

Diagnóstico clínico y de laboratorio de la anemia de Fanconi

Dra. Benilde García-de Teresa,¹ Dra. Victoria del Castillo,¹ M en C Bertha Molina,¹ Dra. Sara Frías^{1,2}

RESUMEN

La anemia de Fanconi (AF) es una enfermedad genética, autosómica recesiva o ligada al cromosoma X, que cursa con pancitopenia, malformaciones congénitas y predisposición a desarrollar cáncer. Se conocen 15 grupos de complementación relacionados con defectos en 15 genes diferentes que participan en la vía AF/BRCA, encargada de la respuesta al daño en el DNA. El diagnóstico clínico se dificulta debido a que es una entidad heterogénea que comparte algunas alteraciones del eje radial, aplasia medular y retardo en el crecimiento, que se superponen con las de otras enfermedades como la Asociación VATER/VACTERL, la anemia de Diamond-Blackfan o el síndrome de Nijmegen. El diagnóstico de laboratorio se realiza con el análisis de aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas con diepoxibutano en la sangre periférica, en la médula ósea o en los fibroblastos. Este análisis se considera como el estándar de oro. En este artículo se describen las características clínicas, que permiten al médico de primer contacto sospechar AF, y el estudio citogenético específico para confirmar el diagnóstico.

Palabras clave: Anemia de Fanconi, diepoxibutano, aberraciones cromosómicas, asociación VATER/VACTERL, anemia de Diamond-Blackfan, síndrome de Nijmegen.

ABSTRACT

Fanconi anemia (FA) is a genetic disease, either autosomal or X-linked recessive, which presents with pancytopenia, congenital malformations and predisposition to cancer. There are 15 known complementation groups that correspond to defects in 15 different genes involved in the pathway FA/BRCA which is responsible for the response to DNA damage. Clinical diagnosis is difficult because it is a heterogeneous entity that shares characteristics such as alterations of the radial axis, aplastic anemia and retarded growth, that overlap with those seen in other diseases such as the association VATER/VACTERL, Diamond-Blackfan anemia and Nijmegen syndrome. Laboratory diagnosis is based on the analysis of chromosomal aberrations either spontaneous and/or induced by diepoxybutane in peripheral blood, bone marrow or in fibroblasts. This test is considered the gold standard. This article discusses the clinical features to be considered by the first contact physician to suspect FA, as well as the specific cytogenetic study to confirm the diagnosis.

Key words: Fanconi anemia, diepoxybutane, chromosomal aberrations, VATER/VACTERL association, Diamond-Blackfan anemia, Nijmegen syndrome.

¹ Departamento de Investigación en Genética Humana, Instituto Nacional de Pediatría

² Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, UNAM

Correspondencia: Dra. Sara Frías. Laboratorio de Citogenética. Instituto Nacional de Pediatría. Insurgentes Sur 3700-C, 6° Piso Colonia Insurgentes Cuicuilco CP 04530 Mexico D.F. Mexico. Teléfono y Fax: +52 55 10845533, 10 84 09 00 Ext 1436 E-mail: sarafrias@yahoo.com

Recibido: agosto, 2011. Aceptado: diciembre, 2011.

Este artículo debe citarse como: García-de Teresa B, del Castillo V, Molina B, Frías S. Diagnóstico clínico y de laboratorio de la anemia de Fanconi. Acta Pediatr Mex 2012;33(1):38-43.

www.nietoeditores.com.mx

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La anemia de Fanconi (AF), fue descrita en 1927 por el pediatra Guido Fanconi, es una enfermedad, de origen genético, que presenta falla en la hematopoyesis, malformaciones congénitas principalmente del radio y del pulgar (Figura 1) y predisposición a desarrollar neoplasias. Se estima que la prevalencia de la AF va de uno a cinco afectados por millón con una frecuencia de portadores de 1/300 en Europa y Estados Unidos. En México no existen datos epidemiológicos. Algunos grupos poblacionales presentan



Figura 1. Ausencia de pulgar, hipoplasia tenar.

mayor prevalencia de la enfermedad debido a mutaciones fundadoras o con alta tasa de consanguinidad como en Israel ¹.

La AF puede clasificarse dentro de varios grupos de enfermedades, como un síndrome de falla medular, ya que la característica hematológica primordial es la anemia aplásica, presente en más de 90 por ciento de los afectados. La pancitopenia se desarrolla entre los cinco y diez años. La primera manifestación es la macrocitosis, la siguen la trombocitopenia y la neutropenia ². Clínicamente, los pacientes presentan palidez, sangrado e infecciones de repetición y alrededor de 7 por ciento de los pacientes desarrolla síndrome mielodisplásico ³.

La AF se considera un síndrome de inestabilidad cromosómica, ya que de manera espontánea se encuentra en sus células una alta frecuencia de aberraciones cromosómicas y es hipersensible a agentes que dañan el DNA especialmente a los alquilantes bifuncionales ⁴.

La AF también se considera como un síndrome que predispone a cáncer. Estos pacientes desarrollan neoplasias

a edades tempranas, generalmente en la adolescencia. La neoplasia más frecuente es la leucemia, cuya incidencia acumulada es 37 por ciento y la edad media de inicio es 11.3 años. La leucemia mieloide aguda (LMA) es la más frecuente y ocurre en 94 por ciento de los pacientes con AF. Además, el riesgo de desarrollar una vasta gama de tumores sólidos es 50 veces mayor para pacientes con AF que para la población general, con una edad promedio de presentación de 30 años. Los tumores sólidos más frecuentes son los carcinomas de células escamosas de cabeza y cuello y del aparato genital femenino ³.

Las principales manifestaciones clínicas se muestran en el Cuadro 1. A pesar de que existe una amplia variedad de malformaciones congénitas hasta en 70 por ciento de los pacientes ², generalmente suelen pasar varios años para que aparezcan las alteraciones hematológicas que permiten sospechar el diagnóstico, lo cual se dificulta aún más si no hay defectos al nacimiento, por lo que no se deben pasar por alto las alteraciones de pigmentación y el retardo en el crecimiento pre y postnatal.

Un criterio importante a considerar es la expresividad variable, ya que hay variación fenotípica intrafamiliar, inclusive discordancia entre gemelos monocigóticos, así un hermano puede tener alguna o múltiples malformaciones y el otro carecer de ellas.⁵

HERENCIA DE LA ANEMIA DE FANCONI

Hasta la fecha, se han identificado 15 grupos de complementación (A, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L, M, N, O y P), que corresponden a defectos en 15 genes diferentes, cuyos productos están involucrados en una misma vía de respuesta a un daño al ADN: la vía AF/BRCA, llamada así porque varios de sus genes están relacionados con los genes de cáncer de mama y el gen *BRCA2* es el mismo que el *FANCD2*. Esta vía participa en la reparación de enlaces covalentes cruzados del DNA, que genera rupturas y aberraciones cromosómicas. En la mayoría de los individuos con AF, se han identificado en estos genes mutaciones en estado homocigoto, lo que corresponde a un patrón de herencia autosómico recesivo, a excepción de los pacientes que pertenecen al grupo de complementación B en quienes se ha identificado un patrón de herencia ligado al cromosoma X causado por mutaciones en *FANCB* (Xp22.31) ⁶. La mutación en cualquiera de los componentes de la vía de reparación AF/BRCA se traduce en un fenotipo celular

Cuadro 1. Características clínicas de pacientes con anemia de Fanconi. Modificado de (8,9)

Piel (64%)	Hipo o hiperpigmentación, manchas café con leche.
Crecimiento (63%)	Retardo intrauterino, talla baja.
Craneofacial	Craneosinostosis, frente prominente, micrognatia. Ojos (38%): microftalmia, hipo o hipertelorismo, fisuras palpebrales pequeñas, almendradas, ptosis, epicanto, estrabismo, cataratas. Oídos: pabellones auriculares prominentes, bajos, rotados, microtia, conductos auditivos pequeños o ausentes, ausencia de membrana timpánica, esclerosis de huesecillos del oído medio.
Otras alteraciones esqueléticas (71%)	Eje radial: hipoplasia tenar, ausencia o hipoplasia del radio, del pulgar o de ambos, pulgar flotante, bífido, digitalizado o desplazado. Columna: espina bífida, fusión vertebral, xifosis, agenesia o hipoplasia sacra. Tórax: ausencia clavicular, deformidad de Sprengel, anomalías costales. Miembros torácicos: anomalía humeral, hipoplasia o aplasia cubital, braquidactilia, aracnodactilia. Miembros pélvicos: enfermedad de Perthes, displasia o luxación de cadera, asimetría de extremidades inferiores, pie equino varo.
Riñón y tracto urinario (34%)	Riñón ectópico, en herradura, rotado, hipoplásico o ausente, hidronefrosis, hidrouréter, reflujo, estenosis uretral.
Genital	Hipogenitalismo, disgenesia gonadal. Masculinos (20%): micropene, hipospadias, pene con cuerda, fusión penoescrotal, fimosis, criptorquidia, testículos atróficos o ausentes. Femeninos: ovarios displásicos o ausentes, útero bicorne, hipoplasia o aplasia uterina, atresia o hipoplasia vaginal, fusión o hipoplasia de labios vulvares.
Cardiológico (13%)	Persistencia de conducto arterioso, defecto septal ventricular, estenosis pulmonar o aórtica, atresia pulmonar, coartación de aorta, doble arco aórtico, tetralogía de Fallot, cardiomiopatía.
Gastrointestinal (14%)	Atresia esofágica, atresia duodenal, atresia anal, atresia de vías biliares, fístula traqueoesofágica, membrana duodenal, páncreas anular, malrotación intestinal, obstrucción intestinal.
Sistema nervioso central (SNC) (8%)	Microcefalia, hidrocefalia, malformaciones arteriales del SNC, hipófisis anormal, ausencia de septum pellucidum/cuerpo calloso, malformación de Arnold-Chiari, ventrículo único, defecto del tubo neural.
Hematológicas	Anemia aplásica de inicio celular variable. Promedio de inicio de pancitopenia 7 años. A los 20 años, 84% de pacientes con neutropenia, a los 40 años, 98%.
Cáncer	Hematológico: alteraciones clonales citogenéticas en 67% de los pacientes a los 30 años. Leucemia mieloide aguda o síndrome mielodisplásico en 52% de los pacientes a los 40 años. Tumores sólidos (inicio en adulto joven): tumores hepáticos, carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello, esófago, cérvix, vulva.
Funcionales	Alteraciones endócrinas (73%): disfunción hipotálamo-hipofisaria, hipotiroidismo, obesidad, dislipidemia, metabolismo anormal de glucosa/insulina, síndrome metabólico. Disfunción gonadal (65%): infertilidad (50% mujeres, casi 100% en varones) oligo o azoospermia, menstruaciones irregulares, menopausia precoz, gestación con preeclampsia y prematuridad. Osteopenia y osteoporosis: en 92% en mayores de 18 años. Hipoacusia (11%): principalmente conductiva. Retraso psicomotor o retraso mental: en 16% de los pacientes.
Mortalidad	Edad promedio de fallecimiento 13 años, por complicaciones hemato-oncológicas. A los 40 años ha fallecido el 81% de los pacientes. Perspectiva: mayor supervivencia por control de la hematopoyesis, mayor riesgo de incremento de tumores sólidos.

similar, con fragilidad cromosómica y alteraciones en el ciclo celular que se exacerban por la exposición a agentes alquilantes debido a la hipersensibilidad de las células AF a estos compuestos.

La distribución de los pacientes en estos 15 grupos es desigual. Se han detectado mutaciones en el gen *FANCA* (16q24.3) en 65% de los pacientes, en *FANCC* (9q22.3) en 15% y en *FANCG* (9p13) y *FANCE* (6p21.3) en 10 y 5 por ciento respectivamente. El resto de los pacientes se distribuye entre los 11 grupos de complementación restantes y su frecuencia es baja^{1,7}. Existen algunos pacientes con diagnóstico confirmado de AF a los que no ha sido posible asociar a alguno de los grupos de complementación conocidos. Se supone que portan mutaciones en otros genes de la vía AF que aún no han sido identificados.

DIAGNÓSTICO CLÍNICO DIFERENCIAL

La AF es una entidad clínicamente heterogénea que comparte características que se imbrican con diversos cuadros, en particular con afectación del eje radial, aplasia medular y retraso del crecimiento^{5,8,9} como los siguientes:

1. Alteraciones del eje radial.
 - 1.1 Asociación VATER/VACTERL. Es el principal diagnóstico a considerar por la presencia de defectos a nivel vertebral, anal, traqueo-esofágico, radial y renal; pueden cursar con hidrocefalia.
 - 1.2 Síndrome de Baller-Gerold: Craneosinostosis, aplasia radial.
 - 1.3 Síndrome de trombocitopenia y aplasia radial (TAR): la trombocitopenia es congénita; el defecto radial es bilateral.
 - 1.4 Síndrome de Townes- Brocks: Alteración anal y pulgares bífidos.
 - 1.5 Síndrome de Holt-Oram: Cardiopatía congénita, pulgar digitalizado, es autosómico dominante.
2. Aplasia de médula ósea.
 - 2.1 Disqueratosis congénita: Hiperpigmentación y cambios ungueales desde los diez años, falla medular después de los 20 años y riesgo de desarrollar neoplasias.
 - 2.2 Síndrome de Shwachman-Diamond: Pancitopenia en 20%, leucemia en 25%, edad de inicio variable desde uno a 43 años. Se acompaña de otras manifestaciones como insuficiencia pancreática, alteraciones metafisiarias óseas.

2.3 Anemia de Diamond-Blackfan: Aplasia de precursores de la serie eritroide. Inicia en el primer año con anemia normocrómica o macrocítica, 30% de los pacientes tiene malformaciones congénitas como labio y paladar hendido o malformaciones en extremidades superiores y urogenitales.

3. Trastorno del crecimiento

3.1 Síndrome de Seckel: Talla muy baja pre y postnatal, nanocefalia, retraso psicomotor, nariz prominente.

3.2 Síndrome de Dubowitz: Talla baja, microcefalia, frente estrecha, ptosis palpebral.

4. Hipersensibilidad a agentes que dañan el ADN.

4.1 Síndrome de Nijmegen: Microcefalia, deficiencia inmune, hipersensibilidad a radiación ionizante. No cursa con aplasia medular.

Salvo los síndromes de Seckel y Nijmegen, ninguna de las otras entidades presenta inestabilidad cromosómica con incremento de aberraciones espontáneas o inducidas.

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Las 15 proteínas que intervienen en la vía AF/BRCA están encargadas de reconocer y reparar los enlaces cruzados del DNA, que detienen la progresión de la horquilla de replicación en fase S; si la vía es anormal como en los pacientes con AF, se genera inestabilidad genómica y se manifiesta a nivel celular como fragilidad cromosómica espontánea⁴ y una elevada respuesta a la exposición a agentes alquilantes bifuncionales como la mitomicina C (MMC) y el diepoxibutano (DEB), que genera una elevación muy importante de aberraciones cromosómicas. Esta característica se utiliza en todo el mundo para hacer el diagnóstico de AF. El DEB ha sido el compuesto más utilizado debido a que induce menos daño cromosómico sobre todo en los individuos sanos, por lo que se obtienen más y mejores metafases y una diferencia más amplia entre los pacientes a diagnosticar y sus testigos (Figura 2).

El diagnóstico citogenético analizando aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas por DEB se considera el estándar de oro en esta enfermedad. Para realizarlo se hacen cultivos de linfocitos de sangre periférica y se analiza la fragilidad cromosómica identificando rupturas cromatídicas y cromosómicas, fragmentos céntricos y acéntricos, figuras radiales y otras alteraciones reunidas como translocaciones, anillos, etc.¹⁰. El número de células que se analizan varía entre 25 y 100 por individuo y

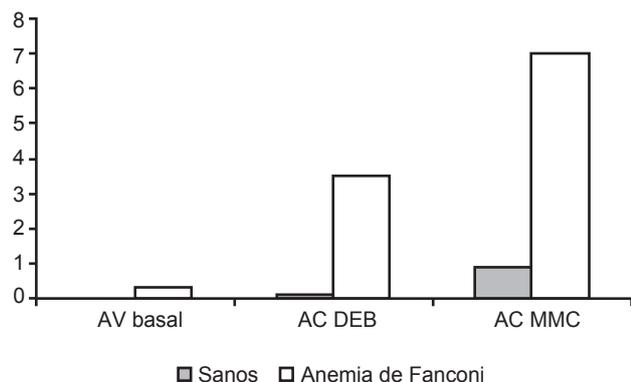


Figura 2. Frecuencias de aberraciones cromosómicas (AC) por célula. Datos obtenidos de los promedios de frecuencias históricas del INP. Se observa que las AC espontáneas o basales son mayores en los pacientes con AF que en los testigos sanos, sin embargo los valores pueden no tener diferencias significativas. Cuando se analizan las aberraciones inducidas por mitomicina C (MMC) y diepoxibutano (DEB), las AC se incrementan significativamente, sobre todo con MMC, aunque la mayor diferencia entre individuos sanos y enfermos con AF se encuentra cuando se tratan los linfocitos con DEB.

por tratamiento. Para obtener un diagnóstico confiable es esencial que siempre se analice un individuo sano, puesto que las condiciones del cultivo o bien del agente al que se exponen las células pueden variar, de manera que el diagnóstico se obtiene de la diferencia de frecuencias de aberraciones cromosómicas entre el individuo sano y el paciente con AF, que es aproximadamente diez veces mayor en este último. Estas frecuencias no parecen modificarse por variables como el origen étnico, según puede observarse comparando los resultados de un grupo de pacientes españoles y mexicanos (Cuadro 2).

Es importante resaltar que algunos pacientes con AF tienen células normales (se les llama mosaicos), que son debidas generalmente a cualquiera de dos fenómenos: reversión de la mutación o conversión génica, lo que genera un alelo normal y por lo tanto la célula en la que ocurrió cualquiera de estos eventos y sus descendientes son normales. En estos casos el diagnóstico citogenético se dificulta debido a que por la presencia de estas células, la frecuencia de aberraciones cromosómicas disminuye y puede dar lugar a falsos negativos. Para este tipo de situaciones, Surrallés y su grupo en España, dan una forma alternativa de analizar los resultados citogenéticos: se toma en cuenta el porcentaje de células dañadas, lo que genera un índice de fragilidad cromosómica (CFI), que

Cuadro 2. Aberraciones cromosómicas espontáneas e inducidas con Diepoxibutano en linfocitos de sangre periférica de sujetos sanos y pacientes con Anemia de Fanconi

Origen de los linfocitos	n	Promedio de aberraciones/célula	Rango
Aberraciones cromosómicas espontáneas			
Individuos sanos del INP	117	0.04	0.0-0.32
Individuos sanos de España	105	0.03	0.0-0.24
Pacientes con AF del INP	18	0.30	0.04-1.6
Pacientes con AF de España	68	0.25	0.0-1.6
Pacientes con probable AF del INP	99	0.07	0.0-0.48
Aberraciones cromosómicas inducidas por diepoxibutano (0.1 µg/mL)			
Individuos sanos del INP	117	0.09	0.0-0.28*
Individuos sanos de España	105	0.06	0.0-0.26
Pacientes con AF del INP	18	3.39	1.32-5.86
Pacientes con AF de España	68	4.34	1.38-10.0
Pacientes con probable AF del INP	99	0.10	0.0-0.72

n = número de individuos estudiados

* Del estudio de Esmer, no se incluyó un paciente probable AF ni al individuo sano que fue su control, debido a que en ambos el DEB se aplicó a una concentración diferente. (Esmer 2004; castella, 2011).

proviene de la fórmula: $CFI = (\% \text{ de células aberrantes})^* \text{ (rupturas/células multiaberrantes)}$, en donde se consideran las rupturas directas y las figuras que fueron convertidas al número mínimo de rupturas necesarias para formarlas. Con ésta fórmula se considera que un $CFI > 40$ debe tomarse como positivo para AF ⁶.

Es importante señalar que en muchas ocasiones, los pacientes llegan al momento del diagnóstico cuando han recibido múltiples transfusiones, lo cual puede generar resultados citogenéticos confusos, por lo cual se recomienda que en estos pacientes el diagnóstico se realice después de tres meses por lo menos a partir de la última transfusión o bien se cultiven fibroblastos de piel.

Los pacientes con AF en nuestro país están subdiagnosticados. Es muy importante que los médicos de primer contacto estén sensibilizados y sospechen esta entidad en todo paciente con alteración del eje radial, diagnóstico de asociación VACTERL, anemia aplásica, síndrome mieloproliferativo o leucemia mieloide aguda, ya que en algunos casos, alguna de estas enfermedades ha sido la primera manifestación de la AF.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tamary H, Nishri D, Yacobovich J, Rama Zilber, Dgany O, Krasnov T et al. Frequency and natural history of inherited bone marrow failure syndromes: the Israeli Inherited Bone Marrow Failure Registry. *Haematologica* 2010;95(8):1300-7.
2. Dokal I. Fanconi's anemia and related bone marrow failure syndromes. *Br Med Bull* 2006;77:37-53.
3. Neveling K, Kalb R, Schindler D. Cancer in Fanconi anemia and Fanconi Anemia Genes in Cancer. En: Schindler D, Hoehn H. (Eds. Wurzburg) *Fanconi Anemia A Paradigmatic Disease for the Understanding of Cancer and Ageing*. Basilea, Suiza: Karger: 2007.p. 59-78.
4. Kee Y, D'Andrea A. Expanded roles of the Fanconi anemia pathway in preserving genomic stability. *Genes Develop* 2010;24:1680-94.
5. Neveling K, Endt D, Hoehn H, Schindler D. Genotype-phenotype correlations in Fanconi Anemia. *Mutat Res* 2009;668:73-91.
6. Castella M, Pujol R, Callén E, Ramírez MJ, Casado JA, Talavera M, et al. Chromosome fragility in patients with Fanconi anaemia: diagnostic implications and clinical impact. *J Med Genet* 2011;48(4):242-50.
7. Alter B. Frequency and natural history of inherited bone marrow failure syndromes: the Israeli Inherited Bone Marrow Failure Registry. *Haematologica* 2010;95(8):1300-7.
8. Tischkowitz MD, Hodgson SV. Fanconi anaemia. *J Med Genet* 2003;40:1-10.
9. Auerbach AD. Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutat Res* 2009;668:4-10.
10. Esmer C, Sanchez S, Ramos S, Molina B, Frias S and Carnevale A. DEB test for Fanconi anemia detection in patients with atypical phenotypes. *Am J Med Genet* 2004;124A:35-9.



ASOCIACIÓN MEXICANA DE LA ENFERMEDAD DE HUNTINGTON IAP

La Asociación Mexicana de la Enfermedad de Huntington (AMEH) es la primera y única institución que brinda apoyo y asistencia a pacientes y familiares que viven con este padecimiento.

¿Sabe qué servicios asistenciales brinda la AMEH?

Una enfermedad del cuerpo y de la mente

- | | | |
|----------------------|------------------|---------------------|
| *Terapia ocupacional | *Fisioterapia | *Psicoterapia |
| *Terapia de lenguaje | *Terapia musical | *Terapia espiritual |
| *Servicio médico | *Terapia de yoga | *Cuidador |

- * Alimentación a los que asistan a terapias a la AMEH
- * Distribución de medicamentos, pañales y suplementos alimenticios
- * Apoyo con equipo (camas de hospital, colchones de agua, etc.)
- * Información, orientación y apoyo psicológico sobre la enfermedad de Huntington
- * Ayuda con pasajes para asistir a terapias en la Asociación
- * Entrega de una despensa mensual por paciente

Informes:

Tesoreros 97 esquina Cuauhtémoc,
Col. Toriello Guerra, Del. Tlalpan, CP 14050
Tel.: (55) 5424-3325. Fax: (55) 5424-3189