بررسی هتروژنیتی بالینی و شکست کروموزومی در بیماران ایرانی مشکوک به آنمی فانکونی

ساغر قاسمی فیروز آبادی[۱]
یوسف شفقتی[۱]، الهه کیهانی[۱]
رکسانا کریمی‌نژاد[۲]، زهره علومی[۳]
فریده موسوی[۴]، فرحناز امینی[۱]
حسین نجم آبادی[۱]، فرخنده بهجتی[۱*]

۱. مرکز تحقیقات ژنتیک، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی
۲. مرکز پاتولوژی و ژنتیک کریمی‌نژاد/ نجم‌آبادی
۳. گروه کودکان بیمارستان امام خمینی، دانشگاه علوم پزشکی تهران
۴. گروه خون بیمارستان شهدای تجریش، دانشگاه شهید بهشتی

* نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، مرکز تحقیقات ژنتیک، اوین، انتهای خیابان کودکیار، کد پستی ۱۹۸۳۴ تلفن: ۲۲۱۸۰۱۳۸
email: f_behjati@uswr.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: آنمی فانکونی یک بیماری اتوزومی مغلوب نادر است. این بیماری از لحاظ بالینی و ژنتیکی هتروژنیتی بسیار گسترده‌ای دارد، به‌طوری‌که تشخیص بیماری را تنها بر پایه علائم بالینی دشوار و غیرقابل اعتماد و بر اساس ویژگی‌های مولکولی، تا به امروز، غیرممکن ساخته است. معهذا حساسیت زیاد از حد لنفوسیت‌ها و فیبروبلاست‌های بیماران مبتلا نسبت به عوامل آلکیله کننده دو عملکردی مثل مایتومایسین C (به‌صورت افزایش در شکست‌های کروموزومی) معیار قابل اعتمادی را برای تشخیص بیماری به‌دست می‌دهد. هدف از این مطالعه ایجاد شرایط مناسب برای آزمون سیتوژنتیک به‌منظور تشخیص قطعی بیماری آنمی فانکونی در بیماران مشکوک به آنمی فانکونی و بررسی علائم بالینی می‌باشد. ***روش بررسی:*** در مدت زمان مطالعه ما موفق به بررسی ۲۰ بیمار مشکوک به آنمی فانکونی شدیم. بررسی بالینی با مطالعه پرونده بیماران انجام گرفت و به‌منظور بررسی سیتوژنتیکی، سه غلظت متفاوت مایتومایسین C (۴۰ و ۳۰، ۲۰ ng/ml) بر لنفوسیت‌های بیماران و کنترل‌های هم‌جنس آنها تاثیر داده شد. ***یافته‌ها:*** در این بیماران تشخیص پنج بیمار مورد تایید قرار گرفت و غلظت‌های ۴۰ ng/ml و ۳۰ مناسب تشخیص داده شد. ***نتیجه‌گیری:*** انجام آزمایش شکست کروموزومی برای تشخیص بیماری آنمی فانکونی اهمیت بسیار دارد. به‌علاوه بیماران مبتلا به آنمی آپلاستیک با اتیولوژی ناشناخته، نوزادانی که در بدو تولد دارای ناهنجاری مادرزادی همراه با آنمی فانکونی هستند و نیز خواهران و برادران بیماران باید مورد آزمایش سیتوژنتیک قرار بگیرند.

کلمات کلیدی: آنمی فانکونی، شکنندگی کروموزومی، مایتومایسین C، هتروژنیتی بالینی.

مقدمه

آنمی فانکونی Fanconi Anemia (FA) یکی از انواع آنمی‌های ارثی است که منجر به نارسایی مغز استخوان و آنمی آپلاستیک می‌شود. این بیماری، علاوه بر ناهنجاری‌های خونی سبب بروز انواع ناهنجاری‌های مادرزادی در بیماران مبتلا می‌شود و استعداد این بیماران را برای ابتلا به بدخیمی‌ها به‌ویژه لوکمی میلوئیدی حاد (AML) افزایش می‌دهد.[۱و۲] آنمی فانکونی در همه نژادها و گروه‌های نژادی یافت می‌شود و فراوانی افراد مبتلا یک به ۳۶۰۰۰۰ نفر برآورد شده است.[۱و۳] به‌واسطه اثر بنیان گذار (Founder effect) و فراوانی ازدواج‌های خویشاوندی، این بیماری در برخی جمعیت‌ها مثل یهودیان اشکنازی، جمعیت ترک (کشور ترکیه)، اعراب سعودی و احتمالاً جمعیت ایران، از فراوانی بالاتری برخوردار است.[۱-۳] آنمی فانکونی از لحاظ بالینی بسیار هتروژن است و ممکن است سبب بروز ناهنجاری در هر یک از ارگان‌های اصلی بدن گردد. شایع‌ترین این ناهنجاری‌ها شامل قامت کوتاه، ناهنجاری‌های رنگدانه‌ای پوست، ناهنجاری رادیوس و انگشت شست، کلیه و مجاری ادراری و دستگاه گوارش است. پژوهش‌ها نشان داده‌اند که بیماران فانکونی از نظر سن شروع بیماری، علائم و روند بالینی آن ناهمگونی وسیعی نشان می‌دهند. ناهمگونی‌های فنوتیپی میان خواهران و برادران مبتلا و حتی دوقلوهای یک تخمی نیز گزارش شده است.[۴و۵] به‌دلیل این تفاوت‌ها، همچنین به‌علت فقدان ناهنجاری‌های مادرزادی در ۳۳ – ۲۵٪ بیماران و همپوشانی این بیماری با تعداد قابل توجهی از دیگر بیماری‌های ژنتیکی و غیر ژنتیکی، تشخیص بیماری تنها بر پایه علائم بالینی دشوار و غیرقابل اعتماد است.[۶و۷] با مشخص شدن حساسیت غیر معمول سلول‌های بیمار مبتلا به فانکونی نسبت به عوامل اتصال‌دهنده عرضی بازهای نوکلئوتیدی (DNA cross– linking)، افزایش فراوانی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-09-24]

شکست‌های کروموزومی تحت تأثیر این عوامل، به‌عنوان شاخص سلولی منحصر به فردی برای تشخیص پیش از تولد و پس از تولد به‌کار گرفته شد.[۱و۸] شایع‌ترین این عوامل عبارتند از دی اپوکسی بوتان DEB، مایتومایسین C و نیتروژن موستارد و ناهنجاری‌های کروموزومی حاصل از تاثیر آنها اغلب از نوع شکاف‌ها و شکست‌های کروماتیدی، اشکال شعاعی و نوآرایی‌های مرکب می‌باشد.[۹] حساسیت نسبت به این عوامل، چه قبل از ظهور علائم خونی و چه در مراحل ظهور آنمی آپلاستیک یا AML برای شناسایی بیماران، چه آنها که واجد ناهنجاری‌های مادرزادی هستند و چه آنها که فاقد این علائم می‌باشند مثمر ثمر و پاسخگو است و از این طریق می‌توان در مواردی‌که بیماران نسبت به مواد آلکیلاسیون حساسیت نشان می‌دهند، روش‌های درمانی مناسب را به‌کار گرفت.[۱] در مطالعه حاضر بیماران مشکوک به FA (به‌علت دارا بودن یک یا چند علامت همراه با این بیماری) از لحاظ بالینی مورد بررسی قرار گرفته و نوع و فراوانی ناهنجاری‌ها در بیمارانی که تشخیص FA در آنها به‌وسیله آزمون شکست کروموزومی قطعی یا رد شده تعیین شده است. همچنین هدف دیگر این پژوهش بررسی ناهنجاری سیتوژنتیک در بیماران مشکوک به FA به‌منظور رد یا تایید تشخیص FA در آنها و یافتن مناسب‌ترین شرایط برای آزمون سیتوژنتیک می‌باشد.

روش بررسی

نمونه خون هپارینه (حجم حداقل ۲ ml) ۲۰ بیمار مشکوک به FA (ارجاع شده از مراکز مختلف تهران) مورد آزمون سیتوژنتیک با استفاده از عامل آلکیله‌کننده Mitomycin C (MMC) قرار گرفت و پرونده بالینی این بیماران مطالعه شد. از این میان متاسفانه اطلاعات بالینی دو بیمار در دسترس نبود اما به‌دلیل ارجاع نمونه با احتمال ابتلای FA، آزمایش سیتوژنتیک در مورد آنها انجام گرفت که البته تشخیص FA در هر دو مورد رد شد. برای انجام آزمون شکست کروموزومی، چهار کشت از نمونه خون محیطی هر بیمار و کنترل مربوطه‌اش (در مجموع هشت کشت)، با استفاده از سه غلظت متفاوت مایتومایسین C (ng/ml ۴۰ و ۳۰، ۲۰) در مرحله G1 (بعد از گذشت ۲۴ ساعت از آغاز کشت) گذاشته شد. لازم به ذکر است که به یکی از کشت‌های بیمار و کنترل MMC اضافه نشد. پس از گذشت ۷۲ ساعت مراحل هاروست و لام‌گیری انجام گرفت و لام‌ها به روش رنگ‌آمیزی هموژن به‌وسیله رنگ گیمسا، رنگ‌آمیزی شدند. سپس ۵۰ گستره متافازی از هر کشت مورد بررسی قرار گرفت و نوع و تعداد ناهنجاری‌های کروموزومی تعیین شد. نهایتاً با مقایسه سطح شکست کروموزومی در نمونه‌های بیمار و کنترل، تشخیص بیماری تایید و یا رد شد. معیار شمارش شکست‌ها از این قرار بود: شکاف‌های کروماتیدی و کروموزومی (زمانی‌که عدم پیوستگی در ساختمان کروماتید کمتر از عرض یک کروماتید باشد)، معادل صفر شکست، شکست‌های کروماتیدی و کروموزومی (زمانی‌که عدم پیوستگی در ساختمان کروماتید بیشتر از عرض یک کروماتید باشد)، معادل یک، نوآرایی‌ها (مثل کروموزوم‌های حلقوی و دو سانترومری) و اشکال شعاعی (اشکال سه و چهار شعاعی)، معادل دو شکست. بررسی ناهنجاری‌های بالینی در بیماران با مطالعه پرونده آنها و پرکردن پرسشنامه‌هایی که بدین منظور طراحی شده بود، انجام گرفت.

یافته‌ها

از میان ۱۸ بیمار مورد مطالعه (اطلاعات بالینی دو بیمار از ۲۰ بیمار در دسترس نبود) ۹ بیمار (۵۰٪) واجد علائم خونی، دو بیمار (۱۱/۱٪) واجد ناهنجاری‌های مادرزادی مشخصه FA و هفت بیمار (۳۸/۹٪) دارای علائم خونی به‌همراه بدشکلی‌های مادرزادی بودند. با انجام آزمون سیتوژنتیک، تشخیص FA در پنج مورد قطعی شد. ویژگی‌های برگرفته از پرونده‌های بیماران در جدول ۱ آمده است. درصد میتوزهای دارای ناهنجاری و میانگین شکست در هر سلول، در کشت‌های بدون و واجد MMC (با غلظت‌های ng/m ۴۰ و ۳۰، ۲۰) هر بیمار و کنترل، بررسی و محاسبه گردید (شکل ۱).

درصد میتوزهای دارای ناهنجاری= (تعداد میتوزهای دارای ناهنجاری کروموزومی به تعداد کل میتوزهای آنالیز شده (۵۰ میتوز)) × ۱۰۰.

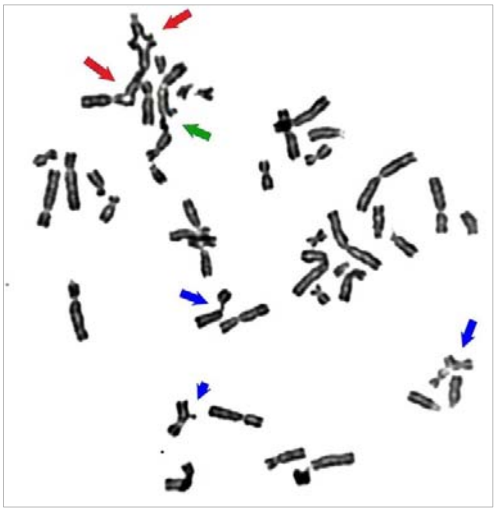
میانگین شکست / سلول= تعداد کل شکست‌ها به تعداد کل میتوزهای آنالیز شده (۵۰ میتوز).

به‌وسیله انجام این آزمون تشخیص FA در پنج بیمار قطعی گشت. به‌عبارتی از ۲۰ بیمار مشکوک به FA، ۲۵٪ مبتلا و ۷۵٪ غیر مبتلا به FA بودند. لازم به توضیح است که یکی از بیماران غیر FA میانگین شکست کروموزومی پایه نسبتاً بالایی (قابل مقایسه با میانگین شکست کروموزومی همان بیمار در کشت واجد غلظت MMC ۴۰ ng/ml) داشت. اما عدم وجود افزایش در فراوانی شکست

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-09-24]

جدول-۱: ویژگی‌های برگرفته از پرونده‌های بیماران FA

مشخصه مورد نظر		تعداد بیماران
جنسیت:	مونث	۴
	مذکر	۱
طیف سنی:	دهه اول	۴
	دهه دوم	۱
سن بروز علائم:	سال اول	۲
	سال دوم تا دهم	۲
	نامشخص	۱
اولین علامت:	نشانه‌های آنمی	۵
	نشانه‌های آنمی به‌همراه علامت دیگر	-
	خونریزی خود به خودی	-
نوع ناهنجاری:	آنمی آپلاستیک	-
	ناهنجاری‌های مادرزادی	-
	آنمی‌آپلاستیک به‌همراه ناهنجاریهای مادرزادی	۵
سابقه قبلی:	مثبت	۳
	منفی	۲
نسبت والدین:	از نوع درجه ۳	۵
	از نوع درجه ۵ و بیشتر	-
	غیر خویشاوند	-



شکل-۱: تصویری از ناهنجاری‌های کروموزومی القا شده در یکی از بیماران FA تحت اثر غلظت ۳۰ ng/ml مایتومایسین C، فلش‌ها شکست‌های کروماتیدی، اشکال شعاعی و نوآرایی‌های مرکب را نشان می‌دهند.

کروموزومی در حضور غلظت‌های مختلف MMC مطابق با تشخیص FA نبود. یافته‌های به‌دست آمده از آزمون سیتوژنتیک از این قرار بود، در صد میتوزهای دارای ناهنجاری در کشت بدون MMC در پنج بیماری که تشخیص FA در آنها قطعی شد از شش تا ۴۰، در ۱۵ بیماری که واجد برخی مشخصات فنوتیپی FA بودند اما بر اساس آزمون MMC غیر مبتلا تشخیص داده شدند از صفر تا شش و در نمونه‌های کنترل از صفر تا شش متغیر بود. همان‌طور که آشکار است این درصد در برخی بیماران FA مشابه با بیماران غیر FA و نمونه‌های کنترل می‌باشد. این درصد در کشت واجد ۲۰ ng/ml مایتومایسین در پنج بیمار FA از ۲۸ تا ۶۰، در ۱۵ بیمار غیر FA از صفر تا شش و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ده متغیر بود. دامنه تغییرات این درصد در کشت واجد ۳۰ ng/ml مایتومایسین C در پنج بیمار FA از ۴۲ تا ۹۶، در ۱۵ بیمار غیر FA از صفر تا ۱۶ و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ۱۴ بود. بالاخره درصد میتوزهای دارای ناهنجاری در کشت واجد غلظت ۴۰ ng/ml مایتومایسین C در بیماران FA از ۶۴ تا ۹۶، در بیماران غیر FA از صفر تا ۱۶ و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ۱۶ نوسان داشت. میانگین شکست کروموزومی پایه (بدون تاثیر مایتومایسین C) در هر سلول، در پنج بیماری که مبتلا به FA تشخیص داده شدند از ۰/۰۶ تا ۰/۴۶، در ۱۵ بیماری که تشخیص FA در آنها رد شده از صفر تا ۰/۰۶ و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ۰/۰۸ متغیر بود. این میانگین در کشت واجد غلظت ۲۰ ng/ml مایتومایسین C در بیماران FA از ۰/۴۲ تا ۰/۹۶، در بیماران غیر FA از صفر تا ۰/۰۸ و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ۰/۱۵ نوسان داشت. دامنه تغییرات میانگین شکست کروموزومی / سلول در کشت واجد غلظت ۳۰ ng/ml MMC در بیماران FA از ۱/۴۲ تا ۶/۴۲، در بیماران غیر FA از صفر تا ۰/۱۲ و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ۰/۱۲ بود. میانگین شکست کروموزومی/ سلول در کشت واجد غلظت ۴۰ ng/ml MMC در پنج بیمار FA از ۲/۴۱ تا ۸/۰۵، در ۱۵ بیمار غیر FA از صفر تا ۰/۱۴ و در نمونه‌های کنترل از صفر تا ۰/۲ متغیر بود. همان‌طور که از یافته‌ها نیز بر می‌آید اطلاعات بیماران غیر FA در پاسخ به غلظت‌های مختلف MMC تفاوتی با پاسخ کنترل‌های سالم ندارد.

بحث

در مطالعه حاضر از ۱۸ بیمار مبتلا به آنمی آپلاستیک، تشخیص FA در پنج مورد (۲۸ درصد موارد) قطعی شد. این فراوانی، کمتر از فراوانی به‌دست آمده در مطالعه دکتر حاجیان پور و همکاران در سال ۱۹۹۹ [۳] می‌باشد که ۳۳ بیمار AA را در جمعیت بیماران ایرانی بررسی

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-09-24]

کرد (۵۸ درصد) که احتمالا به‌علت تفاوت در تعداد نمونه است. اما از فراوانی به‌دست آمده به‌واسطه مطالعه Xie و همکاران (۰/۰۸) در سال ۲۰۰۰ و مطالعه Wang و Hou (۰/۰۹) در سال ۱۹۹۷ به‌میزان قابل توجهی بیشتر است و تائیدی بر ادعای دکتر حاجیان‌پور مبنی بر فراوانی بیشتر FA در کشور ایران در مقایسه با دیگر کشورها است. در مورد اطلاعات بالینی به‌دست آمده در مورد بیماران مبتلا به FA (که در بخش نتایج گزارش شده است) به‌علت محدودیت تعداد بیماران، امکان مقایسه با دیگر پژوهش‌ها تا این مرحله وجود ندارد. اما نکته‌ای که شایان ذکر می‌باشد در رابطه با پنج بیمار با تشخیص بالینی FA است که به‌وسیله آزمون سیتوژنتیک فاقد شکنندگی کروموزومی بودند. علت تشخیص بالینی در دو مورد رویداد آنمی آپلاستیک، خویشاوندی والدین و سابقه بیماری قبلی در خانواده بود. دو مورد دیگر واجد ناهنجاری‌های مادرزادی فرعی شامل لکه‌های شیر قهوه، قامت کوتاه و میکروفتالمی بودند و علائم خونی در هر دو مورد آنمی بود. یکی از این دو بیمار عقب‌مانده ذهنی نیز بود. مورد سوم بیماری مبتلا به آنمی آپلاستیک به‌همراه ناهنجاری‌های مادرزادی متعدد شامل لکه‌های شیر قهوه، عقب‌ماندگی رشد، قامت کوتاه، فقدان کلیه چپ، فقدان بلوغ جنسی و بزرگی کبد بود. موارد مشابه با تشخیص بالینی آنمی فانکونی و عدم وجود شکنندگی کروموزومی در متون متعدد نیز گزارش شده است[۱۰-۱۲] اینها همه گواه بر هتروژنیتی بالینی و ژنتیکی در بیماران آنمی فانکونی و اهمیت آزمون شکست کروموزومی در ارائه تشخیص قطعی این بیماری است. بر پایه نتایج به‌دست آمده از آزمون سیتوژنتیک، همان‌طور که در بخش نتایج آمده است، درصد میتوزهای دارای ناهنجاری و میانگین شکست کروموزومی در برخی بیماران FA مشابه با بیماران غیر FA و نمونه‌های کنترل بود. این نتیجه که با نتایج حاصل از دیگر مطالعات هماهنگی دارد[۷و۱۳] نشان می‌دهد که شکست‌های کروموزومی پایه را به‌تنهایی برای تشخیص FA نمی‌توان به‌کار برد. بررسی‌های مختلف نشان داده‌اند اگر چه گوناگونی وسیعی در میانگین شکست کروموزومی و درصد میتوزهای دارای ناهنجاری حاصل از تاثیر عوامل آلکیله کننده میان بیماران مختلف FA وجود دارد، اما هیچ‌گونه همپوشانی با طیف نرمال دیده نمی‌شود.[۱] در این مطالعه نیز در حضور غلظت‌های مختلف MMC اختلاف چشمگیری میان بیماران FA، بیماران غیر FA و نمونه‌های کنترل از نظر فراوانی میتوزهای غیر طبیعی و شکست‌های کروموزومی وجود داشت. این اختلاف با افزایش غلظت MMC چشمگیرتر بود و در مجموع غلظت‌های ۴۰ ng/ml و ۳۰ مناسب‌تر از غلظت ۲۰ ng/ml به‌نظر رسید. در پایان لازم به ذکر است با شناخته شدن ژن‌های مسؤول بیماری و ارائه روش‌های مولکولی معلوم شده است که دقت آزمون سیتوژنتیک در تشخیص این بیماری صد درصد نمی‌باشد،[۱۴و۱۵] اما به‌علت تعدد ژن‌ها و تنوع گسترده جهش‌ها تا به امروز جز در موارد معدود مثل ژن FAC در جمعیت یهود اشکنازی استفاده از روش‌های تشخیص مولکولی امکان‌پذیر نیست.[۱۶] به‌همین جهت اهمیت آزمون سیتوژنتیک در تشخیص بیماری همچنان به قوت خود باقی است. با توجه به گوناگونی بالینی بیماری، انجام آزمون شکست کروموزومی برای تشخیص بیماری FA اهمیت بسیاری دارد. به‌علاوه بررسی بالینی بیمارانی‌که تشخیص FA در آنها قطعی می‌شود هم به‌جهت دستیابی به اطلاعات آماری قابل قبول و هم به منظور آگاهی بیشتر پزشکان از علائم گوناگون همراه با این بیماری حائز اهمیت است. در نهایت همان‌طور که در دیگر متون نیز آمده است[۷و۱۷] پیشنهاد می‌شود بیماران مبتلا به آنمی آپلاستیک با اتیولوژی ناشناخته، نوزادانی که در بدو تولد دارای ناهنجاری مادرزادی همراه با FA هستند و نیز خواهران و برادران بیماران مبتلا مورد آزمایش قرار بگیرند و مناسب‌تر آن است که اینها همه در یک مرکز مرجع صورت بگیرند تا بیماران مورد بررسی دقیق بالینی و سیتوژنتیکی قرار بگیرند و نیز نتایج آماری مستند به‌دست آید و این مهم خود یکی از اهداف آینده این مطالعه می‌باشد. از دیگر اهداف آینده این پژوهش راه‌اندازی تکنیک‌های سیتوژنتیک برای تشخیص پیش از تولد بیماری است. هدف نهایی بررسی مولکولی بیماران FA و تعیین ژن درگیر و نوع جهش می‌باشد. چرا که در جمعیت ایران (به‌ویژه در اقوام جداگانه) نیز ممکن است ژن‌ها و حتی جهش‌های خاصی از شیوع بیشتری برخوردار باشد که شناسایی آن به تشخیص دقیق و سریع بیماران، ناقلین بیماری و تشخیص پیش از تولد کمک شایانی خواهد نمود. *سپاسگزاری:* لازم می‌دانیم از همه عزیزانی که در انجام این مطالعه ما را یاری کرده‌اند، به‌ویژه اساتید گرامی، همکاران و دانشجویان عزیز مرکز تحقیقات ژنتیک دانشگاه علوم بهزیستی و توانبخشی، کارکنان گرامی کلینیک ژنتیک شهرک غرب، دکتر موسوی و پرستاران گرامی بخش خون بیمارستان شهدای تجریش، دکتر علومی در بخش کودکان بیمارستان امام خمینی تشکر نماییم.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-09-24]

References

1. Auerbach AD, Buchwald M, Joenje H. Fanconi Anemia. In: Vogelstein B, Kinzler KW, Editors. The Genetic Basis of Human Cancer. 2nd ed. New York: McGraw-Hill: 2002; p. 289.
2. D'Andrea AD, Grompe M. Molecular biology of Fanconi anemia: implications for diagnosis and therapy. *Blood* 1997; 90: 1725-36.
3. Hajianpour AK, et al. High Incidence of Fanconi anemia: associated with high rate of consanguineous marriages in Iran. The first congress of genetic disorders and disabilities in Iran: 1999.
4. Esmer SMC, Alessandra Carnevale CA, Molina AB, Cruz-Alcivar R, Sanchez Sandoval S, Gomez Laguna L, et al. Clinical and cytogenetic variability on twelve fanconi anemia families and its relationship with complementation group assignment. *Rev Invest Clin* 1999; 51: 273-384.
5. Faivre L, Guardiola P, Lewis C, Dokal I, Ebell W, Zatterale A, et al. Association of complementation group and mutation type with clinical outcome in fanconi anemia. European Fanconi Anemia Research Group. *Blood* 2000; 96: 4064-70.
6. Giampietro PF, Verlander PC, Davis JG, Auerbach AD. Diagnosis of Fanconi anemia in patients without congenital malformations: an international Fanconi Anemia Registry Study. *Am J Med Genet* 1997; 68: 58-61.
7. Auerbach AD, Ghosh R, Pollio PC, Zhang M. Diepoxybutane test for prenatal and postnatal diagnosis of Fanconi Anemia. In: Schroeder-Kurth TM, Auerbach AD, Obe G, Editors. Fanconi Anemia, Clinical Cytogenetic and Experimental Aspects. Berlin/Heidelberg: Springer-Verlag: 1989; p. 71.
8. Buchwald M, Moustacchi E. Is Fanconi anemia caused by a defect in the processing of DNA damage? *Mutat Res* 1998; 408: 75-90.
9. Miller OJ, Therman E. Human Chromosomes. 4th ed. New York: Springer-Verlag: 2001.
10. Poole SR, Smith AC, Hays T, McGavran L, Auerbach AD. Monozygotic twin girls with congenital malformations resembling fanconi anemia. *Am J Med Genet* 1992; 42: 780-4.
11. Milner RD, Khallouf KA, Gibson R, Hajianpour A, Mathew CG. A new autosomal recessive anomaly mimicking Fanconi's anaemia phenotype. *Arch Dis Child* 1993; 68: 101-3.
12. Rossbach HC, Sutcliffe MJ, Haag MM, Grana NH, Rossi AR, Barbosa JL. Fanconi anemia in brothers initially diagnosed with VACTERL association with hydrocephalus, and subsequently with Baller-Gerold syndrome. *Am J Med Genet* 1996; 61: 65-7.
13. Cervenka J, Arthur D, Yasis C. Mitomycin C test for diagnostic differentiation of idiopathic aplastic anemia and Fanconi anemia. *Pediatrics* 1981; 67: 119-27.
14. Dokal I, Chase A, Morgan NV, Coulthard S, Hall G, Mathew CG, et al. Positive diepoxybutane test in only one of two brothers found to be compound heterozygotes for Fanconi's anaemia complementation group C mutations. *Br J Haematol* 1996; 93: 813-6.
15. Kwee ML, van der Kleij JM, van Essen AJ, Begeer JH, Joenje H, Arwert F, et al. An atypical case of Fanconi anemia in elderly sibs. *Am J Med Genet* 1997; 68: 362-6.
16. Blanche P, Alter BP. Anemia Fanconi. eMedicine [Last Updated: 2005, March 10], [http://www.emedicine.com/PED/topic3022.h-tm]. Available from: URL.
17. Giampietro PF, Verlander PC, Maschan A, Davis JG, Auerbach AD. Fanconi anemia: A model for somatic gene mutation during development. *Am J Med Genet* 1994; 52: 36-7.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-09-24]

Tehran University Medical Journal; Vol. 65, No. 9, Dec 2007: 20-25

Clinical heterogeneity and chromosome breakage in Iranian patients suspicious of Fanconi anemia

Ghasemi Firouzabadi S. [1]
Shafeghati Y.[1]
Keyhani E.[1]
Kariminejad R.[2]
Oloomi Z. [3]
Moosavi F.[4]
Amini F.[1]
Najmabadi H.[1]
Behiati F.[*1]

1- Genetics Research Center, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences
2- Kariminejad/ Najmabadi Pathology and Genetics center
3- Imam Khomeini Hospital, Tehran University of Medical Sciences
4- Shohada Tajrish Hospital, Shahid Beheshti University

* Corresponding author: Genetics Research Center, University of Social Welfare and Rehabilitation Sciences, Evin, Koodakyar St., Tehran
Tel: +98-21-22180138
email: f_behjati@uswr.ac.ir

Abstract

***Background*:** Fanconi anemia (FA) is a rare autosomal recessive disorder characterized by short stature, skeletal anomalies, increased incidence of solid tumors and leukemia, and bone marrow failure (aplastic anemia). FA has been reported in all races and ethnic groups and affects men and women in an equal proportion. The frequency of FA has been estimated at approximately 1 per 360,000 live births. In some populations, including Ashkenazi Jews, Turks, Saudi Arabians and Iranians, this frequency appears to be higher, probably as a result of the founder effect and consanguineous marriage. Because of extensive genetic and clinical heterogeneity (the age of onset, clinical manifestations and survival), diagnosis of FA on the basis of clinical data alone is unreliable and its molecular diagnosis is difficult. The diagnosis of FA exploits the hypersensitivity of FA lymphocytes and fibroblasts to bifunctional alkylating agents such as mitomycin C (MMC), diepoxybutane (DEB) and nitrogen mustard and differentiates it from idiopathic aplastic anemia. In this study, in addition to the patients' clinical profiles, a cytogenetic test using MMC was implemented for an accurate diagnosis of Fanconi anemia.

***Methods*:** In this study, the lymphocytes of 20 patients referred for FA, and those of their normal sex-matched controls, were treated with three different concentrations of mitomycin C (20, 30, 40 ng/ml). Slides were prepared and solid stained. In order to determine the number and kind of chromosome abnormalities, 50 metaphase spreads from each culture were analyzed. Clinical information was obtained from patient files.

***Results*:** Five patients manifested increased chromosome breakage with MMC, confirming the FA diagnosis. Two different concentrations of MMC (30, 40 ng/ml) were most effective.

***Conclusion*:** The chromosomal breakage test is important for the accurate diagnosis of Fanconi anemia. DNA crosslinking agents used to treat idiopathic aplastic anemia may be lethal for patients with FA. Thus, aplastic anemia patients with unknown etiology, infants with congenital abnormalities involved in FA and siblings of FA patients should also be cytogenetically tested.

Keywords: Fanconi anemia, chromosome breakage, mitomycin c, clinical heterogeneity.

[Downloaded from tumj.tums.ac.ir on 2023-09-24]