



A strategy for molecular diagnostics of Fanconi anemia

By: Dr Saffar Moghadam MD-Ph.D

Department of Medical Genetics, School of Advanced Technologies in Medicine, Golestan University of Medical Sciences, Gorgan, Iran.

Tel: +98-9120560810

Email: saffarmoghadam@goums.ac.ir

بیماری کمخونی فانکونی

در سال ۱۹۲۷ این بیماری معرفی شد.

این بیماری ترکیبی از چند اختلال فیزیکی از جمله:

جثه کوچک short stature

هیپرپیگمانتاسیون پوستی skin hyperpigmentation

نارسایی مغز استخوان bone marrow failure (pancytopenia)

که کم خونی و کمبود پلاکت در آنها بارز تر می باشد.

این بیماری در هر دو جنس (با کمی افزایش در جنس مذکر) و در تمامی سنین و نیز در تمام گروه ها دیده می شود.

با پیشرفت مطالعات :

نارسایی مغز استخوان پیشرونده و کم خونی آپلاستیک

ناهنجاری های مادرزادی از جمله نداشتن یا اختلالات دیگرانگشت شست دست و عدم تشکیل

استخوان رادیوس ساعد

استعداد و ابتلا به انواع سرطان ها خصوصا AML از خصوصیات اصلی این بیماری می باشند.



هتروژنیسته درعلائم بالینی
بقدری زیاد است که نمی توان
یک نمونه جامع و کلاسیک از
بیماری را یافت .

حدود ۷۰ تا ۷۵ درصد از

بیماران تابلوی کلاسیک
بیماری را دارند.



A disease with **many faces**

بیشترین فنوتیپ های این بیماران :

کمخونی

کوچک بودن جثه

اختلالات مادرزادی انگشت شست دست یا استخوان رادیوس

وجود لکه های شیر قهوه بر روی بدن

انواع اختلالات مادرزادی مثل اختلالات شنوایی

بهرحال مشخص شد که FA یک بیماری هتروژن ژنتیکی است که در آن افزایش ناپایداری

کروموزومی (**شکست های خودبخودی**) اتفاق می افتد.



Fanconi syndrome با Fanconi Anemia

FANCA
FANCB, FAAP95
FANCC
FANCD1, BRCA2
FANCD2
FANCE
FANCF
FANCG , XRCC9
FANCI
FANCI, BRIP1, BACH1
FANCL , FAAP43 , PHF9
FANCM , FAAP250, KIAA1596
FANCN , PALB2
RAD51C
FANCP /SLX4

ژن های بیماری کم خونی فانکونی

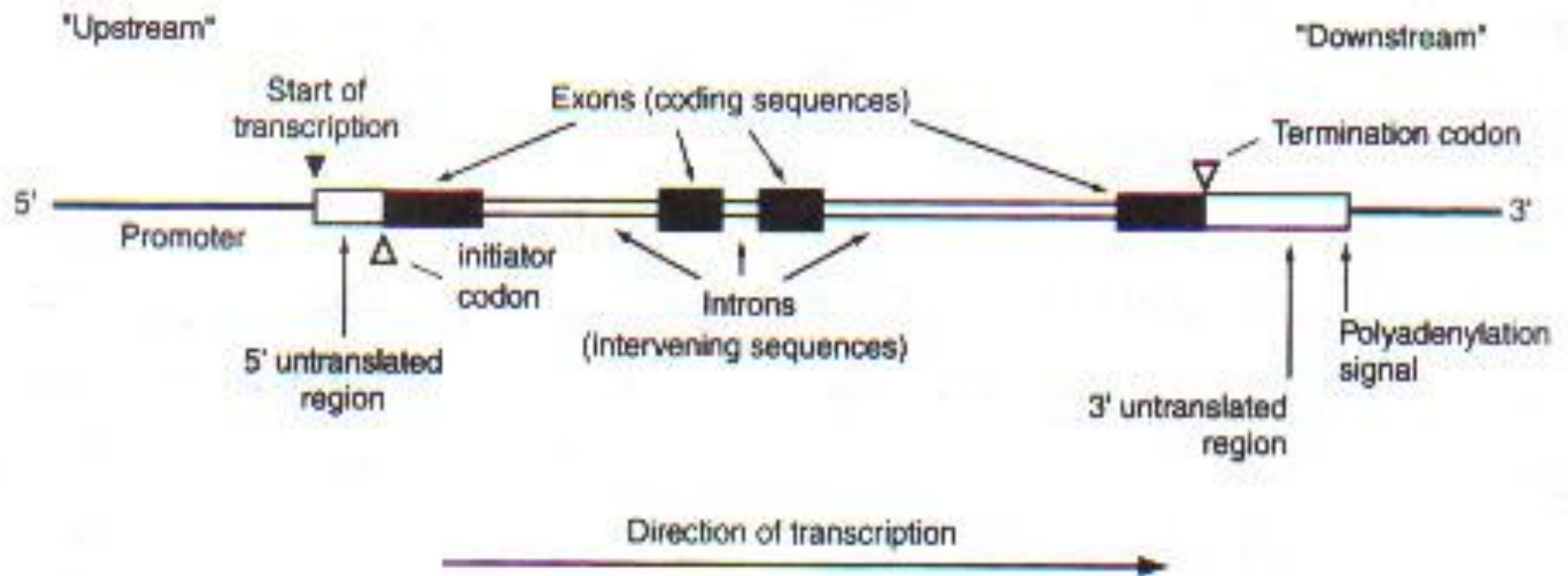
در سال ۱۹۹۲ اولین ژن بیماری کمخونی فانکونی با این روش تصحیح

یا **complement** شناسایی شد.

امروزه نامگذاری این بیماری بر اساس خلاصه نام **Fanconi (FANC)**

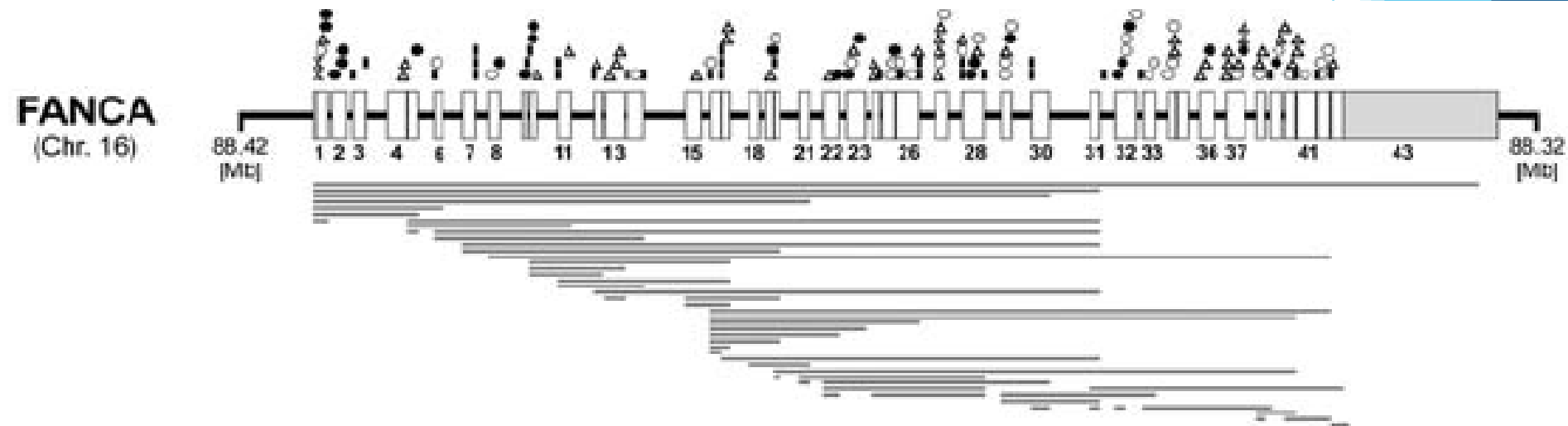
ویک حرف که معرف گروه متمم ژنی آن گروه است ، می باشد.

تاکنون بیش از **۲۱ ژن** برای این بیماری شناسایی شده است.



FANCA ژن

این ژن یکی از بزرگترین ژن های شناخته شده مسبب بیماری کمخونی فانکونی است.
محل قرار گیری این ژن **16q24.3** با **۴۳** اگزون و **۳۳** واریانت بر روی کروموزوم **۱۶** می باشد.
در این بیماران کمخونی در سنین پایتتر شروع شده و باعث Leukemia می شود.
بیشترین شیوع موتاسیون های این بیماری مربوط به ژن **FANCA** است.
بیش از ۲۰۰ موتاسیون تاکنون برای آن گزارش شده است.
حدود **۴۰ درصد** حذف شدگی های بزرگ (تا **۱۳۱** اگزون) در این ژن است.



Keys: ○ = missense mutation, ● = nonsense mutation, Δ = small deletion/insertion or duplication, ■ = aberrant splicing/splice site mutation, ▼ = large insertion, — = large deletion, X translation initiation.

Gene: **FANCA** ENSG00000187741

Description

Fanconi anemia, complementation group A [Source:HGNC Symbol;Acc:3582]

Location

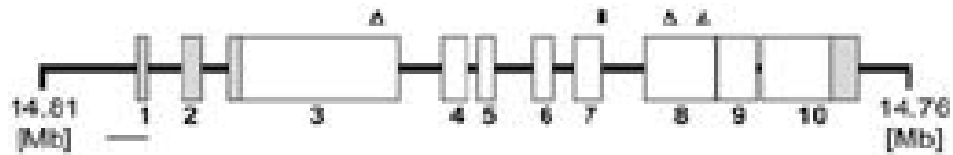
[Chromosome 16: 89,803,957-89,883,065](#) reverse strand.

Transcripts

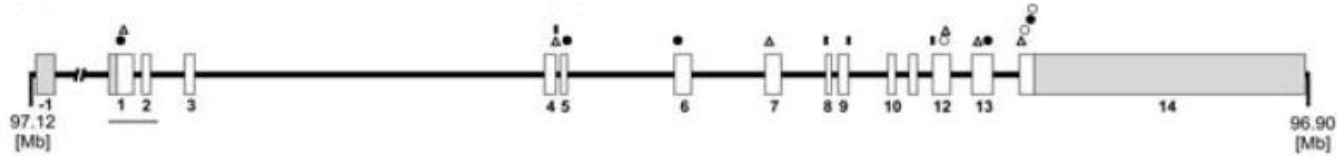
This gene has 33 transcripts

Show All entries		Show/hide columns			Filter		
Name	Transcript ID	Length (bp)	Protein ID	Length (aa)	Biotype	CDS incomplete	CCDS
FANCA-001	ENST00000389301	5451	ENSP00000373952	1455	Protein coding	-	CCDS32515
FANCA-002	ENST00000568369	4601	ENSP00000456829	1424	Protein coding	-	-
FANCA-003	ENST00000389302	1641	ENSP00000373953	297	Protein coding	-	CCDS42221
FANCA-004	ENST00000543736	1000	ENSP00000443409	265	Protein coding	-	-
FANCA-006	ENST00000563673	1694	ENSP00000456443	316	Protein coding	-	-
FANCA-015	ENST00000567457	969	ENSP00000456397	154	Protein coding	5'	-
FANCA-026	ENST00000567879	713	ENSP00000457006	214	Protein coding	5'	-
FANCA-027	ENST00000561722	696	ENSP00000456608	195	Protein coding	5'	-
FANCA-028	ENST00000564475	732	ENSP00000454977	240	Protein coding	5'	-
FANCA-030	ENST00000564870	460	ENSP00000456481	153	Protein coding	5' and 3'	-
FANCA-201	ENST00000534992	1088	ENSP00000443675	302	Protein coding	-	-
FANCA-007	ENST00000566409	395	ENSP00000457647	41	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-008	ENST00000567205	413	ENSP00000457027	63	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-010	ENST00000567943	860	ENSP00000455941	158	Nonsense mediated decay	-	-
FANCA-011	ENST00000563513	571	ENSP00000455946	114	Nonsense mediated decay	-	-
FANCA-012	ENST00000565582	812	ENSP00000456722	210	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-013	ENST00000567621	618	ENSP00000456762	125	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-016	ENST00000567510	461	ENSP00000455969	101	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-019	ENST00000563510	633	ENSP00000456993	51	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-020	ENST00000563318	605	ENSP00000457970	77	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-021	ENST00000567988	915	ENSP00000454217	109	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-022	ENST00000561660	762	ENSP00000456588	182	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-023	ENST00000568626	727	ENSP00000455974	168	Nonsense mediated decay	5'	-
FANCA-031	ENST00000567284	481	No protein product	-	Processed transcript	-	-
FANCA-005	ENST00000566889	2201	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-009	ENST00000305699	1430	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-014	ENST00000566133	761	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-017	ENST00000563767	578	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-018	ENST00000561667	528	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-024	ENST00000564969	850	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-025	ENST00000568983	726	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-029	ENST00000562424	745	No protein product	-	Retained intron	-	-
FANCA-032	ENST00000567883	650	No protein product	-	Retained intron	-	-

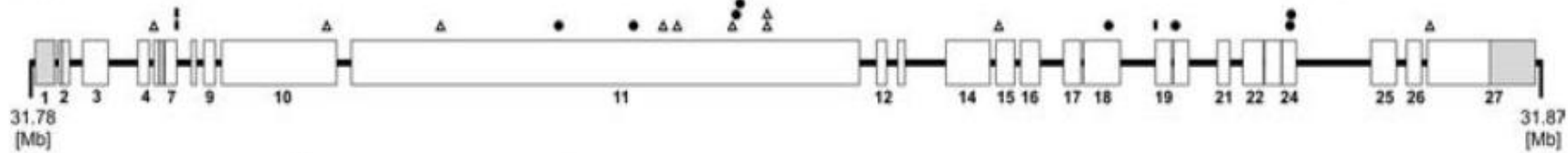
FANCB (X-Chr.)



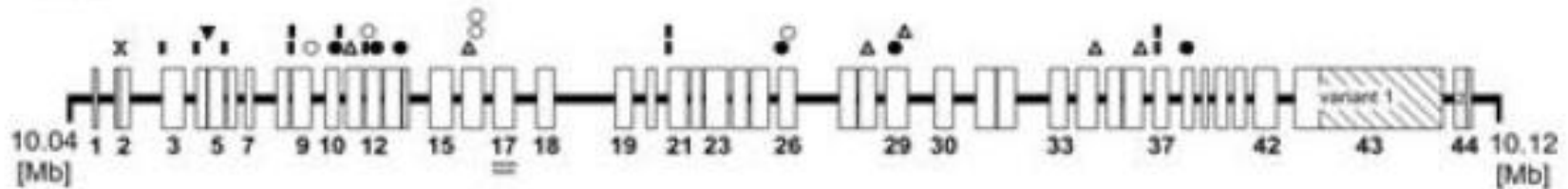
FANCC (Chr. 9)



FANCD1 (Chr. 13)



FANCD2 (Chr. 3)



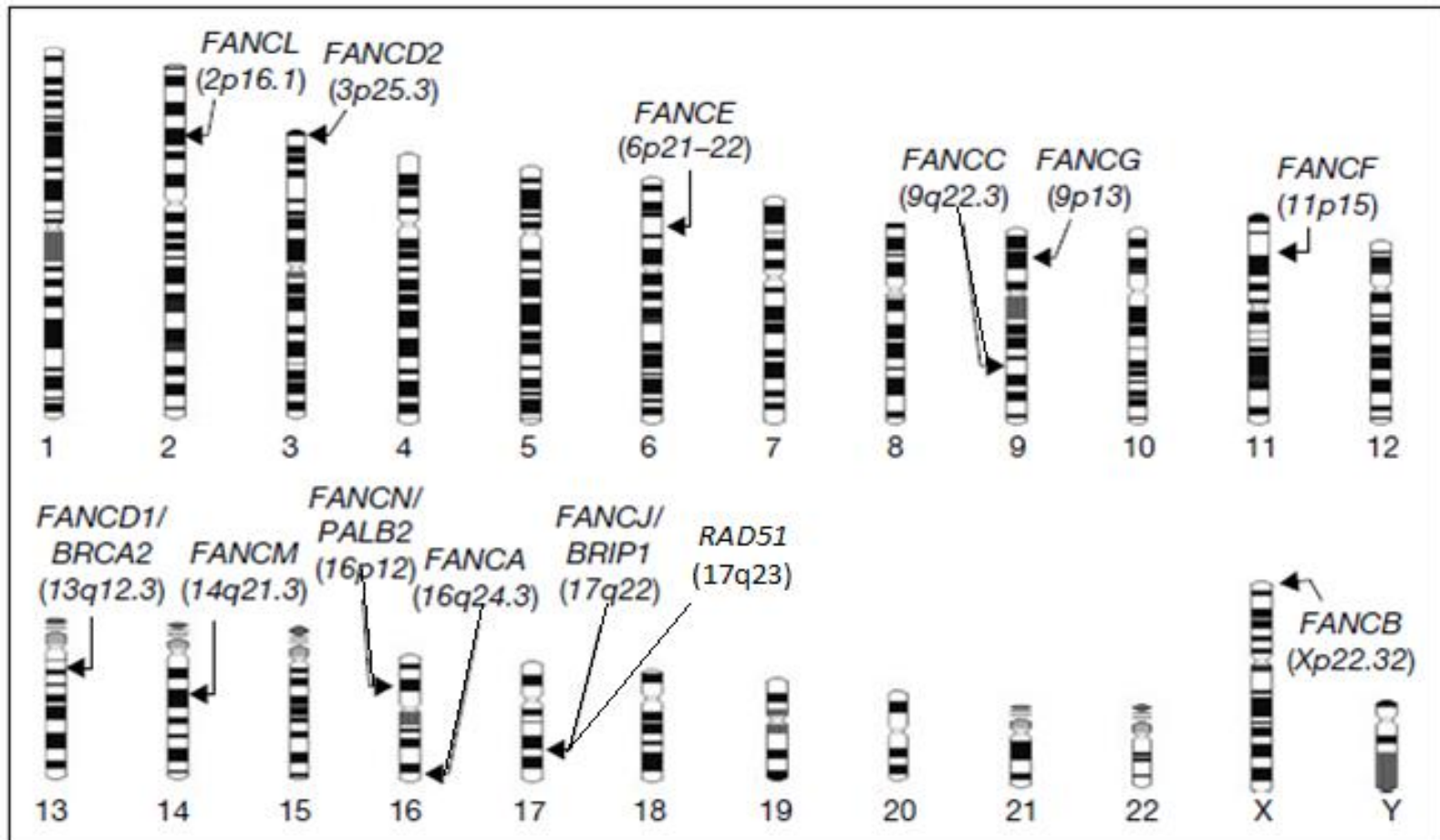
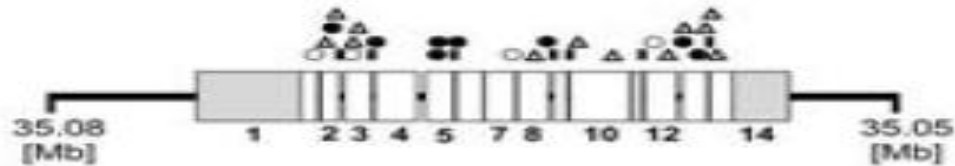
FANCE (Chr. 6)



FANCF (Chr. 11)



FANCG (Chr. 9)



عوامل آلکیله کننده DNA

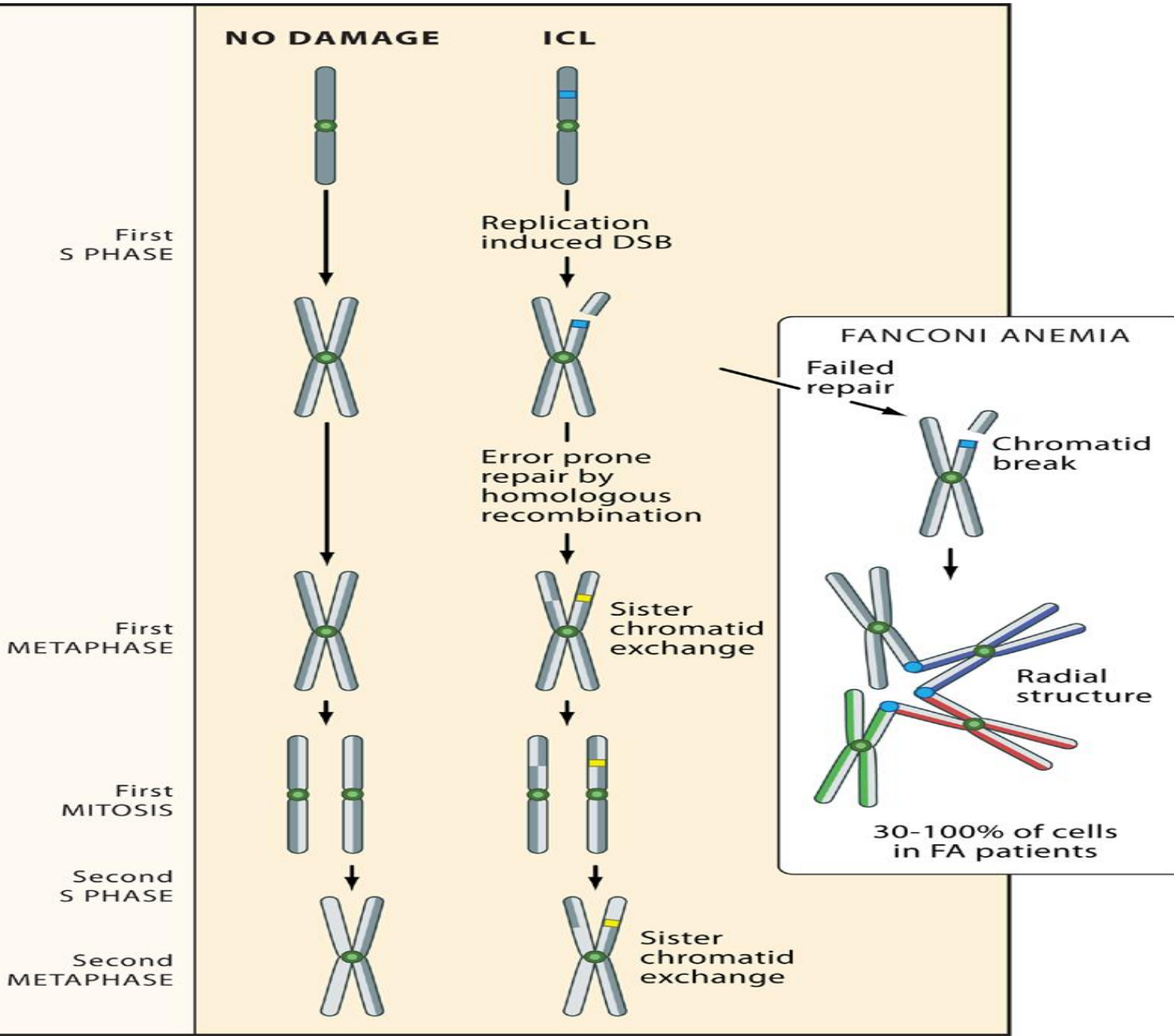
متخصصین در آزمایشگاه متوجه شدند که ناپایداری خودبخودی کروموزوم ها در بیماران مبتلا به کمخونی فانکونی با عوامل آلکیله کننده DNA مثل میتوماسین سی **mitomycin C** ، **diepoxybutane** ، **cisplatin** و **nitrogen mustard** افزایش مییابد.

بعبارتی مسجل شده که ژنهای دخیل در بیماری فانکونی درمقابل عوامل آلکیله کننده DNA از خود واکنش نشان داده و نقش محافظتی برای سلول را برعهده دارند.

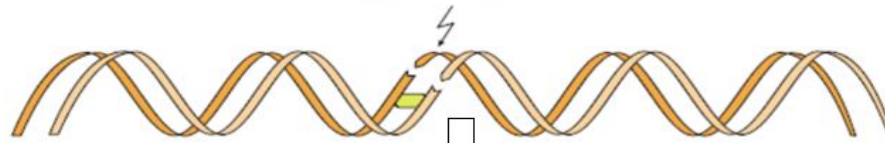
نتیجتاً : این ژن ها نقش خنثی کنندگی عوامل برهم زننده بین زنجیره ای دو رشته DNA را بر عهده دارند.

پس این خنثی کننده (DNA interstrand crosslinks) یا (ICL) هستند.

DNA interstrand crosslinks

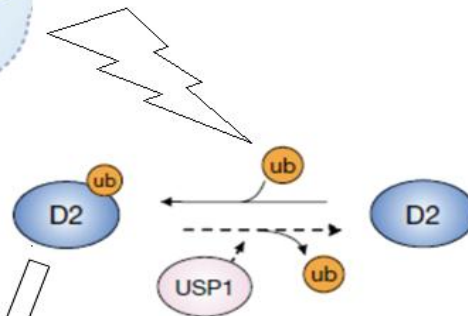
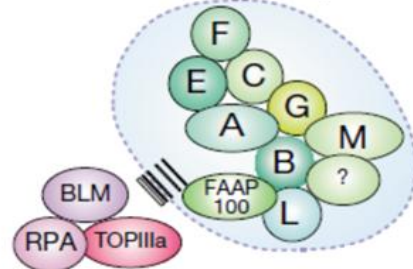


DNA damage

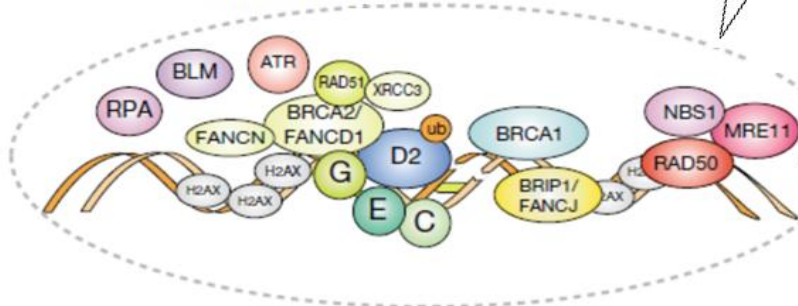


Interstrand crosslinks
Double strand breaks

FA core complex



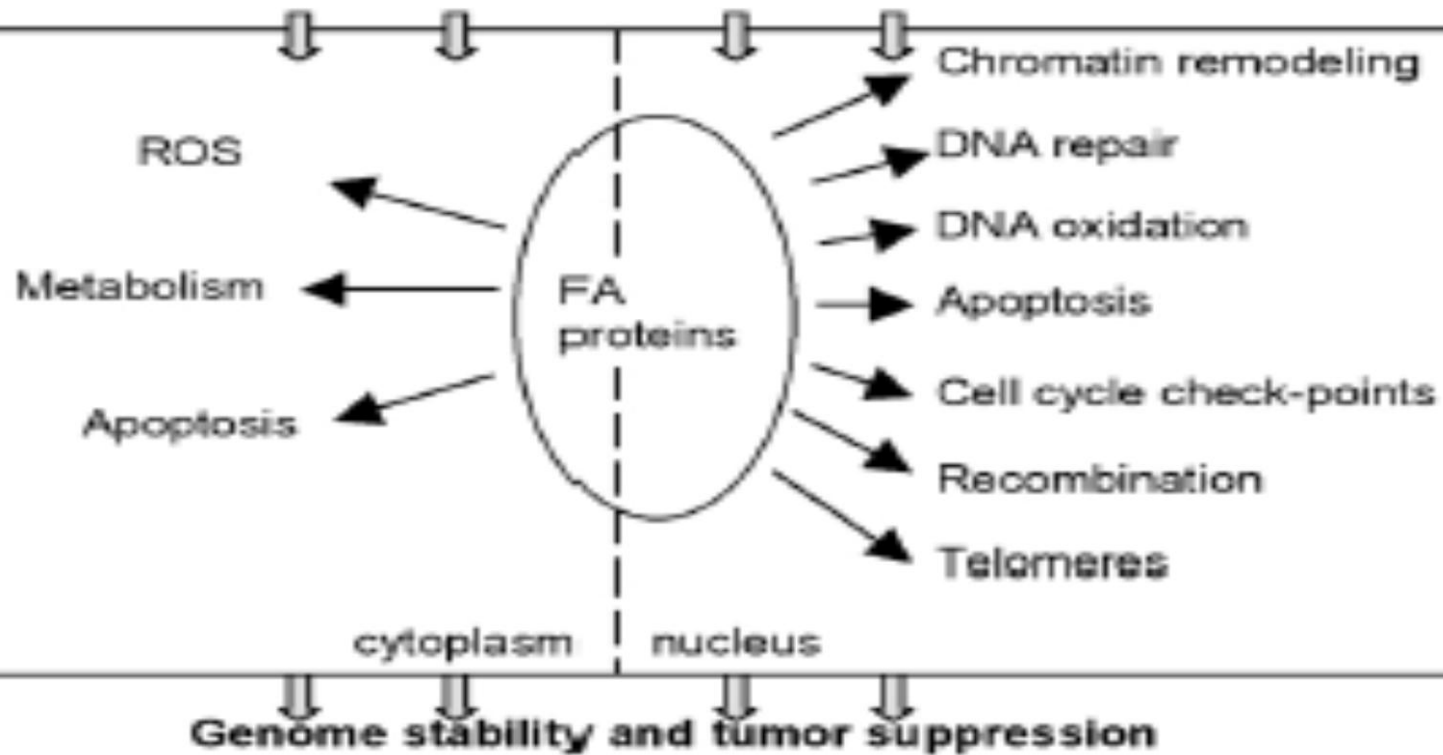
Nuclear foci



DNA repair
- homologous recombination

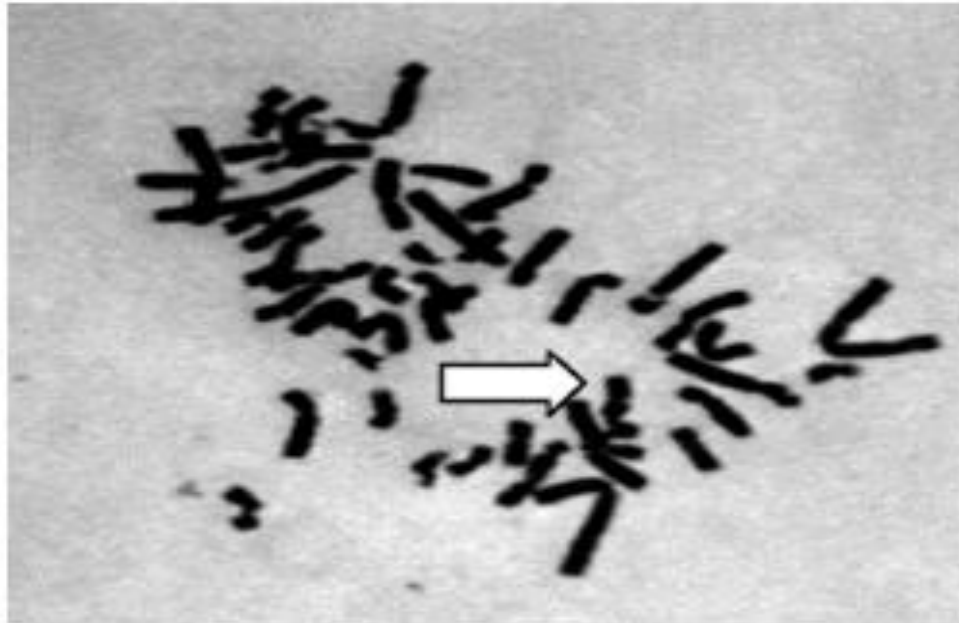
Carcinogenic factors:

Nucleotide cross-linkers, ionizing radiation, oxygen radicals, chemicals



امروزه تشخیص قطعی بیماری فانکونی که از آن به عنوان **gold standard** یاد می شود ، تست شکست کروموزومی (chromosome breakage test) با عوامل شیمیایی مثل ، cisplatinum ، DEB (diepoxybutane) ، MMC (mitomycin C) ، nitrogen mustard ، که همگی این عوامل DNA-cross linking agents هستند ، امکانپذیر می باشد.

لازم به ذکر است که سلول های این بیماران در تست فلوسیتومتری نیز در مرحله G2 توقف دارند.



درمان

عدم درمان قطعی و درمان های موجود جنبه نگهدارنده دارند و شامل:

۱: تزریق خون (Blood transfusion)

۲: دارو درمانی (آندروژن های خوراکی ، Oral androgen)

۳: پیوند مغز استخوان { Bone marrow transplantation (BMT) }

۴: تزریق سلول های بنیادی خونی به داخل بند ناف جنین مبتلا (Umbilical cord blood

(stem cell transplantation

۵: ژن درمانی که در مرحله تحقیقات می باشد.

از این میان پیوند مغز استخوان در سال های اخیر بیشترین مورد را به خود اختصاص داده است

استراتژی پیشنهادی

۱: ایجاد بیوبانک اطلاعاتی در مورد این بیماران و خانواده های آنها

جدول ۲: اطلاعات کلی بیماران فائوکونی (General Manifestation)

خانواده ها	فرزندان		از نواح فائیلی	پیوند مغز استخوان	درمان با آندروژن ها	تزیق خون	محل تولد
	زنه/مرد	جنس/ سن					
Fa1	+	مونت/۲۸	خیر	خیر	بله	بله	تهران
Fa2	+	مونت/۱۳	خیر	خیر	بله	خیر	اردبیل
Fa3	+	مونت/۱۱	بله	بله	خیر	خیر	اصفهان
۳۳	+	مذکر/۲۴	بله	خیر	خیر	خیر	اصفهان
Fa4	-	مونت/۵۱	بله	خیر	خیر	بله	تهران
Fa5	-	مذکر/۳۳	خیر	خیر	بله	بله	قائم شهر
۳۳	+	مونت/۳۴	خیر	خیر	خیر	بله	قائم شهر
Fa6	+	مذکر/۸	بله	خیر	بله	خیر	تهران
Fa7	+	مونت/۸	بله	خیر	بله	خیر	تهران
Fa8	+	مذکر/۱۶	بله	خیر	خیر	خیر	همدان
Fa9	-	مذکر/۹	بله	خیر	بله	بله	یزد
۳۳	+	مونت/۶	بله	خیر	خیر	خیر	یزد
Fa10	+	مونت/۱۰	بله	خیر	خیر	بله	اردبیل
Fa11	+	مونت/۱۱	بله	خیر	بله	بله	اصفهان
Fa12	+	مذکر/۸	بله	خیر	بله	بله	مشهد
Fa13	+	مونت/۱۱	خیر	خیر	بله	خیر	اصفهان
Fa14	+	مذکر/۸	بله	خیر	خیر	بله	کرج
Fa15	+	مذکر/۲۱	بله	خیر	خیر	خیر	مشهد
Fa16	+	مونت/۸	بله	بله	خیر	خیر	بندرعباس
Fa17	+	مذکر/۸	بله	بله	خیر	خیر	تهران
Fa18	-	مذکر/۷	بله	بله	خیر	بله	یزد

Fa19 *	+	مذکر/۵	خیر	بله	خیر	خیر	کرمان
Fa20	+	مونت/۱۴	بله	بله	خیر	خیر	تهران
Fa21	+	مذکر/۲۳	بله	بله	خیر	خیر	تهران
Fa22	+	مذکر/۶	بله	بله	خیر	خیر	کرج
Fa23	+	مذکر/۶	بله	بله	خیر	خیر	تهران
Fa24	+	مذکر/۱۲	بله	بله	خیر	خیر	تهران
Fa25	+	مذکر/۱۳	بله	بله	بله	بله	تهران
Fa26	+	مذکر/۱۱	بله	بله	بله	بله	تهران
Fa27	+	مذکر/۸	بله	بله	بله	خیر	اهواز
Fa28	-	مونت/۲۹	بله	خیر	بله	بله	رشت
Fa29	-	مونت/۲۰	بله	بله	خیر	خیر	اهر - تبریز
Fa30	-	مونت/۲۵	خیر	بله	بله	بله	شهرکرد
۳۳	-	مذکر/۲۱	خیر	خیر	بله	بله	شهرکرد
Fa31	-	مذکر/۷	بله	خیر	خیر	بله	قم
Fa32	-	مذکر/۱۰	بله	خیر	بله	بله	تهران
Fa33	-	مونت/۴۰	بله	بله	خیر	خیر	تهران
Fa34	-	مذکر/۱۰	بله	خیر	بله	بله	قزوین
Fa35	-	مونت/۱۸	بله	بله	بله	بله	تهران
Fa36	-	مونت/۶	بله	خیر	بله	خیر	تهران
Fa37	-	مونت/۱۰	بله	خیر	بله	بله	رودبار - رشت
Fa38	-	مذکر/۱۵	بله	خیر	خیر	خیر	بابل
Fa39	-	مونت/۱۳	بله	خیر	خیر	بله	مشهد
Fa40	+	مذکر/۶	بله	بله	خیر	خیر	اصفهان

استراتژی پیشنهادی

۲ : بررسی بیماران مشکوک به کمخونی فانکونی و یا خانواده های آنها **با تست شکست کروموزومی مثل MMC**

یا بررسی بیماران با فلوسیتومتری و بررسی **G2 arrest** در سیکل سلولی آنها

در سال ۲۰۰۶ خانم دکتر محجوبی و همکارانشان تعداد ۶۱ بیمار مبتلا به کم خونی فانکونی را با روش سیتوژنتیکی MMC تشخیص داده و گزارش کردند.

در سال ۲۰۱۶ دکتر صفار مقدم و همکارانشان تعداد ۷۰ خانواده با حداقل یک بیمار مبتلا به کمخونی را شناسایی و گزارش کردند.

استراتژی پیشنهادی

۳ : بررسی در سطح DNA

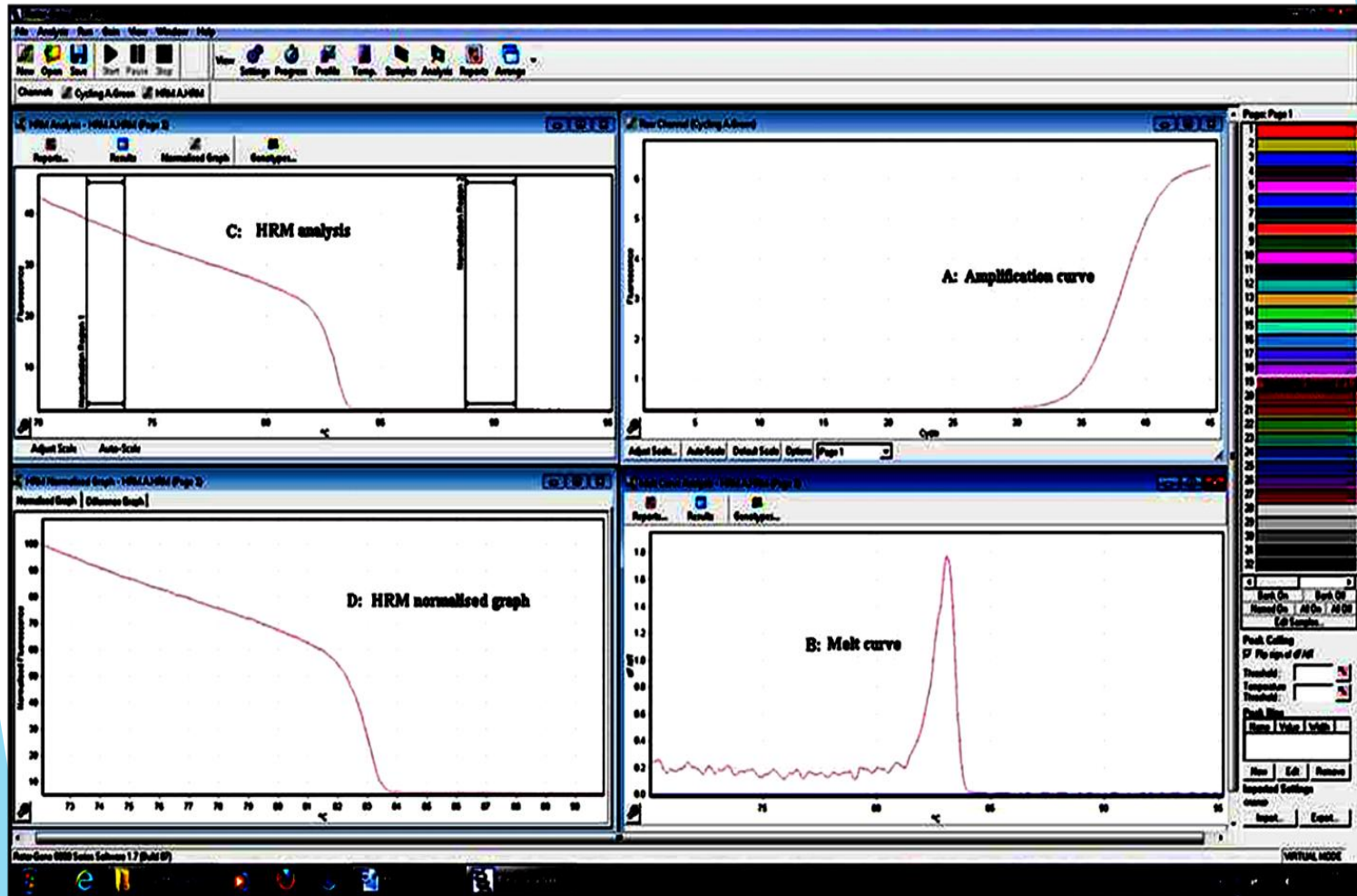
In unknown cases: NGS- Whole exon sequencing

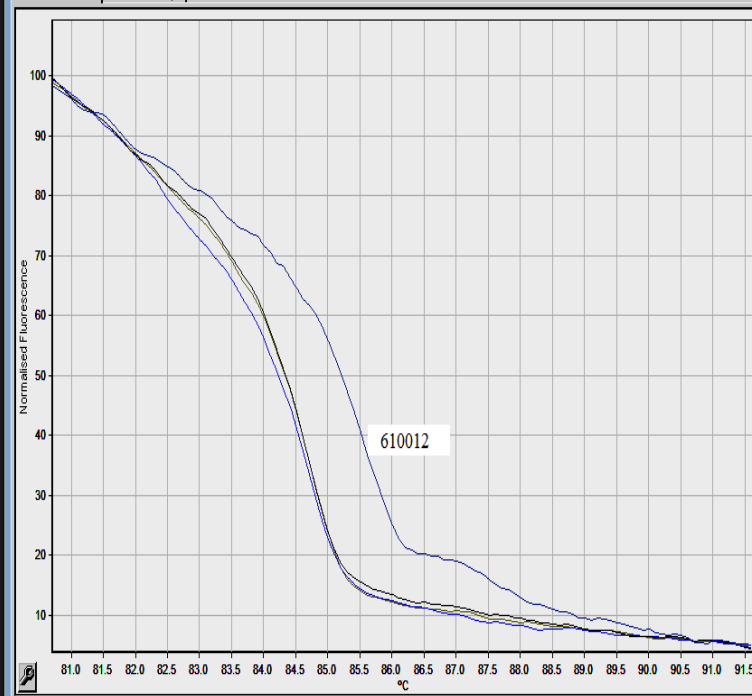
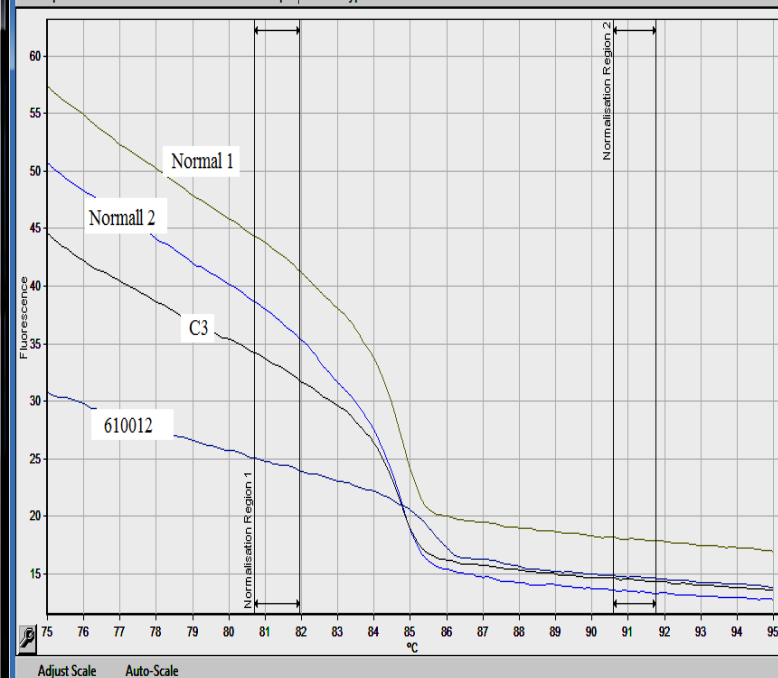
In known cases: MLPA - PCR – HRM – sequencing

Multiplex ligation- dependent probe amplification (MLPA)

HRM

Corbett or Rotor-Gene 6000 Multiplexing Instrument





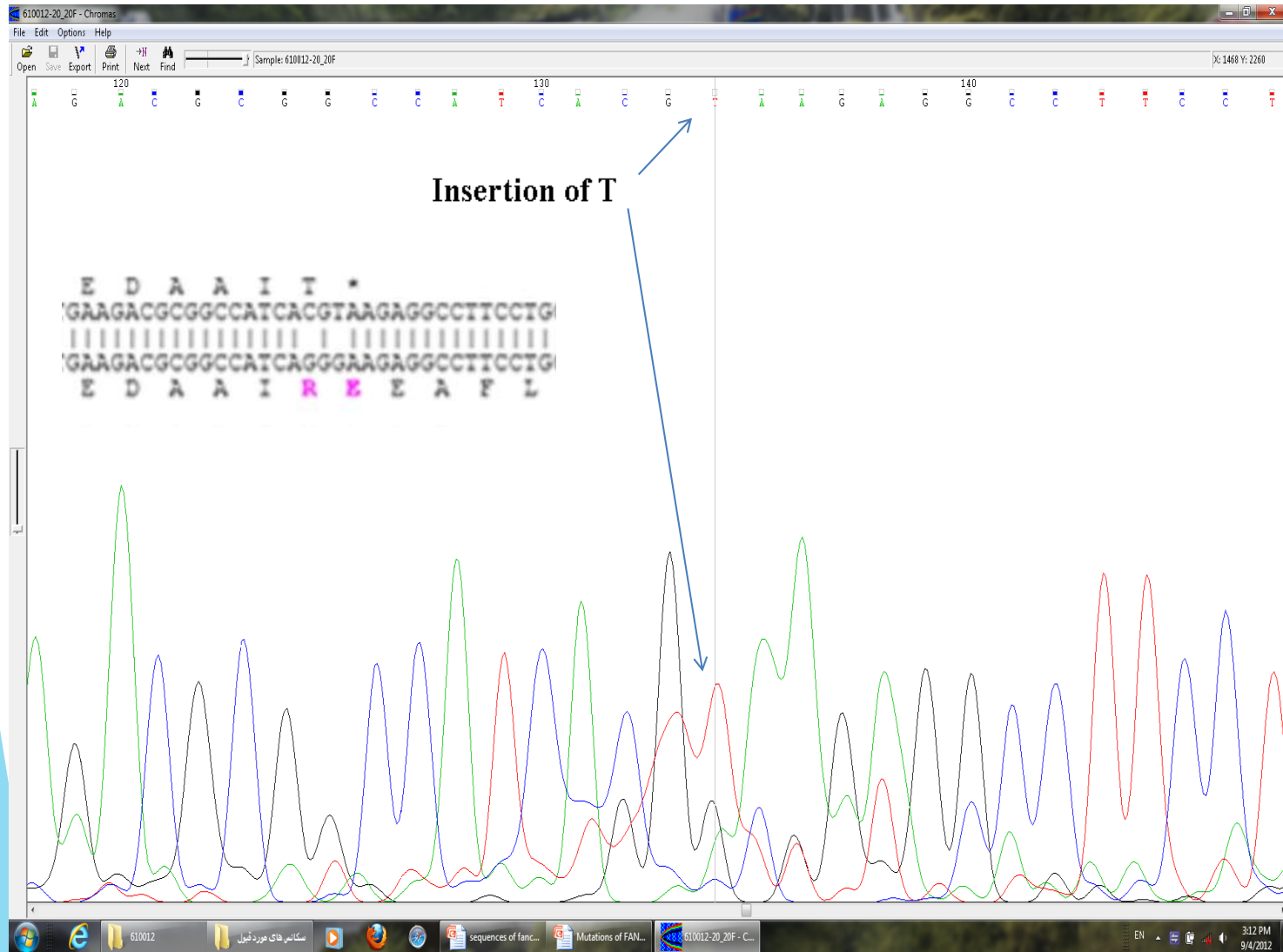
1	Control Negative
2	Normal 1
3	Normal 2
4	
5	c1
6	c2
7	c3
8	61004
9	c5
10	61006
11	c7
12	c8
13	c9
14	610010
15	c11
16	610012

Bank On Bank Off
Named On All On All Off
Edit Samples...

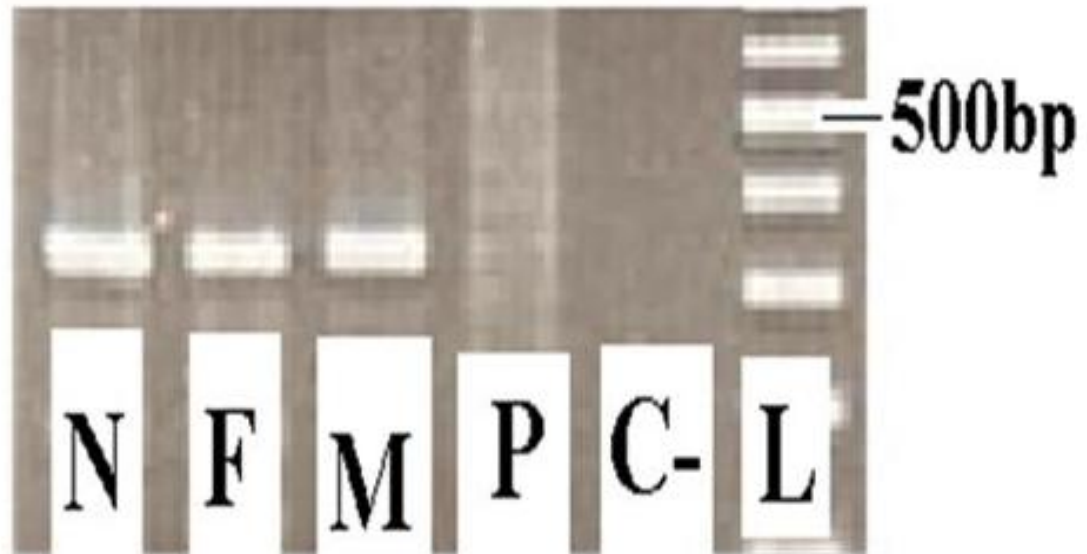
Normalisation Regions
Leading Range
Start: 80.71
End: 81.94
Trailing Range
Start: 90.59
End: 91.77

Confidence Percentage
Threshold 90 %

610012



Deletion



استراتژی پیشنهادی

۴ : انجام مطالعات بالینی با موش های ترانسژنیک فانکونی

**Thank You
For Your
Attention**

