



- REVISTA DE -

MEDICINA DE LABORATORIO

Disomía monoparental en anemia de Fanconi

Monoparental disomy in Fanconi anemia

10.20960/revmedlab.00033

01/14/2022

Disomía monoparental en anemia de Fanconi ***Monoparental disomy in Fanconi anemia***

Beatriz Nafría Jiménez, Laura Martínez González

Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Donostia. San Sebastián

Correspondencia: Beatriz Nafría Jiménez. Servicio de Análisis Clínicos. Hospital Universitario Donostia. Begiristain Doktorea Pasealekua, s/n. 20014 San Sebastián
e-mail: bea.nafria.95@gmail.com

Recibido: 28/06/2021

Aceptado: 02/11/2021

CASO CLÍNICO

Se presenta el caso de un recién nacido varón que, a los siete meses de vida, tras una ecografía de control, es diagnosticado de ectopia renal cruzada izquierda, con el riñón izquierdo inmediatamente debajo del riñón derecho. El paciente nació a término, de parto eutócico, de padres no consanguíneos, con una hermana sana y sin antecedentes personales o familiares de interés. En los controles posteriores, concretamente en la revisión a los nueve meses de vida, el paciente presentaba un retraso ponderal y estatural, criptorquidia, mano derecha con displasia radial de tipo II (según la clasificación de Bayne, el radio es mucho más corto de lo normal y la muñeca está curvada hacia dentro) e hipoplasia del pulgar bilateral, que se interviene quirúrgicamente.

A los dos años de edad, acude al servicio de urgencias por cuadro febril de hasta 38,5 °C de 5 días de evolución y astenia. A la auscultación, se detecta un soplo cardíaco, por lo que es derivado a la consulta de cardiología infantil, donde se identifica un *ductus* arterioso. Posteriormente, a los cinco años de edad, presenta una

progresiva anemia (hemoglobina < 70 g/L [valores de referencia, VR: 110-150]), macrocítica (volumen corpuscular medio: > 105 fL [VR: 76-95]) y trombopenia asociada (< 30 000 plaquetas/microlitro [VR: 180 000-500 000]). Asimismo, los padres refieren debilidad, letargia y palidez cutánea en el niño desde hace varias semanas. A nivel del laboratorio clínico, en el frotis de sangre periférica se observa una policromasia y frecuentes dacriocitos por campo, junto con neutropenia no acompañada de células inmaduras (blastos). Se confirma la trombocitopenia (Fig. 1). Cabe destacar la ausencia de esquistocitos, de eritroblastos y de mieleemia, lo que permite el diagnóstico diferencial de una microangiopatía o de una reacción leucoeritroblástica.

Ante estos antecedentes, se realiza el estudio de fragilidad cromosómica con diepoxibutano para el cribado de anemia de Fanconi (AF), que resulta en un aumento significativo de rupturas de los cromosomas del paciente con respecto al control. Tras los resultados, se realiza el análisis genético en el laboratorio externo de referencia mediante secuenciación de nueva generación (Next-Generation Sequencing, NGS, con un equipo Iseq Illumina®), que revela que en el cromosoma 16 presenta la mutación c.1115_1118delTTGG (p.Val372Alafs) en homocigosis, que afecta al gen *FANC-A*. Ante estos hallazgos, el paciente es diagnosticado de AF y se completa el estudio a los familiares. El análisis de las secuencias obtenidas con los *softwares* NGSEngine y GeneMapper 4.0 detectó en la madre la misma mutación: c.1115_1118delTTGG en heterocigosis en el gen *FANC-A*, mientras que su padre y su hermana no presentaban dicha variante familiar. Tras el análisis del cariotipo molecular, se obtuvo que el paciente presentaba una pérdida de heterocigosidad de 10564 Kb en el brazo largo del cromosoma 16, que comprende el gen *FANC-A*, y que incluye la mutación c.1115_1118delTTGG. Por lo tanto, dicha variante no segrega de la forma más esperada y la AF diagnosticada se debe a una isodisomía monoparental de origen materno. Es decir, el paciente presenta en el par cromosómico 16 dos fragmentos

homólogos provenientes de un solo progenitor (en este caso, la madre) y, además, ambos fragmentos son los que tienen la mutación del gen *FANC-A* responsable de la anemia de Fanconi.

Dado que el tratamiento capaz de corregir el defecto hematológico subyacente a la AF es el trasplante de células madre hematopoyéticas de un donante sano y HLA-compatible, se estudia la histocompatibilidad con su hermana. Ante la obtención de un HLA no compatible y la imposibilidad de encontrar otro donante, actualmente participa en un ensayo clínico de terapia génica. Esta estrategia biotecnológica supone una alternativa segura y eficaz que podría ayudar en el tratamiento de la anemia de Fanconi, así como en enfermedades con etiopatogenia genética.

DISCUSIÓN

La anemia de Fanconi (AF) es una enfermedad hereditaria que se asocia a una inestabilidad cromosómica ocasionada por mutaciones en genes que participan en procesos de reparación del ADN (1).

Fue descrita por primera vez en 1927 por el pediatra Guido Fanconi. Epidemiológicamente, se define como una enfermedad pediátrica rara cuya prevalencia es de 1/250 000-1/350 000 de los nacidos vivos. La frecuencia de portadores es de 1 de cada 300, aunque algunos grupos como los judíos askenazi o la raza gitana española alcanzan valores estimados de 1 de cada 70 (2).

La etiopatogenia es multigénica y autosómica recesiva, de manera que, en la mayoría de los casos, para que un individuo padezca la enfermedad, ambos progenitores deben ser portadores y este debe recibir el gen defectuoso de la AF de ambos. Desde el punto de vista genético es una enfermedad compleja, ya que hay 22 genes involucrados, que van a corresponder a los distintos grupos de complementación. Todos ellos están implicados en una ruta de respuesta al daño en el ADN: la vía FANC/BRCA (2,3). Las mutaciones de los genes *FANC-A* (16q24.3, 60%), *FANC-C* (9q22.3) y *FANC-G* (9p13) son las más frecuentes, pues representan más del 80% de los casos. Cabe destacar que los genes *FANC-S* y *FANC-D1* corresponden

a los genes supresores de tumores *BRCA1* y *BRCA2*, respectivamente, de manera que, cuando una sola copia de estos está mutada, existe un mayor riesgo de desarrollar cáncer de mama y de ovario (3). Una excepción son los pacientes del grupo de complementación B, ya que presentan un patrón de herencia ligado al cromosoma X. *FANCB* es el único gen ubicado en el cromosoma X (Xp22.31) (4).

Hay evidencias de que todas las proteínas codificadas por los genes FANC actúan sobre una vía común implicada en la reparación de entrecruzamientos entre cadenas del ADN: en esta vía de Fanconi participa un complejo central de 8 proteínas FANC (FANC-A, B, C, E, F, G, L y M) y 6 factores asociados. Dicho complejo es esencial para que ocurra la formación y posterior monoubiquitinación del heterodímero FANCD2-FANCI, con lo que se activa así una cascada de reacciones para la reparación del material genético y se transmiten señales a puntos de control del ciclo celular (5). Como estos pacientes no pueden reparar los enlaces cruzados, se mantiene una unión entre ambas hebras de ADN, lo que imposibilita la división celular y da lugar a la muerte de las células hematopoyéticas. Este fallo de los mecanismos de reparación condiciona una exacerbada sensibilidad de las células de los pacientes a agentes que generen enlaces cruzados en el ADN. Estos agentes pueden ser físicos (radiaciones ionizantes o luz ultravioleta) o químicos (entre los que destacan la mitomicina C [MMC] o el diepoxibutano [DEB]) (6). De hecho, el aumento de aberraciones cromosómicas inducidas por la MMC y el DEB a dosis bajas proporciona la base para el test diagnóstico de la AF.

Las manifestaciones clínicas son multisistémicas. Se caracterizan por malformaciones congénitas (hiperpigmentación o manchas “café con leche” de la piel, aplasia de pulgares, microftalmia, microcefalia, estrabismo, malformaciones renales, etc.), aplasia medular y pancitopenia progresiva. Asimismo, presentan una alta predisposición tumoral (leucemia aguda, síndromes mielodisplásicos y tumores sólidos de tipo carcinoma escamoso de cabeza y cuello). De hecho, es

el síndrome de insuficiencia de médula ósea hereditario más frecuente (7).

El diagnóstico clínico es difícil debido a la gran variabilidad de manifestaciones que presentan estos pacientes, por lo que se necesitan pruebas específicas de laboratorio para poder confirmarlo. De manera que, cuando las malformaciones congénitas no son prominentes, el diagnóstico puede retrasarse hasta la aparición de la insuficiencia de la médula ósea. Cuando un niño presenta pancitopenia en repetidos hemogramas o padece hemorragias o infecciones frecuentes, debe sospecharse un fallo medular y realizarse una aspiración y una biopsia medular para su estudio. Asimismo, la sospecha de AF puede confirmarse por el test de hipersensibilidad frente a agentes capaces de generar entrecruzamientos, como el DEB o MMC, sobre linfocitos purificados de una muestra de sangre periférica (6). No obstante, los grandes avances en biología molecular y secuenciación han permitido identificar las variantes genéticas de interés para mejorar la confirmación diagnóstica (8,9). En este caso, debido a la marcada heterogeneidad genética de *locus* y alélica, su estudio inicialmente fue abordable mediante análisis genómicos más precisos con NGS. Asimismo, el estudio genético puso de manifiesto la existencia de una isodisomía monoparental de origen materno, incluyendo la mutación del gen *FANC-A* del cromosoma 16, como causa de esta patología pediátrica rara.

En cuanto al tratamiento, la alteración medular es la principal causante de morbilidad y mortalidad. Por ello, actualmente el único tratamiento capaz de corregir el defecto hematológico es el trasplante de células madre hematopoyéticas de un donante sano y HLA-compatible (10). A la espera de dicho donante, se proponen tratamientos sintomáticos como transfusiones de concentrados de hematíes y plaquetas o la administración de andrógenos orales como estimuladores de la médula ósea. No obstante, un problema en estos pacientes con AF es la alta susceptibilidad de sus células a los

tratamientos de acondicionamiento pretrasplante. Por lo tanto, en los casos de incompatibilidades y mayores riesgos, una alternativa sería el uso de la terapia génica, como la empleada en este caso. Actualmente, el uso de esta terapia está en fase de ensayo clínico y consiste principalmente en la introducción de células madre hematopoyéticas del propio individuo que, previamente, han sido corregidas genéticamente a través del uso de un vector lentiviral con el gen correcto.

En el caso presentado, destaca su participación en el ensayo español FANCOLEN, escenario de la primera experiencia mundial en el tratamiento con terapia génica de niños con AF (9). Para ello, al paciente se le administra el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y plerixafor como inductores de la movilización de células madre hematopoyéticas hacia la sangre periférica, de donde son extraídas. Como vector, se utiliza un lentivirus al que previamente se le ha introducido el gen de interés sano que, en este ensayo, es el gen *FANC-A*. A continuación, se produce *in vitro* la transducción del lentivirus a las células y la posterior reinfusión de estas células modificadas en el paciente. Mediante recombinación homóloga, se sustituirá el gen afectado por el sano en las células madre hematopoyéticas para que repueblen la médula ósea del enfermo y se diferencien las tres estirpes celulares.

De manera que un correcto abordaje de varias secciones del laboratorio clínico, junto con las nuevas herramientas moleculares, han permitido el diagnóstico de un caso de AF y que el paciente tenga la oportunidad de participar en un ensayo clínico en busca de tratamiento y de una mejora de la calidad de vida.

PUNTOS A RECORDAR

- La anemia de Fanconi es un trastorno hereditario autosómico recesivo. Hasta la fecha se han identificado 22 genes implicados en la ruta de respuesta al daño en el ADN de la vía FANC/BRCA.

- Este fallo de los mecanismos de reparación condiciona una exacerbada sensibilidad de las células a agentes inductores de enlaces cruzados en el ADN, como la mitomicina C y el diepoxibutano. Dicho aumento de la fragilidad cromosómica proporciona la base para el diagnóstico diferencial.
- Las manifestaciones clínicas son multisistémicas y se caracterizan por una baja estatura, hiperpigmentación, aplasia de pulgares y malformaciones renales y cardíacas. A nivel hematológico, un 80-90% de afectados padece aplasia medular y pancitopenia progresiva. La evolución puede empeorar a un síndrome mielodisplásico o a una leucemia mieloide aguda. Estas personas presentan alta predisposición tumoral.
- El caso presentado se debe a una isodisomía uniparental de origen materno, fenómeno muy poco frecuente y, más aún, en pacientes con esta enfermedad pediátrica rara.
- Las nuevas técnicas de diagnóstico genético molecular han favorecido la detección de casos como éste, lo que permite un análisis precoz y favorece su inclusión en nuevas terapias.

BIBLIOGRAFÍA:

1. Tischkowitz M, Dokal I. Fanconi anaemia and leukaemia - clinical and molecular aspects: Review. *British Journal of Haematology* 2004;126(2):176-91. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2004.05023.x
2. Solomon PJ, Margaret P, Rajendran R, Ramalingam R, Menezes GA, Shirley AS, et al. A case report and literature review of Fanconi Anemia (FA) diagnosed by genetic testing. *Italian Journal of Pediatrics* 2015;41(1):38. DOI: 10.1186/s13052-015-0142-6
3. García-Higuera I, Taniguchi T, Ganesan S, Meyn MS, Timmers C, Hejna J, et al. Interaction of the Fanconi anemia proteins and BRCA1 in a common pathway. *Molecular Cell* 2001;7(2):249-62. DOI: 10.1016/S1097-2765(01)00173-3

4. Moldovan G-L, D'Andrea AD. How the Fanconi anemia pathway guards the genome. *Annual Review of Genetics* 2009;43(1):223-49. DOI: 10.1146/annurev-genet-102108-134222
5. Ceccaldi R, Sarangi P, D'Andrea AD. The Fanconi anaemia pathway: new players and new functions. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*.2016;17(6):337-49. DOI: 10.1038/nrm.2016.48
6. García-de-Teresa B, Rodríguez A, Frías S. Chromosome instability in fanconi anemia: From breaks to phenotypic consequences. *Genes (Basel)* 2020;11(12):1528.
7. Antonio Casado J, Callén E, Jacome A, Río P, Castella M, Lobitz S, et al. A comprehensive strategy for the subtyping of patients with Fanconi anaemia: conclusions from the Spanish Fanconi Anemia Research Network. *Journal of Medical Genetics* 2007;44(4):241-9.
8. Dokal I. The genetics of Fanconi's anaemia. *Best Practice & Research Clinical Haematology* 2000;13(3):407-25.
9. Río P, Navarro S, Wang W, Sánchez-Domínguez R, Pujol RM, Segovia JC, et al. Successful engraftment of gene-corrected hematopoietic stem cells in non-conditioned patients with Fanconi anemia. *Nature Medicine* 2019;25(9):1396-401.
10. Deng W, Zhao M, Liu Y, Cao L, Yang M. Fanconi anemia in twins with neutropenia: A case report. *Oncology Letters* 2018;16(4):5325-30.

Figura 1. Frotis de sangre periférica (tinción May-Grünwald-Giemsa). Imágenes tomadas con Cellavision® y Sysmex XN-10. A Serie roja. Se señalan los dacriocitos. B. Serie blanca. A la izquierda se observan neutrófilos con ligero refuerzo de la granulación. A la derecha se observan linfocitos de morfología conservada. No se han visto células inmaduras (blastos).