

PËRDORIMI I DIEPOXY-BUTANIT NË ANALIZËN CITOGJENETIKE TË PACIENTËVE ME ANEMI FANKONI

***ROKO D.¹, BABAMETO – LAKU A.¹, MOKINI V.¹, BALI D.², DAMA A.³**

¹Shërbimi i Gjenetikës Mjekësore, QSU, “Nënë Tereza”, Fakulteti i Mjekësisë, Tiranë

²Shërbimi i Onkohematologjisë, QSU, “Nënë Tereza”, Fakulteti i Mjekësisë, Tiranë

³Universiteti “Albanian University”, Tiranë

e-mail: dorinaroko@yahoo.com

Përmbledhje

Anemia Fankoni është një sëmundje gjenetike e rrallë dhe futet në grupin e sindromave të quajtura çrregullime me thyerje kromozomike. 3 pacientë janë diagnostikuar me aneminë Fankoni nga tiparet klinike dhe konfirmimi me analizë konvencionale citogjenetike. Po paraqesim rastin e një pacienti, të seksit mashkull, në moshën 4 vjeçare, i cili paraqet pancitopeni, shtat të shkurtër, mikrocefali dhe njolla kafe – qumësht në trup. Pacientet e tjera ishin dy vajza binjake, në moshën 10 vjeçare. Një nga ato paraqet pancitopeni, strabizëm, njolla kafe-qumësht dhe polidaktili, ndërsa motra e saj paraqet vetëm pancitopeni dhe njolla kafe-qumësht. Ekzaminimi citogjenetik nga gjaku periferik duke përdorur diepoxy-butanin (DEB), në përputhje me International System for Cytogenetic Nomenclature 2013 (ISCN 2013) zbuloi thyerje kromozomike. Nëpërmjet këtyre rasteve edhe një herë theksojmë faktin se në vendosjen e diagnozës për sindromet e thyerjeve kromozomike një rol të rëndësishëm përveç tipareve klinike ka ekzaminimi citogjenetik. Këshillimi gjenetik, ekzaminimi citogjenetik dhe diagnoza e paralindjes janë të rekomanduara për familjet që kanë të sëmurë me aneminë Fankoni.

Abstract

Fanconi anemia (FA) is a rare hereditary disease in a heterogeneous group of syndromes, so-called chromosome breakage disorders. 3 patients were diagnosed with FA by clinical features and confirmed by chromosome analysis. We report a boy, 4 years old who presented pancytopenia, short stature, microcephaly and café-au-lait spots. The other patients were two twin girls, 10 years old. One of them presented pancytopenia, strabismus, café-au-lait spots and polydactyly and her sister only pancytopenia and café-au-lait spots. The cytogenetic examination from peripheral blood, using diepoxybutane (DEB), according to International System for Cytogenetic Nomenclature 2013 (ISCN 2013) revealed chromosome breakages. Through these cases once again emphasized the fact that in establishing the diagnosis for chromosomal breakage syndromes an important role expect clinical features has the chromosomal analysis. Genetic counseling, cytogenetic examination and prenatal testing are recommended for families who have a patient with FA.

Fjalëkyçe: Anemia Fankoni, citogjenetika standarde, pancitopenia, konfigurime kuadriradiale, thyerrje.

Hyrje

Anemia Fankoni (AF) është një sëmundje gjenetike, reçesive autozomike, klinikisht dhe gjenetikisht e ndryshme që shkakton paqëndrueshmëri kromozomike. Pacientët me anemi Fankoni shfaqin thyerje kromozomike në mënyrë spontane dhe rreziku për tumore solide rritet me moshën. Nga karakteristikat klinike më të shpeshta mund të përmendim: pancitopeninë dhe hiperpigmentimin e lëkurës që ndodh në mbi 60% të pacientëve (Joenje, *et al.*, 2000; Shaffer, *et al.*, 2009). Një nga keqformimet më të shpeshta është ai i sistemit skeletor. Shenja të tjera klinike të anemisë Fankoni janë: vonesa në rritjen para dhe pas lindjes, keqformime të veshkave, zemrës dhe skeletit, infertilitet dhe disa sëmundje të lëkurës (Paulo, *et al.*, 2003).

Zakonisht pacientët me anemi Fankoni kanë 15000 herë rrezik më shumë se të tjerët për të shfaqur sëmundje kancerogjene në moshën pediatrike, të shprehura me disa lloje tumoresh hematologjike dhe solide. Nga këto sëmundje mund të përmendim: leukozën, sindromin mielodisplazik dhe kancerin e mëlçisë, rreziku për shfaqjen e të cilave rritet me moshën (Neveling, *et al.*, 2009; Joenje & Patel 2001; Sanja 2011). Anomalitë më pak të shprehura në këtë sëmundje janë: a) defektet gastrointestinale (atrezia ezofageale dhe duodenale), b) defektet kardiake (defekti i septumit ventrikular, stenoza pulmonare, stenoza e aortës dhe koarktacioni), c) defekte të sistemit nervor (hidrocefalia dhe defekte të tubit neural).

Për shkak të natyrës heterogjene të shfaqjes së sëmundjes, anemia Fankoni është vështirë të diagnostikohet nga të dhënat klinike, prandaj shumë e rëndësishme është të zbulohen thyerjet kromozomike që ndodhin në mënyrë spontane në qelizat e këtyre pacientëve. Duke përdorur një agjent lidhës me ADN-në si diepoxy-butani, rritet numri i thyerjeve kromozomike duke siguruar kështu bazat për testin diagnostikues (Chen, 2006; Stoll, *et al.*, 2009; Dufour & Svahn, 2008). Në këtë studim përdorimi i diepoxy-butanit ka pasur rol të rëndësishëm për diagnozën diferenciale të pacientëve me anemi Fankoni me dyshime klinike të shumta. Analiza citogjenetike konvencionale vë në dukje kariotip pa anomali numerike kromozomike, por referohet paqëndrueshmëri kromozomike me anomali të shumta. Anomalitë tipike citogjenetike përfshijnë thyerjet dhe riorganizimet kromozomike, endodyfishimin, ose formimin e triadave apo tetradave. Në aneminë Fankoni këmbimet zakonisht ndodhin ndërmjet kromozomeve johomologe (Pinto, *et al.*, 2009). Për shkak se FA është një sëmundje reçesive autozomike të sëmurët nuk kanë histori familjare për sëmundjen. Për prindërit, të cilët kanë një fëmijë të sëmurë me FA, rreziku i rishfaqjes të sëmundjes është 25%. Diagnoza e paralindjes bazohet në shpeshësinë e lartë të thyerjeve kromozomike të induktuara nga diepoxy-butane në qelizat e vëna në kulturë të likidit amniotik.

Materiali dhe metodat

Ekzaminimet e citogjenetikës standarde janë kryer në leukocitet e gjakut periferik, si qeliza që kanë aftësinë për t'u rritur dhe për t'u ndarë me shpejtësi në kulturat qelizore in-vitro sipas protokollit të "International System for Human Cytogenetic Nomenclature 2013" (ISCN 2013). Protokollit i procedurës të citogjenetikës standarde është kryer sipas teknikave të mëposhtme:

- a. Marrja dhe mbjellja e gjakut
- b. Stimulimi me fitohematoglutininë dhe veprimi me agjentin lidhës DEB
- c. Hapja e materialit në lama
- d. Bandimi i kromozomeve me banda G
- e. Ngjyrimi i preparateve me tretësirë Giemsa
- f. Vrojtimi i lamave me aparatën për kariotipizimin automatik (Workstation Genikon)

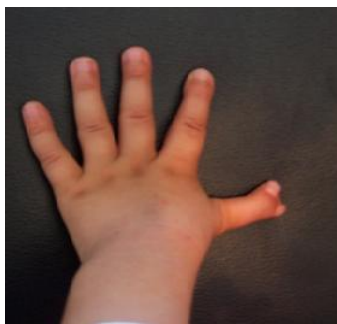
Në ekzaminimin citogjenetik u përdor kariotipi me bandat G duke analizuar 25-30 metafaza për secilin pacient. Kromozomet e tre pacientëve të marrë në studim, me praninë e DEB mund të thyhen në mënyrë spontane dhe po kështu spontanisht mund të riorganizohen për të formuar figura radiale.

Rezultatet dhe diskutime

3 pacientë janë diagnostikuar me aneminë Fankoni nga të dhënat klinike dhe konfirmimi me ekzaminime citogjenetike. Nga pacientët asnjë nuk ka pasur histori familjare për aneminë Fankoni më parë. Po paraqesim një pacient, të seksit mashkull, në moshën 4 vjeçare, i cili paraqet pancitopeni, shtat të shkurtër, mikrocefali dhe njolla kafe – qumësht në trup, aplazi të gishtit të madh të dorës së djathtë dhe praninë e një falangu distal të dyfishuar (bifid) në gishtin e madh të dorës së majtë (Fig.1).



a



b

Figura 1. Pamje nga: a) aplazia e gishtit të madh të dorës së djathtë, b) prania e një falangu distal të dyfishuar në gishtin e madh të dorës së majtë

Pas përdorimit të diepoxy-butanit u vu re se, 2 % e metafazave paraqesin thyerje kromozomike. Riorganizimet kromozomike që formohen nga thyerjet kromatidike formojnë konfigurimet kuadriradiale si në figuren 2.

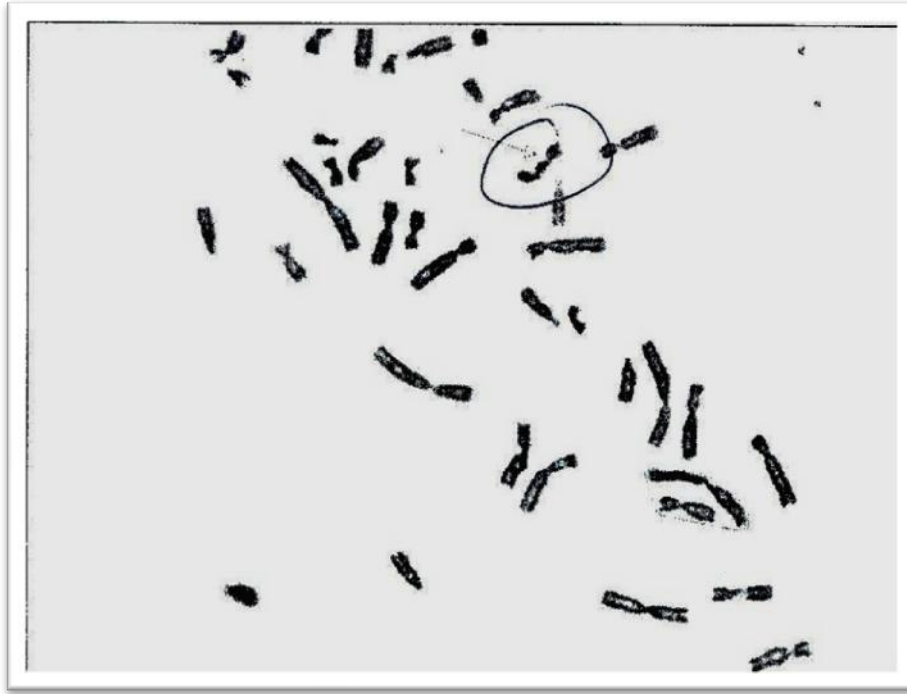


Figura 2. Konfigurimet kromozomike pas veprimit të diepoxy-butanit

Pacientet e tjera ishin dy vajza binjake, në moshën 10 vjeçe. Tek njëra u konstatua pancitopeni, strabizëm, njolla kafe-qumësht dhe polidaktili, ndërsa tek motra e saj konstatuam vetem pancitopeni dhe njolla kafe-qumësht si në figurën 3.



a



b

Figura 3. a,b Pamje e njollave kafe - qumësht në pjesë të ndryshme të trupit

Ekzaminimi citogjenetik nga gjaku periferik duke përdorur diepoxy-butanin (DEB), në përputhje me International System for Cytogenetic Nomenclature 2013 (ISCN 2013) zbuloi se 8% dhe 20% e metafazave të analizuar tek motrat binjake paraqesin konfigurime kuadriradiale, të cilat formohen nga thyerjet kromozomike dhe riorganizimet e kromatideve si në figuren 4. Këto konfigurime janë vënë re nën veprimin e DEB nga 32-82% të qelizave edhe në një artikull të botuar në Bosnje (Sanja Cirkovic, *et al.*, 2011).

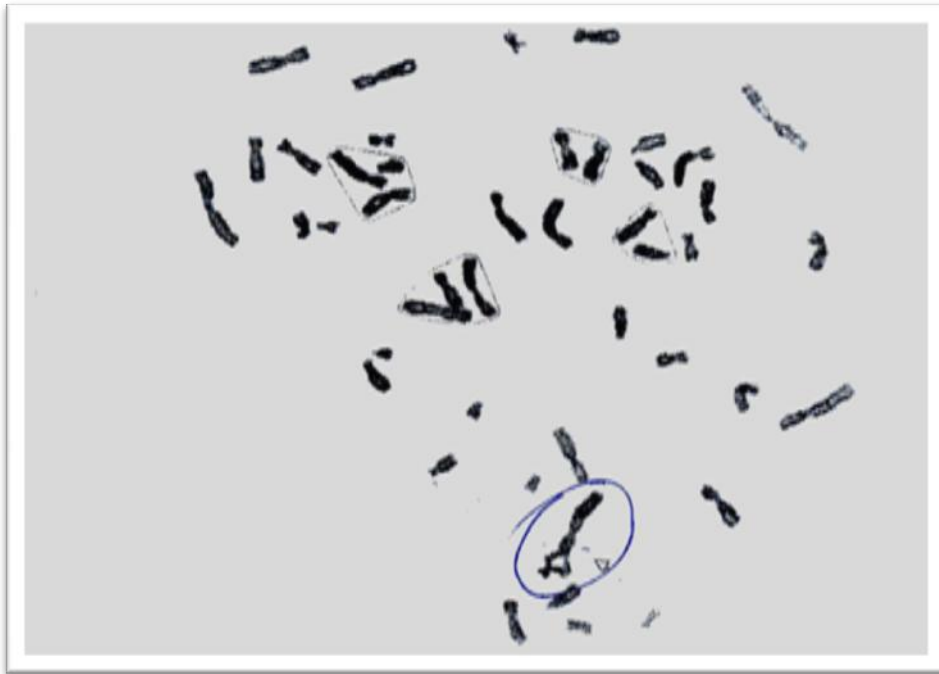


Figura 4. Fushë kromozomike e pacientes sonë të diagnostikuar me anemi Fankoni

Anemia Fankoni, një sëmundje me tejçimin reçesiv autozomal konsiderohet si një çrregullim me një herogjenitet të lartë klinik dhe gjenetik. Testet që përdoren në vendosjen e kësaj diagnoze varen nga mosha e pacientit, simptomat e shfaqjes së sëmundjes, si edhe nga historia familjare që paraqet pacienti.

Edhe pse anemia Fankoni është një sëmundje gjenike dhe jo kromozomike, në vendosjen e diagnozës një rol shumë të rëndësishëm përveç klinikës (e cila shpesh ka ngjashmëri me shumë sëmundje të tjera) merr ekzaminimi i kariotipit. Testi që përdor diepoxy-butanin (DEB) është konsideruar si metoda e artë për vendosjen e kësaj diagnoze.

Përfundime

Vendosja e diagnozës të saktë me anën e analizës së mësipërme, ndihmon personelin mjekësor në zgjedhjen e terapisë së duhur për monitorimin e pacientit, si edhe mundëson këshillimin gjenetik për pacientin në veçanti dhe familjen e tij në përgjithsi.

Paraqitja e këtyre rasteve konfirmon dhe një herë faktin që në vendosjen e diagnozës për sindromet e thyerjeve kromozomike një rol të rëndësishëm përveç tipareve klinike ka ekzaminimi citogjenetik. Këshillimi gjenetik, ekzaminimi citogjenetik dhe diagnoza e paralindjes janë të rekomanduara për familjet që kanë të sëmurë me anemi Fankoni.

Për shkak se anemia Fankoni ka shumë shenja dhe simptoma si sëmundjet e tjera, vetëm testet gjenetike mund të konfirmojnë diagnozën. Shfaqja dhe zbulimi herët mund të ndihmojnë në menaxhimin e këtyre sëmundjeve që janë kërcënuese për jetën.

Literatura

Joenje, H., Levitus, M., Waisfisz, Q., D'Andrea, A., et, al. (2000): Complementation analysis in Fanconi anemia: assignment of the reference FA-H patient to group. *Am J Hum Genet* 67; 759-76

Paulo Ricardo G. Zen, Felipe Nora de Moraes, Rafael Fabiano M. Rosa, Carla Graziadio, et al. (2003): Clinical characteristics of patients with Fanconi anemia. Cytogenetic and molecular diagnosis of Fanconi anemia. *Rev Bras Hematol Hemoter* 25; 191-2

Shaffer L G, Slovak M L, Campbell L J, ISCN (2009): An International System for Human Cytogenetic Nomenclature. Basel: S. Karger.

Neveling K, Endt D, Hoehn H, Schindler D.(2009): Genotype-phenotype correlations in Fanconi anemia. *Mutat Res* 668; 73-91

Joenje H, Patel KJ (2001): The emerging genetic and molecular basis of Fanconi anaemia. *Nat Rev Genet* 2; 446-57

Sanja Cirkovic (2011): Diagnosis of Fankoni's anemia by diepoxybutane analysis in children from Serbia, ORIGINAL ARTICLE, *BJMG* 14/2; 65-70

Chen H (2006): Atlas of genetic diagnosis and counseling. New Jersey: Humana Press

Stoll C, Alembik Y, Dott B, Roth MP (2009): Associated malformations in patients with esophageal atresia. *Eur J Med Genet* 52; 287-90

Dufour C, Svahn J (2008): Fanconi anemia, new strategies. *Bone Marrow Transplant* 41 (Suppl 2): S 90-5

Pinto FO, Leblanc T, Chamoussat D, Le Roux G, Brethon B, Cassinat B et al (2009): Diagnosis of Fanconi anemia in patients with bone marrow failure. *Haematologica* 94; 487-95