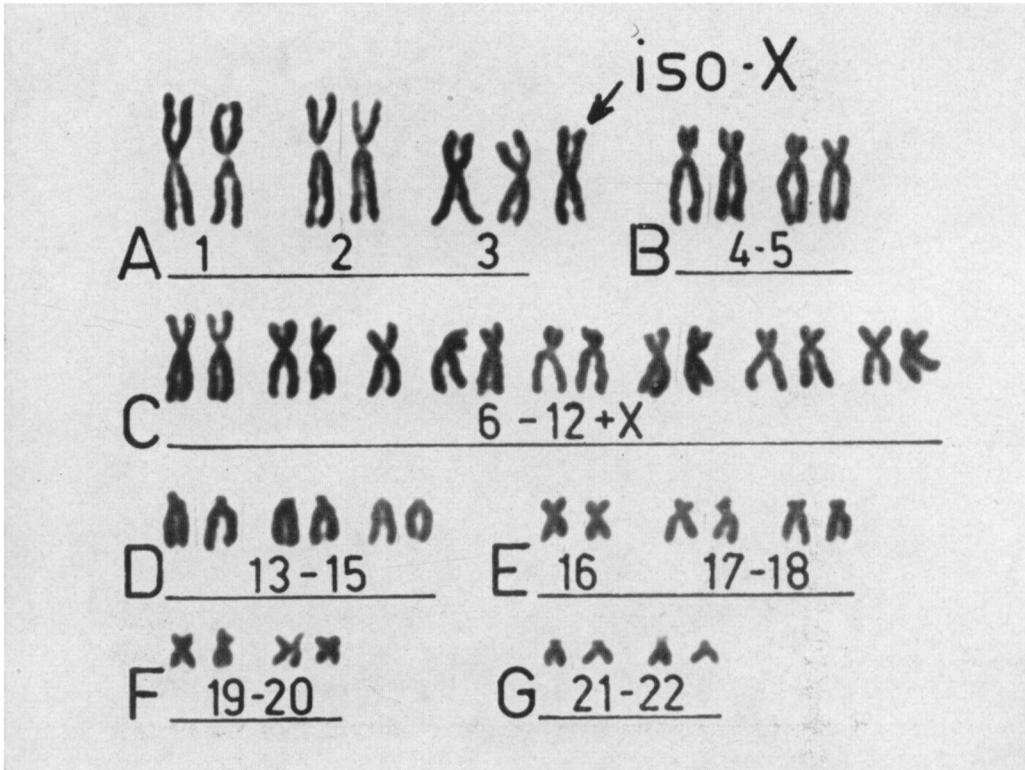


Fig. 6. Due granulociti neutrofili del caso N. 6 (a) e due granulociti neutrofili di una donna normale (b): si noti la maggior grandezza dei *drumstick* nel caso N. 6



a



b

Fig. 7. Caso N. 6. Metafase (a) e relativo cariogramma (b): vi sono 46 cromosomi, con 15 elementi nel gruppo C (6—12+X), e con tre elementi di aspetto simile al N. 3 (presunto isocromosoma per il braccio lungo dell' X, freccia)

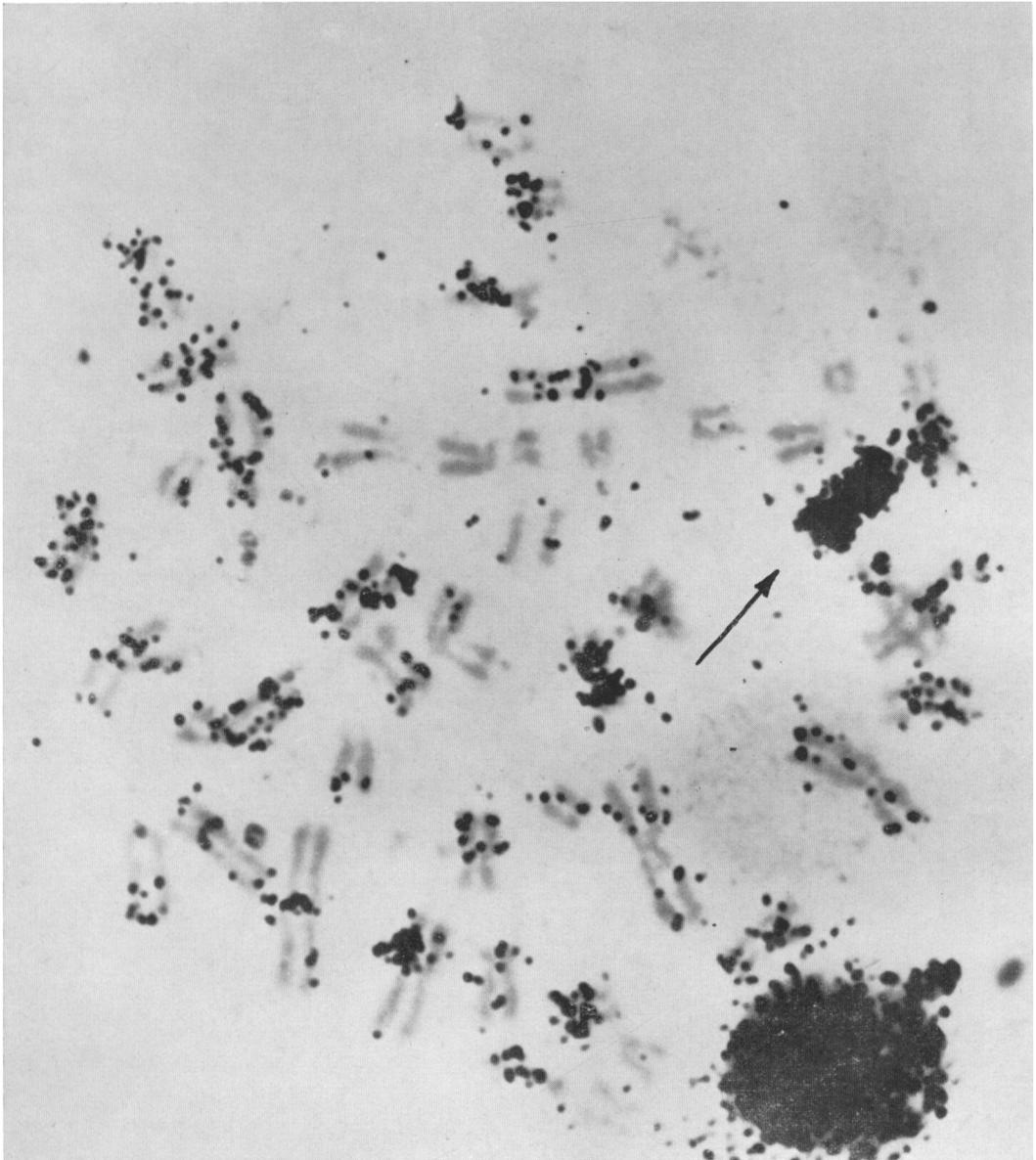


Fig. 8. Caso N. 6. Autoradiografia: nella metafase si riconosce (freccia) un cromosoma « caldo », corrispondente ad uno dei grandi mediocentrici

1. Casi cromatino negativi, con corredo cromosomico di tipo XO.
2. Casi cromatino positivi, con anomalie strutturali a carico dell' X.

Alla prima categoria, che è la più numerosa e comprende circa tre quarti dei casi, appartengono le prime cinque pazienti da noi descritte: in presenza di un corredo cromosomico formato da 45 elementi, con un cromosoma non appaiato nel gruppo C (6—12+X), la interpretazione della anomalia numerica del cariotipo come monosomia X (XO) si fonda essenzialmente sulla assenza del corpo di Barr nei nuclei epiteliali e del drumstick nei granulociti.

Tenendo presente la attuale impossibilità di identificare con certezza il cromosoma X fra i cromosomi del gruppo medio basandosi puramente sulla morfologia, la mancanza di un elemento in tale gruppo potrebbe anche essere interpretata come espressione di una monosomia autosomica, ma molti AA. ritengono che questa ipotetica situazione sarebbe letale per l'embrione (Ford et al., 1959). La interpretazione del cariotipo come monosomia X meglio si accorda invece, come esporremo più oltre, con le più recenti vedute sulle funzioni e sul comportamento del cromosoma X nell'uomo.

Alla seconda categoria appartengono varie forme di aberrazioni coinvolgenti l' X, quali le delezioni, i cromosomi ad anello, gli isocromosomi.

Quest'ultimo tipo di anomalia trarrebbe origine da una divisione in senso trasversale, invece che longitudinale, del centromero: in conseguenza di ciò il cromosoma si scinderebbe, alla anafase, in due parti costituite rispettivamente dalle braccia corte e dalle braccia lunghe. Esse migrerebbero ai poli opposti del fuso, e verrebbero infine incorporate nei nuclei delle cellule figlie. Alla successiva mitosi questi cromosomi abnormi si comporterebbero come elementi normali, aventi il centromero in posizione esattamente mediana: caratteristica fondamentale dell'*isocromosoma* è che le due braccia sono costituite da segmenti geneticamente identici. Dato che nell'uomo il braccio maggiore del cromosoma X ha una lunghezza circa doppia di quella del braccio minore, un *isocromosoma del braccio lungo dell' X* avrà dimensioni superiori di circa un terzo rispetto all' X normale, e corrispondenti approssimativamente a quelle del cromosoma N. 3 secondo lo schema di Denver.

La più frequente forma di anomalia morfologica dell' X osservata nell'uomo è quella interpretata come *isocromosoma del braccio lungo* (Fraccaro et al., 1960; Lindsten, 1963; Court Brown et al., 1964; ecc.): la nostra paziente N. 6 ne sarebbe un esempio tipico.

La caratterizzazione della anomalia a carico dell' X si basa sulla misurazione della grandezza della cromatina sessuale e sulla analisi autoradiografica della incorporazione della timidina tritiata. Per quanto riguarda il primo punto, Jacobs et al. (1960, 1961) avevano notato un diretto rapporto fra dimensioni del corpo di Barr nei nuclei della mucosa orale e le anomalie morfologiche del cromosoma X: il corpo di Barr era più piccolo del normale nei casi di presunta delezione, e nettamente più grande nei casi di presunto isocromosoma del braccio lungo. Maclean (1962) giunse ad analoghe conclusioni analizzando il comportamento del drumstick dei granulociti, e queste osservazioni sono state riconfermate e approfondite più

recentemente da Lindsten (1963) e da Fraccaro et al. (1964): il contenuto di ADN e l'area del corpo di Barr e del drumstick appaiono in diretta relazione con la grandezza del cromosoma X anomalo. Nel nostro caso N° 6 le misurazioni eseguite dimostrano chiaramente che sia il corpo di Barr che il drumstick avevano un'area maggiore che nel controllo normale. Per quanto riguarda l'analisi autoradiografica, studi recenti hanno potuto stabilire che nella femmina normale uno dei due cromosomi X termina la sua replicazione in ritardo rispetto a tutti gli altri elementi del corredo, ed è quindi identificabile nella metafase per essere dotato di una intensa radioattività (cromosoma *caldo*, Gilbert et al., 1962; Morishima et al., 1962; ecc.). Nel caso di anomalie morfologiche dell' X, in particolare di isocromosomi, il ritardo della replicazione sarebbe sempre a carico del cromosoma anomalo (Lindsten, 1963; Muldal et al., 1963; Giannelli, 1963; Miller et al., 1963; ecc.): ciò consente sia di identificarlo morfologicamente, sia di studiarne le caratteristiche intrinseche della incorporazione. Nel nostro caso F. B. uno dei tre cromosomi simili al numero 3 era *caldo*, e la sua marcatura appariva simmetrica.

I dati citogenetici che ci portano alla identificazione della anomalia del caso F. B., in accordo con i vari autori citati, possono pertanto essere così riassunti: 1) presenza di un grande metacentrico in apparente sostituzione di uno dei due X. 2) positività della cromatina sessuale, che per le sue dimensioni fa supporre che uno dei due X sia di grandezza superiore al normale. 3) identificazione autoradiografica di uno dei grandi metacentrici come X *caldo*. La deduzione che il cromosoma *caldo* sia un isocromosoma del braccio lungo dell' X, come sostengono gli autori citati, si basa sulla corrispondenza delle dimensioni delle braccia lunghe dell' X normale con le braccia del cromosoma abnorme, sulla simmetria morfologica e autoradiografica (Muldal et al., 1963), e sulla considerazione che l'ipotesi di un isocromosoma darebbe la più semplice spiegazione della esistenza di anomalie apparentemente identiche in casi diversi. Appare infatti meno probabile, anche se non è da escludere, che altri meccanismi, come traslocazioni o duplicazioni, si estrinsechino con aspetti morfologici tanto simili in casi ripetuti (Muldal et al., 1963).

Le anomalie somatiche presenti nei casi di sindrome di Turner da presunto isocromosoma sono apparentemente sovrapponibili a quelle proprie della più comune forma cromatino negativa XO; in entrambi i casi le modalità attraverso cui si esplica fenotipicamente la alterazione genotipica non sono ancora chiaramente comprese. Il problema della patogenesi della sindrome si ricollega a quello più generale del comportamento dei cromosomi sessuali, in particolare dei cromosomi X. Si ritiene oggi che nella femmina normale uno dei due X, a partire da uno stadio molto precoce dello sviluppo embrionario, assuma la proprietà di essere geneticamente inattivo (Lyon, 1962): questo fenomeno, denominato anche « lyonizzazione », avverrebbe a caso a carico dell' X materno o dell' X paterno nelle varie cellule dell'embrione, ed il carattere della inattività si trasmetterebbe successivamente a tutte le rispettive cellule discendenti. La femmina normale sarebbe in sostanza da considerare (de Grouchy et al., 1963) una specie di mosaico per quanto riguarda i due X, essendo alla fine l'uno o l'altro in stato attivo in circa metà delle cellule somatiche: questo

è stato provato per alcuni dei caratteri legati all' X nella specie umana, come ad esempio per la deficienza di glucosio — 6 — fosfato deidrogenasi (cfr. Hirschhorn e Firschein, 1964; Mittwoch 1964). Parallelamente alla inattivazione genetica, il cromosoma X « lyonizzato » assumerebbe l'aspetto di cromatina sessuale nei nuclei quiescenti, e le caratteristiche, rivelabili autoradiograficamente, della ritardata duplicazione. Questa teoria della Lyon è particolarmente adeguata alla interpretazione delle situazioni di polisomia X, ad esempio XXX: in questo caso la teoria prevede la inattivazione di due X, in accordo con la presenza di duplici corpi di Barr e di due cromosomi *caldi*, e spiega la compatibilità della aberrazione cromosomica con un normale sviluppo somatico, in quanto in ogni cellula solo uno degli X sarebbe funzionante, analogamente a quanto avviene nel soggetto cromosomicamente normale.

La patologia somatica legata ai corredi XO (sindrome di Turner cromatino negativa) non appare immediatamente comprensibile ed inquadrabile entro lo schema della Lyon, anche se effettivamente tali casi sono una evidente riprova della sufficienza e compatibilità di uno solo cromosoma X con uno sviluppo quasi normale. Ad integrare la ipotesi della Lyon, Gartler e Sparkes (1963) hanno suggerito un possibile meccanismo patogenetico delle anomalie somatiche legate alla forma XO nell'uomo, ipotizzando la formazione di due linee cellulari, contenenti rispettivamente l'unico cromosoma X in forma attiva o in forma inattiva nei primi stadi di sviluppo dell'embrione. Le cellule contenenti l' X in forma inattiva, essendo il corredo genico ad esso legato privo di funzione, verrebbero eliminate perchè non vitali, ed in conseguenza della perdita di una gran parte delle sue cellule l'embrione avrebbe uno sviluppo abnorme. La stessa Lyon (1963) ha successivamente postulato la necessità della presenza di entrambi i cromosomi X nei primi stadi di sviluppo, prima che avvenga il fenomeno della inattivazione. Nei soggetti portatori di presunto isocromosoma X, come di altre anomalie strutturali a carico dell' X, il meccanismo patogenetico sarebbe, secondo lo schema di Gartler e Sparkes 1963, analogo a quello della forma XO: al momento della inattivazione si formerebbero due stirpi cellulari, l'una contenente il cromosoma normale in stato attivo e l'isocromosoma in forma inattiva, l'altra in situazione inversa. Le cellule contenenti l'isocromosoma in stato inattivo sarebbero vitali, perchè dotate di un corredo genico funzionalmente normale; quelle contenenti l'isocromosoma in stato attivo sarebbero invece geneticamente sbilanciate, per la mancanza dei geni legati al braccio corto dell' X e per la presenza di un doppio corredo funzionante di geni legati al braccio lungo, e verrebbero perciò eliminate perchè non vitali. Potrebbero così esser spiegate sia la somiglianza clinica delle due forme di sindrome di Turner, sia la particolare situazione citogenetica dei casi con anomalie strutturali dell' X, in cui è sempre il cromosoma abnorme quello che appare sotto forma inattiva (anomalie della cromatina sessuale, ritardo della incorporazione di timidina tritiata), in apparente contrasto con il « mosaicismo somatico » casuale postulato dalla Lyon.

Un aspetto particolare della sindrome di Turner, su cui recentemente è stato posto l'accento, riguarda i rapporti con la patologia tiroidea, e con i fenomeni di autoimmunizzazione: questi rapporti sono esemplificati, nella nostra casistica, dalla

presenza di un tumore tiroideo in un caso (N° 3) con corredo XO, e di tumefazione tiroidea con anticorpi antitiroidei nel siero nel caso di isocromosoma-X (N° 6).

Primi a richiamare l'attenzione su questo problema furono Sparkes e Motulsky, 1963, i quali notarono associazione fra sindrome di Turner con isocromosoma-X e malattia di Hashimoto in due pazienti. Data la relativa rarità delle forme morbose, essi ritennero che la associazione non fosse un evento casuale e potesse fornire una traccia per la comprensione delle basi genetiche della autoimmunità.

La osservazione di Sparkes e Motulsky trovò conferma nelle ricerche di Williams et al. (1964). Questi AA. studiarono clinicamente e citogeneticamente 25 pazienti affette da sindrome di Turner, suddivise in forme cromatino negative (corredi cromosomici XO, 14 casi) e forme cromatino positive (isocromosoma-X e mosaici, 11 casi), e riesaminarono il materiale autoptico relativo ad altri 8 casi.

Essi rilevarono segni clinici di malattia tiroidea in tre casi: in uno dei casi XO era comparso ipotiroidismo, in due casi di isocromosoma-X era stata posta diagnosi di malattia di Hashimoto, nell'uno in base ai dati clinici, nell'altro in base all'esame istologico. La ricerca degli anticorpi antitiroidei nel siero dimostrò titoli elevati con uguale frequenza nei gruppi cromatino-negativo e positivo (rispettivamente 8 su 14 e 6 su 11 pazienti con titolo di 20 o più). La istologia della tiroide fu studiata in 11 casi, 8 dei quali tratti dal materiale autoptico: oltre al caso prima descritto di M. di Hashimoto, vennero riscontrate alterazioni nette in altri 7 casi, specie sotto forma di « tiroidite focale ». Williams et al., in base ai dati propri e della letteratura, conclusero che vi è « clinicamente una più elevata incidenza di malattia di Hashimoto e di mixedema primario, immunologicamente una più elevata incidenza di anticorpi antitiroidei, e istologicamente una più elevata incidenza di tiroidite » nelle pazienti affette da sindrome di Turner rispetto ai controlli.

Sono state prospettate tre diverse ipotesi per spiegare la frequenza di queste associazioni (Williams et al., 1964; Fialkow 1964).

1. Intervento di geni localizzati sul cromosoma X nella patogenesi delle malattie autoimmuni. Già Burch e Burwell avevano formulato la ipotesi che queste malattie, che sono più frequenti nelle donne, siano legate alla presenza di mutazioni dominanti sul cromosoma X.

La uguale frequenza di anticorpi antitiroidei nelle forme cromatino negative e positive, richiederebbe tuttavia una ipotesi più complessa, ad esempio (Williams et al., 1964) che la autoimmunizzazione sia condizionata da un gene recessivo, localizzato sul braccio corto dell' X, che sarebbe controbilanciato nei maschi da geni presenti sul cromosoma Y.

2. L'associazione osservata sarebbe un aspetto particolare di una più generale tendenza alla autoimmunizzazione condizionata dalle anomalie cromosomiche in generale. Entro questo schema vanno ricordate le osservazioni di Robertson et al. e di Burgio et al. (1964) sulla frequenza di anticorpi antitiroidei nella sindrome di Down, che peraltro contrastano con i dati di Day et al. (1964).

3. La frequenza di anticorpi antitiroidei nei genitori e nei familiari dei pazienti affetti da tiroidite (Hall et al., 1962; Williams et al., 1964) farebbe presupporre che

la tendenza a formare auto anticorpi *non sia conseguenza della anomalia cromosomica* (XO, isocromosoma-X, ecc.). Piuttosto la aberrazione immunologica nei genitori predisporrebbe (o causerebbe) alle aberrazioni cromosomiche meiotiche, oppure i due fenomeni abnormi sarebbero collegati fra di loro attraverso un terzo fattore capace di provarli entrambi.

La varietà stessa delle ipotesi prospettate dimostra la mancanza di dati sicuri a favore di un preciso meccanismo patogenetico.

La ipotesi che correla la autoimmunizzazione alle aberrazioni cromosomiche o con rapporto di causalità, o come conseguenza di un comune fattore patogenetico, ha, a nostro avviso, il pregio di spiegare il significativo aumento delle autoimmunizzazioni nei genitori, fenotipicamente sani, di individui affetti da aberrazioni cromosomiche; inoltre possiede il vantaggio di indicare un nuovo meccanismo patogenetico delle aberrazioni cromosomiche, direttamente sottoponibili a prova sperimentale.

Riassunto

Sono stati studiati citogeneticamente sei casi di sindrome di Turner clinicamente tipici. In cinque di essi il corredo cromosomico era interpretabile come XO. Nel sesto caso il numero cromosomico era normale, ma vi era una alterazione strutturale del cariotipo, con presenza di tre grandi metacentrici simili al numero 3 normale. Lo studio comparato dei corpi di Barr e dei drumstick, che erano di grandezza superiore al normale, e l'analisi autoradiografica della incorporazione di timidina tritiata hanno condotto alla diagnosi di presunto isocromosoma del braccio lungo dell' X.

Bibliografia

- ALBRIGHT F., SMITH P. H., FRASER R.: A syndrome characterized by primary ovarian insufficiency and decreased stature. Report of 11 cases with a digression on hormonal control on axillary and pubic hair. *Amer. J. med. Sci.*, 204: 625, 1942.
- BARR M. L.: Sex chromatin and phenotype in man. *Science*, 130: 679, 1959.
- BOYDEN S. V.: Absorption of protein on erythrocytes treated with tannic acid and subsequent hemagglutination by antiprotein sera. *J. Exper. Med.*, 93: 107, 1951.
- BURGH P. R. J., ROWELL N. R.: Autoimmunity. Aetiological aspects of chronic discoid and systemic lupus erythematosus, systemic sclerosis, and Hashimoto's thyroiditis. *Lancet*, 2: 507, 1963.
- BURWELL R. G., ROWELL N. R.: Autoimmunity and chromosomal aberrations. *Lancet*, 1: 720, 1964.
- BURGIO G. R., SEVERI F., ROSSONI R., VACCARO R.: Mongolism and thyroid autoimmunity. *Lancet*, 1: 166, 1965.
- COURT BROWN W. M., HARDEN D. G., JACOBS P. A., MCLEAN N., MANTLE D. J.: Abnormalities of the sex chromosome complement in man. Her Majesty's Stationery Office, London, 1964.
- CUMMINS H., MIDLO C.: Fingerprints, palms and soles. Dover Publications Inc. New York, 1961.
- DAY R. W., WRIGHT S. W.: Thyroid autoantibodies and sex-chromosome abnormalities. *Lancet*, 1: 667, 1964.
- ENGEL E., FORBES A. P.: Abnormal medium sized metacentric chromosome in woman with primary gonadal failure. *Lancet*, 2: 1004, 1961.
- FIALKOW P. J.: Autoimmunity: a predisposing factor to chromosomal aberrations? *Lancet*, 1: 474, 1964.
-

- FORD C. E., JONES K. W., POLANI P. E., DE ALMEIDA J. C., BRIGGS J. H.: A sex-chromosome anomaly in a case of gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet*, 1: 711, 1959.
- FRACCARO M., KAIJSER K., LINDSTEN J.: Chromosome complement in gonadal dysgenesis (Turner's syndrome). *Lancet*, 1: 886, 1959.
- IKKOS D., LINDSTEN J., LUFT R., KAIJSER K.: A new type of chromosomal abnormality in gonadal dysgenesis. *Lancet*, 2: 1144, 1960.
- LINDSTEN J., MITTWOCH U., ZONTA L.: Size of drumsticks in patients with abnormalities of the X-chromosome. *Lancet*, 2: 43, 1946.
- GARTLER S. M., SPARKES R. S.: The Lyon-Beutler hypothesis and isochromosome-X patients with the Turner's syndrome. *Lancet*, 2: 411, 1963.
- GIANNELLI F.: The pattern of X-chromosome deoxyribonucleic acid synthesis in two women with abnormal sex-chromosome complements. *Lancet*, 1: 863, 1963.
- GILBERT C. W., MULDAL S., LAJTHA L. G., ROWLEY J.: Time sequence of human chromosome duplication. *Nature (Lond.)*, 195: 869, 1962.
- GROUCHY J. de, LAMY M.: Mosaïque X/X. Mosaïque physiologique chez la femme. *Ann. Pédiat.*, 39: 153, 1963.
- HALL R., SAXENA K. M., OWEN S. G.: A study of the parents of patients with Hashimoto's disease. *Lancet*, 2: 1291, 1962.
- HIRSCHHORN K., FIRSCHEIN I. L.: Genetic activity of the X-chromosome in man. *Trans. New York Acad. Sci.*, 26: 545, 1964.
- JACOBS P. A., HARNDEN D. G., COURT BROWN W. M., GOLDSTEIN J., CLOSE H. G., MCGREGOR T. N., MCLEAN N., STRONG J. A.: Abnormalities involving the X-chromosome in women. *Lancet*, 1: 1213, 1960.
- — BUCKTON K. E., COURT BROWN W. M., KING M. J., MCBRIDE J. A., MCGREGOR T. N., MCLEAN N.: Cytogenetic studies in primary amenorrhoea. *Lancet*, 1: 1183, 1961.
- LARIZZA P., CHIRICO G., SENINI G.: La sindrome di Turner: sindrome dell'ovaio rudimentale. *Medicina*, 6: 1, 1956.
- LINDSTEN J.: The nature and origin of X chromosome aberrations in Turner's syndrome. *Almqvist & Wiksell, Stockholm*, 1963.
- LYON M. F.: Sex chromatin and gene action in the mammalian X-chromosome. *Amer. J. hum. Genet.*, 14: 135, 1962.
- Lyonisation of the X chromosome. *Lancet*, 2: 1120, 1963.
- MCLEAN N.: The drumsticks of polymorphonuclear leucocytes in sex-chromosome abnormalities. *Lancet*, 1: 1154, 1962.
- MILLER O. J., MUKHERJEE B. B., BADER S., CHRISTAKOS A. C.: Autoradiographic studies of X-chromosome duplication in an XO/X-isochromosome-X mosaic human female. *Nature (Lond.)*, 200: 928, 1963.
- MITTWOCH U.: Sex chromatin. *J. med. Genet.*, 1: 50, 1964.
- MOORHEAD P. S., NOWELL P. C., MELLMAN W. J., BATTIPS D. M., HUNGERFORD D. A.: Chromosome preparation of leukocytes cultured from human peripheral blood. *Exp. Cell Res.*, 20: 613, 1960.
- MORISHIMA A., GRUMBACH M. M., TAYLOR J. H.: Asynchronous duplication of human chromosomes and the origin of sex chromatin. *Proc. nat. Acad. Sci. (Wash.)*, 48: 756, 1962.
- MULDAL S., GILBERT C. W., LAJTHA L. G., LINDSTEN J., ROWLEY J., FRACCARO M.: Tritiated thymidine incorporation in an isochromosome for the long arm of the X chromosome in man. *Lancet*, 2: 861, 1963.
- POLANI P. E., HUNTER W. F., LENNOX B.: Chromosomal sex in Turner's syndrome with coarctation of the aorta. *Lancet*, 2: 120, 1954.
- ROBERTSON J., STUART J. S. S., MELLON J. P.: Cit. in Williams et al., 1964.
- SPARKES R. S., MOTULSKY A. G.: Hashimoto's disease in Turner's syndrome with isochromosome X. *Lancet*, 1: 947, 1963.
- TURNER H. H.: A syndrome of infantilism, congenital webbed neck, and cubitus valgus. *Endocrinology*, 23: 566, 1938.
- WILKINS L., FLEISCHMANN W.: Ovarian agenesis; pathology, associated clinical symptoms, and the bearing on the theories of sex differentiation. *J. clin. Endocr.*, 4: 357, 1944.
- WILKINS L., GRUMBACH M. M., VAN WYK J. J.: Chromosomal sex in "ovarian agenesis". *J. clin. Endocr.*, 14: 1270, 1954.

WILLIAMS E. D., ENGEL E., FORBES A. P.: Thyroiditis and gonadal dysgenesis. *New Engl. J. Med.*, 270: 805, 1964.

— Autoimmunity and chromosomal aberrations. *Lancet*, 1: 664, 1964.

ZAMPA G. A.: La patologia della determinazione e della differenziazione del sesso nell'uomo. Cappelli, Bologna, 1963.

SUMMARY

Cytogenetic studies were performed in six clinically typical cases of Turner's syndrome. In five of them an XO chromosome complement was observed. In the sixth case the chromosome number appeared normal, but karyotype analysis revealed the presence of three large metacentric chromosomes similar to No. 3. A diagnosis of presumptive isochromosome for the long arm of X was suggested by the autoradiographic evidence of late replication and by the presence of larger than normal Barr bodies and drumsticks.

RÉSUMÉ

Six cas cliniquement typiques de syndrome de Turner furent examinés au point de vue cytogénétique. Chez 5 d'entre eux le karyotype présentait XO, tandis que, chez le sixième, le numéro des chromosomes était normal, mais le karyotype présentait une altération structurale, avec trois gros chromosomes métacentriques ressemblant au N. 3. L'étude comparée des corps de Barr et des drumsticks, plus gros que d'habitude, ainsi que l'analyse autoradiographique, ont amené à un diagnostic de isochromosome présumé du bras long de l'X.

ZUSAMMENFASSUNG

Sechs klinisch typische Fälle von Turner-Syndrom wurden cytogenetisch untersucht. In fünf Fällen war die Chromosomen-Garnitur als XO zu deuten; im sechsten Falle war die Chromosomen-Anzahl normal, aber von einer strukturellen Änderung des Karyotypus begleitet (Anwesenheit von drei grossen, dem normalen Nr. 3 ähnlichen Metazentrischen). Die vergleichende Untersuchung der Barr-Körperchen und der « Drumsticks », die eine übernormale Grösse aufwiesen, und die autoradiographische Analyse führten zur Diagnose eines vermutlichen Isochromosomes im langen Schenkel des X.