



**UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN**

**Actualización de las  
características de la  
Anemia de Fanconi**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
LICENCIADA EN BIOQUÍMICA DIAGNÓSTICA  
P R E S E N T A:**

**KARLA FABIOLA ORTA CERÓN**

**ASESOR: M. EN C. IDALIA CARMEN AVILA MIYAZAWA**

**CUAUTILÁN IZCALLI, ESTADO DE MÉXICO, 2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE  
MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN**  
**SECRETARÍA GENERAL**  
**DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES**

**ASUNTO: VOTO APROBATORIO**  
FACULTAD DE ESTUDIOS  
SUPERIORES CUAUTITLÁN

**M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ**  
**DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN**  
**PRESENTE**

**ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA**  
**Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales**  
**de la FES Cuautitlán.**



Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: **Trabajo de Tesis.**

**Actualización de las características de la Anemia de Fanconi.**

Que presenta la pasante: **Karla Fabiola Orta Cerón**

Con número de cuenta: **310296724** para obtener el Título de la carrera: **Licenciatura en Bioquímica Diagnóstica**

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el **EXAMEN PROFESIONAL** correspondiente, otorgamos nuestro **VOTO APROBATORIO.**

**ATENTAMENTE**

**"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"**

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 13 de Enero de 2020.

**PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO**

	NOMBRE	FIRMA
<b>PRESIDENTE</b>	M. en C. Idalia Carmen Avila Miyazawa	
<b>VOCAL</b>	Q.F.B. René Damián Santos	
<b>SECRETARIO</b>	M. en C. Gloria Leticia Arellano Martínez	
<b>1er. SUPLENTE</b>	Q.F.B. Verónica Ruiz Solorio	
<b>2do. SUPLENTE</b>	M. en C. Heidi Johanna Amezcua Hempel	

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México, la máxima casa de estudios a la cual pertenezco orgullosamente desde hace 10 años, un segundo hogar. Mi CCH, que me dio la oportunidad de entrar a la carrera perfecta y fue un punto crítico para la formación de mi pensamiento humanístico y científico. A la FES Cuautitlán, por ser un plantel de excelencia y fuente de conocimientos valiosos para varias generaciones.

A mi asesora la maestra Idalia Carmen Avila Miyazawa por ser paciente y atenta.

## **Dedicatorias**

Primero debo y quiero agradecer a mi familia, esos seres incondicionales por los que me siento completamente afortunada, sin mi familia no estaría logrando en verdad nada porque ellos son el principal amortiguador a mis días malos, a cuando he pensado que debo dejar todo. Mi familia es mi motivación a hacer las cosas cada vez mejor, son mi razón de estar, son quienes me dan todo para ser feliz.

Mi momi Celia, es un ángel que sin pedírselo y sin ser su responsabilidad ha cuidado siempre de mí y al mismo tiempo de todo lo que amo. Cada detalle que haces, cada cosa que me hace dar cuenta de que a pesar de que todo el tiempo tienes la cabeza llena de cosas, cuidas de cada miembro de tu familia con amor ilimitado.

Mi padre, el otro ser que junto con mi madre formó un equipo para protegernos, proveernos, me ha escuchado y me ha entendido desde mi infancia, un ejemplo de responsabilidad y serenidad para resolver problemas.

A mi Eliza, mi bebé filamentosos, que siempre llega con su alegría a desaparecer el silencio, y la soledad, que es sensible a mi sentir, comprensiva y mi adoración en toda la existencia. Eres un ser de luz que cambió mi vida y me ha enseñado que soy más fuerte de lo que pensaba y un camino para vivir feliz. Eres mi todo, todo lo que hago es para ti.

Mis hermanas que saben que las adoro, me han apoyado cuando yo he tenido que ausentarme para cumplir mi trabajo y mi carrera incondicionalmente. Saben que mi infancia, mi formación y mi vida en general y la de Eliza no sería la misma sin ustedes, somos sólo cuatro y nos

entendemos.

Sayuri, eres de las personas que mejor me conocen porque siempre me has escuchado, contigo pasé los momentos más divertidos desde que iniciaron nuestras vidas y hasta la fecha espero con emoción cada rato que podemos tener para platicar, gracias por apoyarme con Eliza cuando lo he necesitado.

Diana pez, te quiero mucho porque me entiendes y siempre estás para platicar y para conseguir "el outfit" en cada ocasión, y sé que siempre vas a estar, aunque a veces no lo expresemos igual. Eres una mujer trabajadora, poderosa y muy capaz.

# Índice

<b>I. Glosario de términos</b> .....	3
<b>II. Abreviaturas</b> .....	6
<b>III. Introducción</b> .....	7
<b>IV. Objetivos</b> .....	8
General .....	8
Particulares .....	8
<b>V. Justificación</b> .....	9
<b>1. Generalidades de la Anemia de Fanconi</b> .....	10
1.1 Definición, historia y epidemiología.....	10
<b>2. Fisiopatología</b> .....	14
2.1 Daño al DNA .....	16
2.2 Tipos de lesiones .....	16
2.3 Mecanismos de reparación del DNA.....	19
2.3.1 Reparación de apareamientos erróneos (MMR).....	20
2.3.2 Reparación por escisión de bases (BER).....	20
2.3.3 Reparación por escisión de nucleótidos (NER) .....	21
2.3.4 Fotorreactivación .....	21
2.3.5 Desmetilación oxidativa .....	21
2.3.6 Recombinación homóloga.....	21
2.3.7 Unión de extremos no homólogos (NHEJ) .....	22
2.3.8 Vía Fanconi.....	23
2.4 Vía de reparación Fanconi.....	23
2.4.1 Mutaciones en las proteínas FANC que conllevan a la fragilidad cromosómica	31
2.4.2 La anemia de Fanconi como factor predisponente para presentar otras enfermedades.....	43
<b>3. Diagnóstico</b> .....	46
3.1 Observaciones clínicas.....	53
3.2 Hematológico .....	63
3.2.1 Criterios Diagnósticos para la clasificación de anemia aplásica .....	69
3.3 Citogenético .....	71
3.3.1 Prueba de fragilidad cromosómica .....	71

3.4.2	Análisis por bandeado con Giemsa.....	74
3.5	Diagnóstico Prenatal .....	77
3.6	Diagnóstico Molecular .....	77
3.6.1	Opciones disponibles para diagnóstico molecular .....	80
3.7	Nuevas perspectivas de diagnóstico .....	82
<b>4.</b>	<b>Tratamiento .....</b>	<b>82</b>
4.1	Actuales .....	83
4.1.1	Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH) .....	83
4.1.2	Manejo de neoplasias asociadas a anemia de Fanconi .....	86
4.1.3	Manejo farmacológico .....	88
4.1.4	Manejo de anomalías hormonales .....	88
4.1.5	Manejo de neoplasias asociadas a AF .....	89
4.1.6	Factor estimulante de colonias.....	90
4.2	Nuevas perspectivas terapéuticas .....	91
4.2.1	Terapia génica con vectores virales .....	92
4.2.2	Edición genética CRISPR/CAS9 .....	93
4.2.3	Nuevos tratamientos farmacológicos .....	95
4.2.4	Hallazgos en el metabolismo en Anemia de Fanconi para potenciales blancos terapéuticos.....	95
4.2.5	RNA no codificantes que regulan la traducción de RNA mensajeros.....	96
<b>5.</b>	<b>Conclusiones .....</b>	<b>97</b>
<b>VI.</b>	<b>Referencias consultadas .....</b>	<b>97</b>

## I. Glosario de términos

**Aducto:** un aducto de DNA es un segmento de DNA unido a un compuesto tóxico.

**Atresia:** Ausencia congénita de un orificio o estrechamiento de un conducto natural de un organismo.

**Ciclofosfamida:** Medicamento indicado para tratar pacientes con severa depresión en la función celular ósea.

**Citostático:** Sustancia que inhibe el desarrollo y multiplicación de las células.

**Cromóforo:** Un cromóforo es la parte o conjunto de átomos de una molécula responsable de su color.

**Cuerpo calloso:** estructura que se encuentra en lo profundo del cerebro y que conecta los hemisferios cerebrales derecho e izquierdo.

**Diseritropoyesis:** Formación anormal de eritrocitos.

**Disgenesia:** Malformación o formación anormal congénita de un órgano.

**Disqueratosis congénita:** Desorden genético multisistémico.

**E3:** Las enzimas E3 funcionan como los centros de reconocimiento del sustrato del sistema de ubiquitinación.

**Edición genética:** técnica que permite cambiar, añadir o quitar segmentos de DNA para modificar de forma precisa su secuencia, cambiando así las características de un organismo.

**Exoma:** es la parte del genoma formado por los exones, los fragmentos de DNA que se transcriben para dar lugar a las proteínas.

**Ex vivo:** se refiere a los experimentos o medidas realizados en o sobre tejidos biológicos de un organismo en un



ambiente artificial fuera del organismo.

**Grupo de complementación:**

Cuando dos genes de un organismo con diferentes mutaciones recesivas homocigotas producen el mismo fenotipo mutante.

**Malformacion de Arnold-Chiari,** desorden neurológico caracterizados por alteraciones dentro de las regiones del cerebelo, tallo cerebral y la unión craneocervical; resultando en un desplazamiento inferior del cerebelo hacia el canal espinal.

**Mitofagia:** Proceso de autofagia de las mitocondrias.

**Mitógeno:** Sustancia que estimula la proliferación celular.

**Mosaicismo somático:** es una alteración en la que, en un mismo individuo, coexisten dos o más poblaciones de células con distinto genotipo

**Nistagmo:** movimiento involuntario, rápido y repetitivo de los ojos.

**Oncogen:** Gen que induce a la formación de cáncer en una célula.

**Ortológico:** Cualquiera de dos o más secuencias de genes homólogos encontrados en diferentes especies relacionadas por descendencia lineal.

**Oximetolona:** Esteroide anabolizante: Favorece los procesos de construcción de los tejidos corporales y revierte los procesos catabólicos.

**Parálogo:** Las secuencias homólogas se dicen parálogas si las mismas se hallan separadas por un evento de duplicación.

**Prednisona:** Fármaco que interacciona con receptores citoplasmáticos intracelulares específicos, que interactúa con secuencias específicas de DNA, que estimulan o reprimen la transcripción génica de ARNm específicos.

**Proteómica:** Rama de la biotecnología relacionada con la aplicación de las técnicas de

biología molecular, bioquímica y genética para analizar la estructura, función e interacciones de las proteínas producidas por los genes de una célula, tejido u organismo en particular.

**Primer (oligonucleótido iniciador):** secuencia corta (generalmente RNA) que se sintetiza a partir de la enzima primasa en la forma de primosoma, utilizando como templado cada una de las hebras del DNA que se autoduplicarán.

**Ptosis:** descenso permanente del párpado superior.

**RUNX1:** Factor de transcripción que regula la diferenciación de las células hematopoyéticas.

**Septum pellucidum:** es un delgado tabique medial de morfología triangular, formado por dos láminas nerviosas adheridas que se localizan ente el cuerpo calloso y el trígono

**Sitio abásico:** que no tiene una base purina ni pirimidínica (falta de una base), ya sea debido a

causas espontáneas o debido al daño del DNA.

**Transcriptoma:** es el conjunto de mRNA (o transcritos) que están presentes en la célula en un momento determinado.

**Ubiquitinación:** la adición de una o varias moléculas de ubiquitina, una proteína pequeña, de manera covalente a proteínas blanco en residuos de lisina.

## II. Abreviaturas

**AF:** Anemia de Fanconi

**CF:** Complejo nuclear Fanconi.

**CPDs:** Dímeros de ciclobutano.

**CRISPR/CAS9:** sistema natural de inmunidad adaptativa de algunas bacterias que consiste en repeticiones palindrómicas en el material genético y una enzima que hace cortes específicos en el mismo material.

**CMH:** Células madre hematopoyéticas

**BLM:** Gen mutante responsable del síndrome de Bloom, por la ausencia de la proteína.

**DEB:** Diepoxibutano.

**FAAP:** Polipeptidos asociados a la anemia de Fanconi.

**HLA:** Antígeno leucocitario humano.

**ICLs:** Interstrand crosslinks o entrecruzamientos de DNA.

**LD:** Cuerpos lipídicos

**MMC:** Mitomicina C.

**MMR:** Reparación de apareamientos erróneos.

**MSH2-MSH6:** gen humano que se encuentra situado en el brazo corto del cromosoma 2, codifica para el complejo MMR (para reparación del DNA).

**NER:** Reparación por escisión de nucleótidos.

**RLO:** Radicales libres de oxígeno.

**RLN:** Radicales libres de nitrógeno

**SSBs:** Single strand breaks o rupturas de cadena simple

**TNF:** Tumor necrosis factor o Factor de necrosis tumoral.

**UV:** Ultravioleta

**VACTERL:** Acrónimo de (V) vertebral abnormalities (A) anal atresia (C) cardiac defects (TE) tracheal-esophageal abnormalities, including atresia, stenosis and fistula (R) renal and radial abnormalities (L) (non-radial) limb abnormalities.

### III. Introducción

La anemia de Fanconi (AF) es la forma genética más común de anemia aplásica, un trastorno recesivo caracterizado por una pancitopenia progresiva, diversas anomalías congénitas y una predisposición a la malignidad (Rockefeller University, 2015).

La anemia de Fanconi es una enfermedad hereditaria causada por múltiples mutaciones genéticas que producen malformaciones, baja estatura, entre otras características físicas y fallo medular, además de fragilidad cromosómica (sensibilidad a mitomicina C o diepoxibutano (DEB)), característica en la cual se ha basado el diagnóstico diferencial de la anemia de Fanconi durante mucho tiempo. El diagnóstico parecía relativamente sencillo, desde que se descubrió la enfermedad se establecieron las características clínicas y hematológicas de los pacientes con anemia de Fanconi, en los casos más severos se sospecha de la enfermedad por el aspecto físico de los pacientes desde muy corta edad. A partir de que se han desarrollado nuevas técnicas de biología molecular para la caracterización genética, se han descubierto múltiples mutaciones causantes de las manifestaciones de la enfermedad, actualmente se sabe que son por lo menos 23 mutaciones las responsables, generalmente son de herencia autosómica recesiva, sin embargo, en ocasiones pueden ser de herencia dominante ligada al cromosoma X. Los genes Fanconi se han nombrado con el prefijo "FANC" y cada una de las proteínas codificadas por estos genes son parte de la "vía Fanconi", cuya función es proteger al DNA de la formación de enlaces cruzados y repararlos, por lo que las alteraciones en dichos genes producen defectos graves en la hematopoyesis, provocando el fallo medular que es bien conocido en esta enfermedad.

Los estudios más recientes se enfocan en la caracterización genética de los pacientes con anemia de Fanconi, y su objetivo es detectar la o las mutaciones que presenta cada paciente, ya que es esencial para aplicar nuevas terapias en desarrollo como la terapia génica con endonucleasas modificadas o la edición genética. Aunque hasta la fecha dichas terapias no han podido probarse en humanos, los estudios con pequeñas especies de animales de laboratorio han sido muy útiles para dar una nueva perspectiva sobre la terapia génica.

## IV. Objetivos

### General

Describir la fisiopatología y las características hematológicas, moleculares y clínicas de la anemia de Fanconi mediante una búsqueda bibliohemerográfica-electrónica, con la finalidad de brindar una revisión completa y actualizada que permita comprender mejor esta enfermedad y así optimizar el diagnóstico.

### Particulares

- Especificar las características hematológicas, clínicas y moleculares que definen a la anemia de Fanconi.
- Informar sobre las investigaciones más recientes que se han llevado a cabo acerca de los mecanismos moleculares de la anemia de Fanconi, para dar a conocer una nueva perspectiva sobre los tratamientos potenciales de la enfermedad.
- Explicar la relación de la anemia de Fanconi con la predisposición de los pacientes a presentar otras enfermedades.

## V. Justificación

Diversas investigaciones se han realizado en torno a la Anemia de Fanconi, el avance en la técnicas de biología molecular ha permitido obtener un panorama más amplio sobre la fisiopatología, diagnóstico y tratamiento de esta enfermedad, sin embargo, hasta la fecha no se ha llevado a cabo una integración que permita recabar y actualizar toda la información relacionada con la Anemia de Fanconi, por lo que esta revisión bibliohemerográfica electrónica permitirá brindar al personal de la salud una nueva perspectiva acerca de la enfermedad, y los mecanismos genéticos involucrados, asociando la patología a las complicaciones que en ella se pueden presentar.

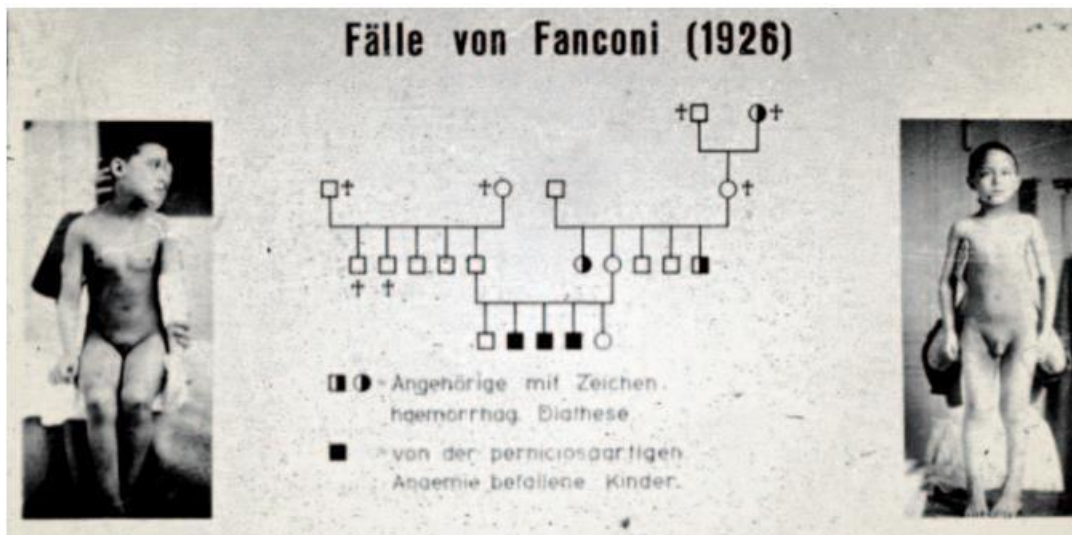
# 1. Generalidades de la Anemia de Fanconi

## 1.1 Definición, historia y epidemiología

La anemia de Fanconi (AF) es una enfermedad hereditaria que causa falla medular, está asociada con defectos en el desarrollo de múltiples órganos, malformaciones congénitas y predisposición a ciertos tipos de cáncer (Tan, 2017). Es una enfermedad de tipo autosómica recesiva (la mayoría de las veces, ya que en ocasiones puede estar asociada al cromosoma X), pertenece al grupo de anemias aplásicas que se presentan en la infancia, siendo una de las más frecuentes (Giler, 2007).

En 1927 el pediatra suizo Guido Fanconi, describió por primera vez la enfermedad en tres hermanos con diferentes malformaciones congénitas, quienes presentaban astenia, infecciones de repetición y sangrados espontáneos debido a deficiencias funcionales en la médula ósea. En la figura 1 se muestra una ilustración y esquema de las primeras investigaciones de Guido Fanconi.

La entidad hematológica que describió en aquel entonces ahora lleva su nombre: la anemia de Fanconi, también conocida como anemia perniciosiforme infantil familiar o panmielopatía familiar.



**Figura 1. Imagen original de una lectura de Guido Fanconi mostrando dos de los tres primeros pacientes con anemia de Fanconi y su árbol familiar (extraído de "Guido Fanconi (1892–1979): a jack of all trades" en Nature reviews, 2006).**

En 1964 se describió por primera vez la presencia de aberraciones cromosómicas espontáneas en sangre de pacientes afectados con panmielopatía familiar (Lobitz, 2006). Entre 1964 y 1976 Schroeder y col. comprobaron que las observaciones de Fanconi en aquellos pacientes se debían a anomalías cromosómicas, identificando a la anemia de Fanconi como una enfermedad asociada a la herencia autonómica recesiva (Schroeder, 1971). Tiempo después Schuler y col. en 1969 incorporaron al diagnóstico de esta patología, la provocación de fragilidad cromosómica mediante la exposición a agentes alquilantes; La sangre se cultiva en un tubo de ensayo para provocar el crecimiento y la proliferación de los linfocitos, uno de los muchos tipos celulares presentes en la sangre. Para aumentar la fiabilidad del estudio cromosómico, se añade diepoxibutano (DEB) o la mitomicina C (MMC) que rompen los cromosomas. Auerbach, en 1985, llegó a establecer el diagnóstico prenatal, el cual es posible mediante un ensayo de ruptura cromosómica inducida por DEB y actualmente con un estudio molecular si la mutación es conocida (López, 1993).

La existencia de heterogeneidad genética en AF fue demostrada al principio de los años ochenta por el trabajo de Manuel Buchwald y Karl Sperling, quienes usaron un enfoque de fusión celular.

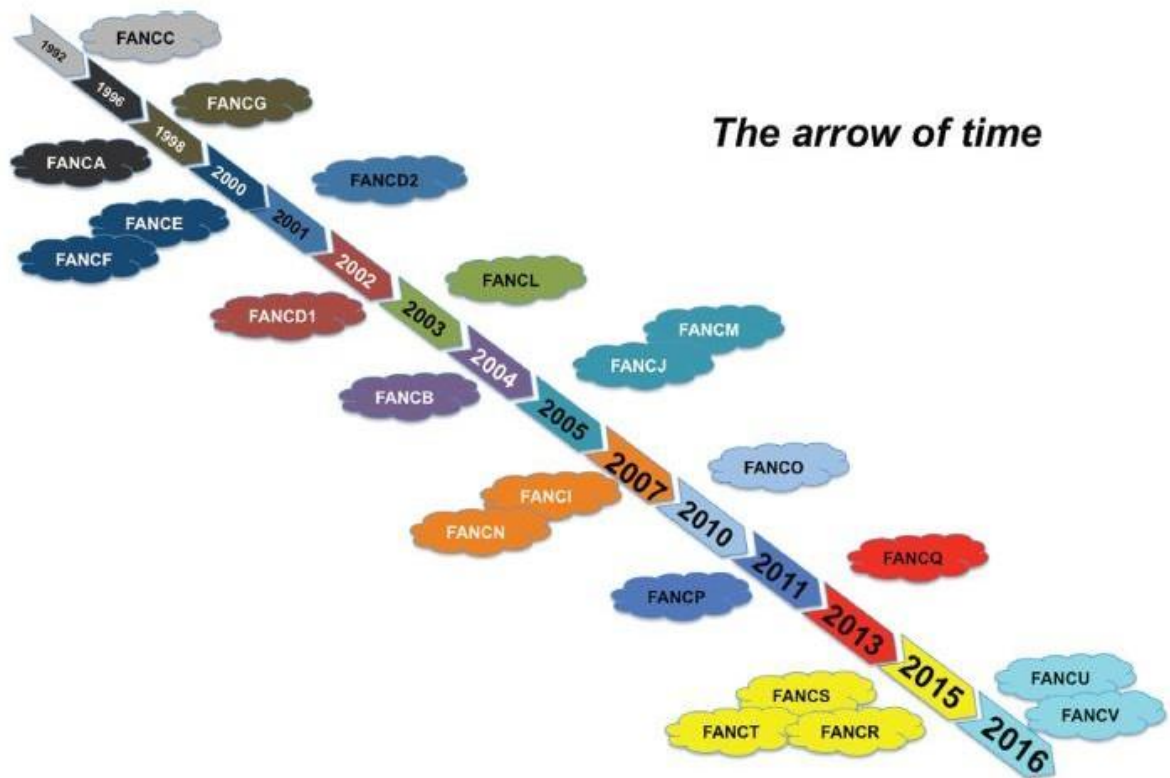
Duckworth-Risiecky y colaboradores reportaron la existencia de dos grupos de complementación de AF ("A" y "no A") en 1985 (Gueiderikh et al, 2017).

Más tarde, en 1992, se publicaron dos manuscritos, en el primero se reconocía que el grupo "no A" era heterogéneo, ensamblando tres grupos de complementación B, C y D, en 1997 se establecieron en total 8 grupos, de la A a la G (Stratdhee, 1992).

En 2003 el trabajo de Meetei hizo dar un gran salto: Weidong Wang y colaboradores purificaron en Estados Unidos un complejo molecular de BLM (BLM es un gen asociado a la vía Fanconi y otras vías de reparación del cual se hablará más adelante), que contiene dos grupos de proteínas separables por concentración salina: las proteínas asociadas a BLM (BLMAP) y los polipéptidos asociados a la anemia de Fanconi (FAAP). El trabajo de Meetei y sus colaboradores también proporcionó la primera indicación de que al menos algunas de las proteínas FANC trabajan juntas dentro de un complejo molecular (Ali, 2009).

Finalmente, treinta años después del descubrimiento de que el gen para FA-D1 es BRCA2, BRCA1 también obtuvo el acrónimo FANC para su identificación en un paciente que cuenta con las mutaciones y el fenotipo celular (Sawyer, 2015). A continuación se muestra un esquema para ilustrar los eventos importantes en una línea del tiempo.





**Figura 2. Línea del tiempo del descubrimiento de las proteínas involucradas en la vía Fanconi desde 1992 hasta 2016 (Gueiderikh et al, 2017).**

Algunos grupos de complementación se determinaron mediante experimentos de fusión celular o mediante la corrección de defectos en la fase G2/M del ciclo celular o la hipersensibilidad de las células de un paciente por transducción con vectores retrovirales que contienen el DNAc (DNA complementario) normal (Ali, 2009). Otros se descubrieron con el método de clonación de DNA complementario, la cual es una técnica de biología molecular en el cuál típicamente, se inserta un gen blanco en un fragmento circular de DNA llamado plásmido (Strathdee, 1992).

Las alteraciones en el número y/o función de las células inmaduras pluripotenciales, de las células progenitoras hematopoyéticas o del micro ambiente medular, conducen al desarrollo de un grupo específico de síndromes clínicos conocidos como Síndromes De Falla Medular. Estos síndromes pueden ser hereditarios o adquiridos, manifestándose en diversas etapas de la vida

En nuestro país, recientes estudios realizados en la población pediátrica en hospitales del IMSS en la Ciudad de México informan que cada año se diagnostican 4.8 casos nuevos de síndrome de falla medular por millón, en menores de 15 años y 4.1 casos por millón en mayores de 15 años (Benítez, 2002). Entre las causas más frecuentes (Tabla 1) la anemia de Fanconi es la más común de las enfermedades hereditarias que causa anemia aplásica y se asocia con defectos en el desarrollo y predisposición a cáncer (Shim, 2017) y afecta a 1:360000 nacimientos. Se considera heterocigota en el 0.5% de la población, aunque hay variabilidad étnica (es más frecuente en algunos grupos judíos y africanos). La proporción entre hombres y mujeres es de 3:1. Se han reportado casos de mutaciones de novo en pacientes con padres no consanguíneos (Li, 2018).

#### Etiología de Anemia Aplásica

Hereditarias
Anemia de Fanconi
Anemia de Diamond-Blackfan
Síndrome de Shwachman-Diamond
Adquiridas
Idiopática
Fármacos
Infección por virus de la hepatitis
Benzeno
Radiaciones
Citotoxicidad por quimioterapia

**Tabla 1. Causas de anemia aplásica. La anemia de Fanconi es la más común de las causas hereditarias.**

La incidencia global de este trastorno al momento del nacimiento es de aproximadamente 3 por un millón de nacidos, sin embargo, es una cifra variable, debido a que la distribución de los genes que presentan mutación es diferente, según la población que se esté estudiando, y el número de pacientes con AF no está documentado en muchos países (Rosenberg, 2003), por lo que la anemia de Fanconi (AF) puede alcanzar frecuencia de incluso 1 por 181 individuos en algunos grupos étnicos (Knies, 2017).

Aunque es principalmente una enfermedad pediátrica, los pacientes con AF adultos (>18 años) representan actualmente una proporción creciente dentro de la población que la

padece, esto no significa que la frecuencia haya aumentado en la población adulta, más bien, el aumento de la incidencia se atribuye a que los pacientes portadores de esta enfermedad no eran diagnosticados adecuadamente, por lo que el desarrollo de nuevas técnicas de biología molecular ha permitido identificar a pacientes con AF de todas las edades y en consecuencia las cifras de los adultos que la padecen ha aumentado (Torres, 2016).

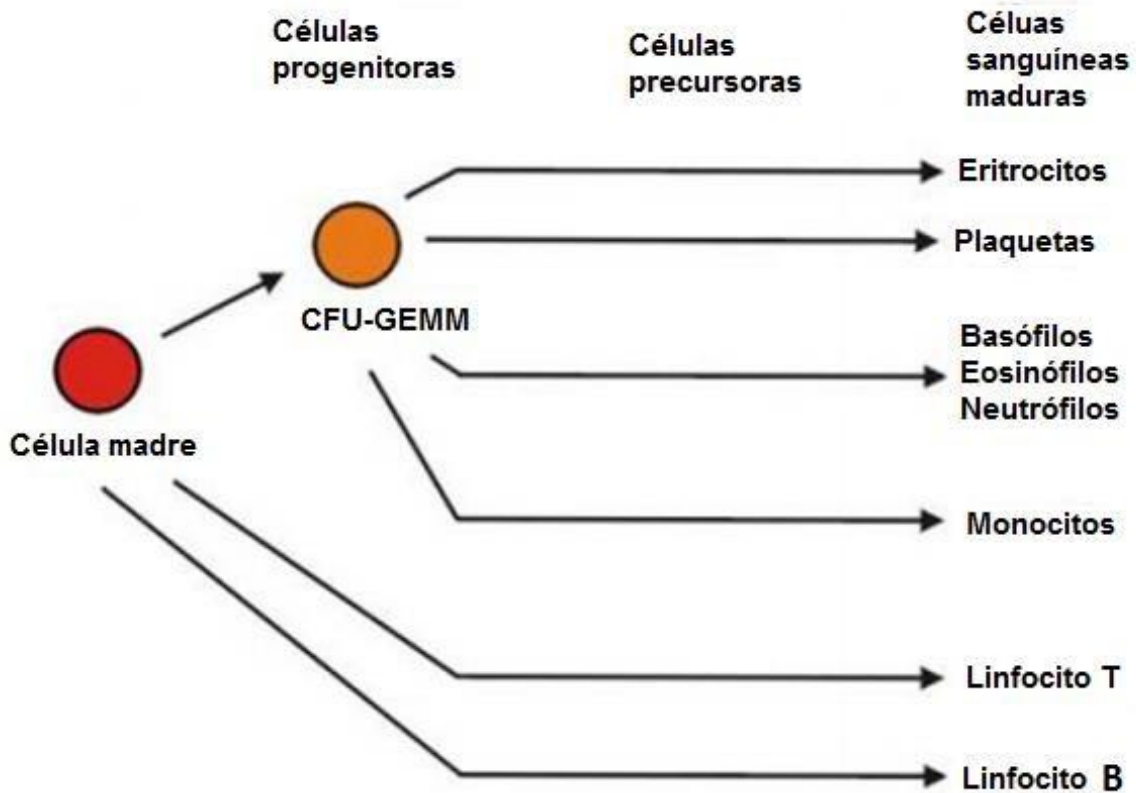
Es relativamente común en todos los grupos étnicos en todo el mundo. Tiene una incidencia estimada de 1 en 360,000 nacimientos vivos y una frecuencia de portadores de aproximadamente 1 en 181, la AF es relativamente poco común y puede ser difícil de diagnosticar debido a que los pacientes presentan una amplia variedad de síntomas (Mamrak, 2017). Es más común en Judíos Ashkenazi y Afrikaans de Sudáfrica con una frecuencia de 1 en 89 y 1 en 83 respectivamente (Siddiqui, 2019).

Existen escasas investigaciones sobre la epidemiología de la Anemia de Fanconi en México, sin embargo, se estudian los pocos casos que se presentan, por lo cual se sabe que sus características son similares a las reportadas en pacientes de otras partes del mundo.

## 2. Fisiopatología

El proceso a través del cual se generan las células de la sangre se denomina hematopoyesis y ocurre bajo condiciones muy específicas en el interior de los huesos, en la médula ósea, se inicia a partir de un precursor medular pluripotente con capacidad autorregenerativa y diferencial a distintas líneas hematopoyéticas. La lesión en dichas células germinales, bien por acción directa (inmunológica, tóxica o idiopática) o por alteración en el microambiente estromal medular en donde se asienta (infecciones, tóxicos, infiltraciones neoplásicas) condicionará la aparición de una anemia arregenerativa que se acompaña de disminución del resto de elementos formes de la sangre (López, 2004). La anemia de Fanconi es una anemia arregenerativa, pues en ella se presenta una deficiencia cuantitativa global de la función hematopoyética que lleva a una pancitopenia medular y periférica causada por defectos en las vías de reparación del DNA. Las mutaciones en cualquiera de los genes responsables de éstas vías conducirán a errores en la reparación del DNA e hipersensibilidad a agentes citostáticos.

En el esquema siguiente se puede observar el desarrollo normal de la hematopoyesis, desde las células madre hasta las células maduras que se encuentran en la sangre circulante y otros tejidos, cuando se presentan mutaciones de Fanconi este desarrollo se ve afectado de tal manera que puede llegar a provocar hipoplasia en todas las líneas celulares de la hematopoyesis y por lo tanto, falla medular.



**Figura 3. Esquema de las principales vías de diferenciación en la hematopoyesis humana** (DiJulio, 199)

Las perturbaciones de vías celulares clave, como las vías de señalización, el mantenimiento de los telómeros, la biogénesis de los ribosomas, la apoptosis y la respuesta/reparación del daño al DNA, se han observado en los trastornos de falla medular, lo que permite conocer el papel que desempeñan estos mecanismos en la biología celular normal (Ahmed, 2009). Nos enfocaremos en el mecanismo de daño y

reparación del DNA porque se sabe que la Anemia de Fanconi es ocasionada por defectos en estas vías.

## 2.1 Daño al DNA

El DNA celular está continuamente expuesto a niveles elevados de estrés genotóxico, por lo que constantemente ocurren modificaciones en el material genético de cada una de nuestras células, lo cual indica que la molécula de DNA es constantemente agredida y alterada por distintos factores. Este estrés puede ser causado tanto por agentes ambientales externos como la luz ultravioleta, los compuestos químicos y las radiaciones ionizantes (Callén, 2005), como por diversos procesos metabólicos endógenos, que producen radicales libres de oxígeno (RLO) y nitrógeno (RLN) altamente reactivos, que alteran bases y atacan directamente el DNA (Cardona, 2014).

Los daños en el DNA pueden generar cambios en la expresión de genes, crecimiento celular e incluso tumores.

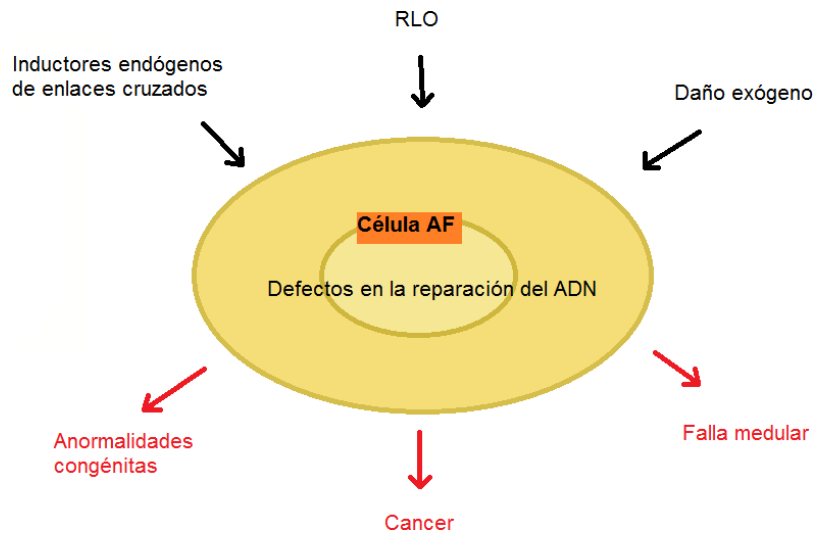
## 2.2 Tipos de lesiones

Existen distintos tipos de lesiones, resultado de la acción de diferentes compuestos o mecanismos sobre el DNA.

- a) Las alquilaciones son un tipo de daño producido como su propio nombre indica, por compuestos químicos alquilantes que sustituyen un grupo alquilo, amino o ceto por un átomo de hidrógeno en compuestos orgánicos, preferiblemente DNA. El principal efecto es el de un incorrecto apareamiento entre las bases o la producción de rupturas espontáneas. Cuando se trata de agentes alquilantes multifuncionales, provocan la aparición de uniones cruzadas entre las dos cadenas de DNA, lo cual impide que se separen correctamente durante la replicación o la transcripción. Algunos ejemplos bien estudiados de agentes alquilantes son el busulfán, la ciclofosfamida y la carmustina.
- b) Una de las principales fuentes de daño en el DNA es la radiación ultravioleta (UV) de la luz solar. El efecto básico que causa la luz UV es la formación de dímeros de timina entre bases adyacentes dando lugar a dímeros de ciclobutano (CPDs) y fotoproductos 6-4 (formados por dímeros pirimidina-pirimidina). Estas lesiones

interfieren en el apareamiento normal de las bases, pueden causar la distorsión de la hélice de DNA, el bloqueo de la replicación y transcripción, huecos en la hebra de DNA e incorporaciones erróneas de bases. Entre las bases modificadas por estos radicales, la 7,8- dihidro-8-oxoguanina (8-oxodG) es la más abundante, provoca un mal apareamiento de bases y posee un conocido papel en mutagénesis y carcinogénesis (Fortini et al., 2003).

- c) Las rupturas de cadena simple (SSBs) del DNA son lesiones que se producen continuamente en nuestras células y aunque se pueden reparar muy eficientemente, si el sistema de reparación falla, durante la replicación se pueden convertir en rupturas de doble cadena, cuyos efectos son mucho más graves. Las principales fuentes causantes de SSBs son las especies reactivas de oxígeno, la propia inestabilidad de la molécula del DNA, la radiación UV y la radiación ionizante. Otra vía de producción de SSBs es mediante el proceso enzimático que se lleva a cabo durante la reparación por escisión de bases (Caldecott et al., 2001).



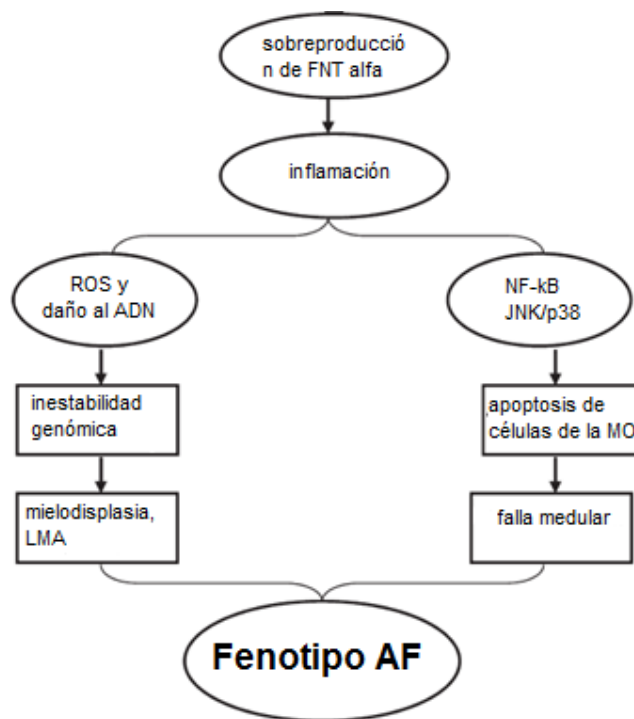
**Figura 4. Patofisiología de la anemia de Fanconi (Kee, 2012)**

El estrés oxidativo es un factor importante en la progresión de la enfermedad. Varios informes indican que las células AF, incluidas las células madre hematopoyéticas (CMH), son hipersensibles al estrés oxidativo.

Se ha sugerido que los RLO podría dañar el DNA y la incapacidad de las células madre progenitoras hematopoyéticas de AF para reparar dicho daño da lugar a una inestabilidad genómica exacerbada que conduce a la apoptosis y la transformación maligna (Du, 2008).

- d) Las rupturas de doble cadena (DSBs) aparecen cuando las dos cadenas de la hélice de DNA se rompen simultáneamente por dos lugares físicamente cercanas. Una corrección deficiente de estas lesiones puede provocar la delección o inserción de material genético, fragmentación cromosómica, translocaciones y pérdidas cromosómicas (Morgan et al., 1998).

La sobreproducción de TNF desempeña un papel no solo en la señal proapoptótica que suprime la actividad progenitora hematopoyética de FA, sino que también promueve la transformación leucémica de las células madre / progenitoras hematopoyéticas de FA, lo que conduce al fenotipo típico de AF (Du, 2008), como se muestra en el siguiente esquema:



**Figura 5. Obtenido del artículo “Oxidative stress in Fanconi anemia hematopoiesis and disease progression. Antioxidants & redox signaling” (Du, 2018)**

- e) Los enlaces cruzados de DNA (ICLs) son lesiones que unen covalentemente dos bases de cadenas complementarias de DNA. Estas lesiones están formadas por químicos con dos grupos reactivos electrofílicos. La formación de los ICLs es

altamente dependiente de la secuencia porque dos grupos nucleofílicos en cadenas opuestas deben ser alineadas geométricamente para permitir al agente bifuncional reaccionar (Clauson, 2013). Esta unión covalente de ambas cadenas impide su separación en procesos tan críticos como la replicación o la transcripción, con lo que los efectos de estas lesiones pueden ser letales si permanecen sin reparar (Datta, 2019).

Se presume que la reparación de enlaces cruzados ocurre por diferentes mecanismos dependiendo de la fase del ciclo celular en que se presente (por ejemplo, si es dentro de la replicación del DNA o fuera de la fase S/G2) (Clauson, 2013). Sin embargo, hay estudios que revelan interacciones entre las proteínas FANC y BLM, al parecer su función en conjunto va más allá del rescate de la fase S del DNA dañado, a la protección de la estabilidad cromosómica durante la mitosis (Naim, 2009). Sin embargo, el papel de las proteínas de Fanconi se puede extender a la fase M, especial en citocinesis; Estudios recientes sugieren que las proteínas Fanconi proveen de un mecanismo para monitorear DNA sin reparar durante la citocinesis (Kee, 2012).

Algunos de los agentes inductores de enlaces cruzados más ampliamente estudiados son la mitomicina C (MMC), el cis-platino, la nitrosourea y el diepoxibutano (DEB). Los ICLs son sólo una parte de los efectos de estos agentes (aunque son los más tóxicos), la mayoría de los cuales producen otros aductos en el DNA como producto de su metabolismo intracelular (Pristos et al., 1986). Nos enfocaremos en estas lesiones ya que las células de los pacientes con AF son extremadamente sensibles a éstas lesiones.

La anemia de Fanconi representa un excelente modelo de enfermedad para estudiar la respuesta al estrés oxidativo en células madre / progenitoras hematopoyéticas. Dado que la falla medular y la leucemia rara vez se encuentran en otros síndromes de inestabilidad genómica conocidos (Du, 2008).

## 2.3 Mecanismos de reparación del DNA

Como mecanismo de defensa frente a los ataques externos o de naturaleza endógena, el organismo hace uso de un número de rutas que previenen los errores que se hayan podido originar durante las funciones celulares básicas, reparan las lesiones producidas en nuestro material genético o minimizan el efecto de las mismas. Las anomalías en estos



procesos están asociadas al desarrollo tumoral y el envejecimiento y pueden ser responsables de distintos síndromes de mayor o menor gravedad.

De esta manera, cerca de 105 lesiones espontáneas por día son inducidas en nuestros genes, en donde los mecanismos de reparación detectan daños y perturbaciones durante el crecimiento y división celular. Esto es posible gracias a las funciones específicas de reconocimiento, corrección o eliminación de daños que asegura la integridad del genoma

(Cardona, 2014).

Los mecanismos conocidos de reparación de DNA se mencionan a continuación.

### **2.3.1 Reparación de apareamientos erróneos (MMR)**

La principal función de este sistema es corregir los apareamientos erróneos entre bases que no mantengan el acoplamiento normal establecido por Watson y Crick. A través del MMR se eliminan nucleótidos no dañados pero que están mal apareados y se corrigen estructuras secundarias del DNA tales como pequeños bucles y regiones no apareadas, consecuencia del deslizamiento de la polimerasa durante la síntesis de DNA.

El reconocimiento de las bases erróneas y las regiones de DNA con pérdidas o inserciones es realizado por un complejo llamado MutS $\alpha$ , posteriormente un dímero (MSH2-MSH6), se une al sitio del apareamiento erróneo y el complejo MutL (MLH1 PMS2) en presencia de ATP reconoce la secuencia de DNA hemimetilado generando un rompimiento de la cadena (endonucleasa). El segmento lesionado es removido por la helicasa y la exonucleasa retira la secuencia errónea, de esta forma la polimerasa resintetiza y la ligasa restaura los enlaces fosfodiéster (Cardona, 2019).

### **2.3.2 Reparación por escisión de bases (BER)**

La reparación BER es un mecanismo ubicuo que elimina del genoma las bases erróneas o dañadas a causa de reacciones químicas espontáneas, de la acción de especies reactivas de oxígeno y numerosos agentes genotóxicos ambientales. En resumen, el sistema BER se da en diversas etapas: escisión de la base dañada por parte de una glicosilasa, a continuación una endonucleasa crea una incisión en el esqueleto de DNA en el sitio abásico (o sitio AP), se elimina este fragmento abásico, se lleva a cabo la síntesis

de DNA para rellenar el hueco originado y, finalmente, se produce la ligación de la cadena

(Fortini, 2003).

### 2.3.3 Reparación por escisión de nucleótidos (NER)

Estas lesiones incluyen principalmente los fotoproductos inducidos por la luz UV y los aductos derivados de productos químicos inductores de enlaces cruzados (McHugh, et al., 2001).

Un rasgo esencial de la ruta de reparación NER es que actúa de manera distinta en las diferentes partes del genoma: la reparación de los genes que se están transcribiendo activamente ocurre de manera preferente frente a aquellos que permanecen inactivos

(Balajee et al., 2000).

Los pasos de los que consta NER son el reconocimiento de la lesión, incisión a ambos lados del daño, degradación de la cadena dañada por parte de una endonucleasa seguido de la eliminación del fragmento lesionado por una exonucleasa, polimerización de la nueva cadena y ligación del fragmento recién sintetizado (Volker et al., 2001).

### 2.3.4 Fotorreactivación

Los efectos mutagénicos generados por la radiación UV son invertidos por un proceso llamado fotorreactivación, catalizado por una fotoliasa, que posee dos cromóforos que captan un fotón, cuya energía es utilizada para revertir el dímero, es decir quiebra el enlace covalente entre las pirimidinas reparando el daño en el DNA (Cardona, 2014).

### 2.3.5 Desmetilación oxidativa

Este tipo de reparación remueve daños por metilaciones en el DNA que pueden ser citotóxicas y con frecuencia presentan acción mutagénica, causada por compuestos nocivos que se producen de forma endógena como estrés oxidativo, inflamación, peroxidación de lípidos, infecciones y otros procesos metabólicos naturales como la alteración de la microbiota intestinal.

### 2.3.6 Recombinación homóloga

La recombinación homóloga (HR) es un sistema de reparación muy preciso, conservado evolutivamente y que, al contrario de lo que ocurre en mamíferos, en levaduras se da de manera preferente frente a otros sistemas. Precisa de una segunda copia de DNA idéntica que actúe como molde para restaurar la información genética perdida en la cadena dañada. La HR engloba distintos mecanismos de actuación, los cuales comparten el primer paso del proceso consistente en la erosión de los extremos de la doble ruptura a cargo de exonucleasas 5'→3' para producir un extremo de cadena sencilla en 3'. De entre todos ellos, el más común es la conversión génica. Aparte de su papel en la reparación de rupturas de doble cadena, la HR también desempeña un papel importante durante la replicación, en la reparación de algunos de los errores que pudieran surgir de este proceso, cuando la horquilla de replicación encuentra un SSB que no ha sido reparado, o en la generación de diversidad genética y en la segregación cromosómica durante la meiosis (Haber, 1999).

Dentro de este proceso intervienen otras proteínas exclusivas de eucariotas superiores como son BRCA1 y BRCA2 (Pellegrini, 2002).

Brevemente, las etapas de las que consta son las siguientes: un primer paso en el que la actividad exonucleasa 5'-3' del complejo MRN degrada los extremos del DSB para dejar expuestos los extremos 3' en forma de simple cadena. A continuación, RPA y RAD52 facilitan la formación de un filamento nucleoprotéico de RAD51 (cuya translocación nuclear depende de BRCA2) en el que también pueden estar incluidos algunos de sus parálogos. Con ayuda de RAD54, este filamento de cadena simple invade la hélice homóloga que servirá como molde para la correcta re-síntesis del fragmento dañado.

Finalmente, se forma una estructura de cadenas entrecruzadas conocida como el intermediario de Holliday que corta y liga el proceso de reparación de forma adecuada, evitando rearreglos cromosómicos.

### **2.3.7 Unión de extremos no homólogos (NHEJ)**

El proceso de NHEJ (Non Homologous End Joining) en organismos superiores se da por extremos no homólogos, este tipo de reparación permite la unión de cadenas por sus extremos, y no necesita de secuencia complementaria u homóloga para su unión. El sitio de corte es reconocido por un complejo heterodímero de dos proteínas KU70 y KU80, que

protegen el DNA de la acción de exonucleasa y mantienen unidas las cadenas, pero es propenso a errores (Cardona, 2014).

### 2.3.8 Vía Fanconi

Las proteínas de Fanconi son multifuncionales y participan directamente en vías bioquímicas de señalización, que convergen en una respuesta protectora para la célula, disminuyendo el daño causado por la presencia de aldehídos endógenos, estrés oxidativo, inflamación, mitofagia y virofagia (Bagby, 2018). Las proteínas que pertenecen a la vía de Fanconi se han nombrado con el prefijo FANC seguido de las letras: FANCA, FANCB, FANCC, FANCD1, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCJ, FANCL, FANCN, FANCP, FANCO, y FANCT de acuerdo a el lugar que ocupan en el complejo de Fanconi (Datta, 2019).

Las proteínas de la vía Fanconi son altamente conservadas solo en vertebrados, por lo cual el progreso al establecer sus funciones bioquímicas había sido lento, hasta hace poco. Sin embargo, mediante análisis genéticos comparativos se ha identificado un ortólogo de cada uno de los 19 genes Fanconi en otros vertebrados (Titus, 2006).

Investigaciones en varios laboratorios sugieren que la reparación de los ICLs en levaduras es probablemente un proceso más complejo, con un número mayor de proteínas de una lista más amplia de vías de reparación clásica involucradas (Datta, 2019).

## 2.4 Vía de reparación Fanconi

Cuando la horquilla de replicación se encuentra con una estructura inusual en el DNA, se detiene su progresión. Estas pueden surgir cuando las células son expuestas a un inhibidor de la DNA polimerasa o la activación de un oncogen por ejemplo. En estas situaciones, ciertas proteínas son reclutadas al sitio para responder al estrés celular. Los ICLs que son enlaces cruzados covalentes en el DNA necesitan ser removidos durante todas las fases del ciclo celular mediante una serie de pasos, que involucran interacción de diferentes vías de reparación del DNA. Tal vez la gran cantidad de estructuras de DNA y errores que pueden aparecer en él ayude a explicar la redundancia de factores involucrado en la replicación de protección del DNA.

Hay aproximadamente 23 genes descubiertos hasta ahora que codifican para las proteínas de la vía de Fanconi y sus proteínas asociadas. Al conjunto de estas proteínas se les conoce como el complejo Fanconi (CF) (Tan, 2017).

La activación de las proteínas FANCL, inicia con FANCM y sus proteínas asociadas, que son capaces de detectar fallas en la replicación de DNA, lo que resulta en el reclutamiento del resto del CF (FANCA, -B, -C, -E, -F, -G -L y proteínas asociadas al CF). La mayoría de las proteínas de este complejo nuclear no tienen actividad enzimática, más bien funcionan como un “andamio”. El complejo nuclear está compuesto por tres subcomplejos:

- ✚ FANCL, FANCB, y FAAP100 (proteína de 100 kDa asociada a la vía fanconi)
- ✚ FANCA, FANCG y FAAP20 proteína de 20 kDa asociada la vía Fanconi)
- ✚ FANCC, FANCE, y FANCF

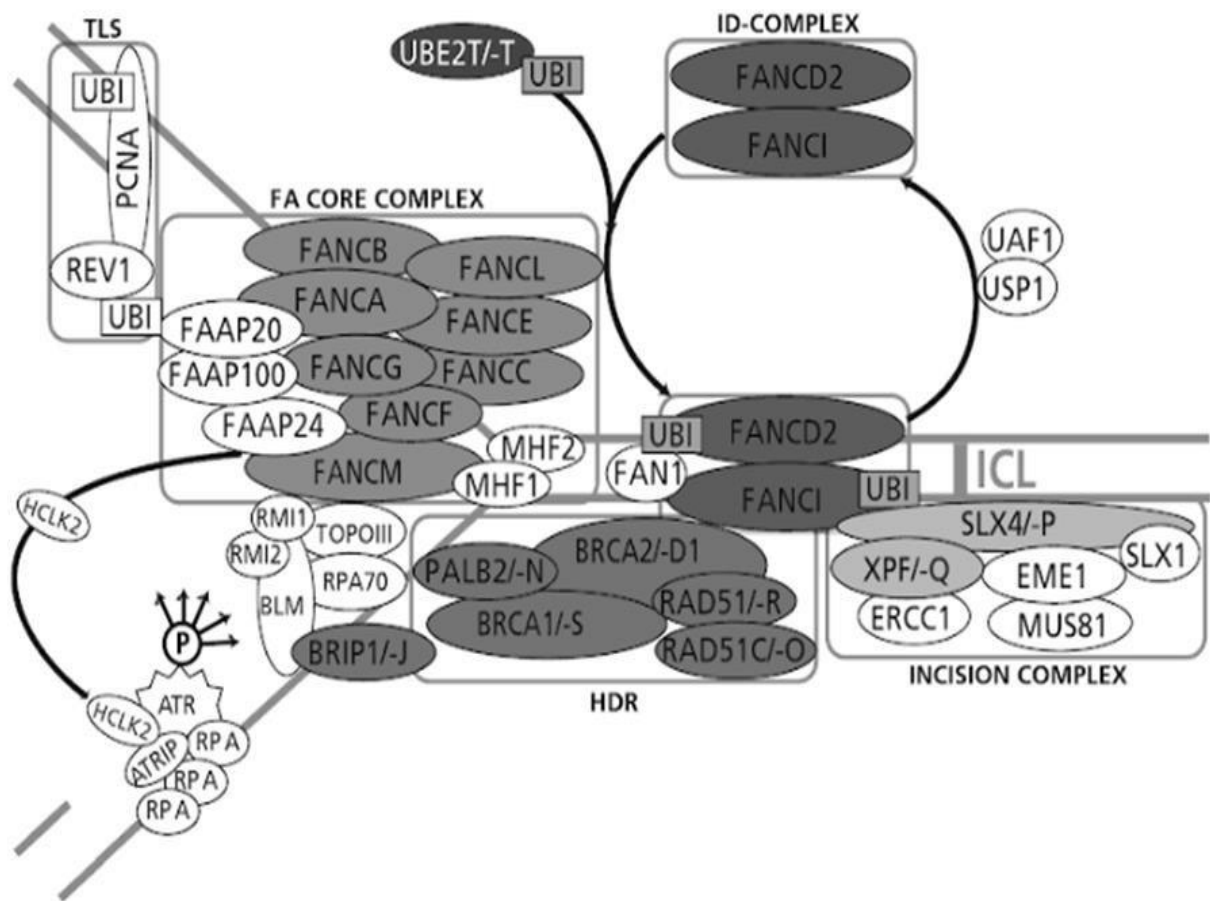
(Longerich, 2014)

El complejo nuclear actúa como una ligasa E3, que activa a FANCD2 y FANCI mediante la ubiquitinación en ambas proteínas, lo que conlleva a la progresión de la horquilla de replicación hacia la lesión en el DNA y su reparación, involucrando a la proteína SLX4 (FANCP) una proteína de andamiaje, a ERCC4 (FANCO) una nucleasa, a proteínas de síntesis de translesión como MAD2L2 (FANCV), y a la maquinaria de reparación homóloga (BRCA2 (FANCD1), PALB2 (-N), RAD51C (-O), RAD51 (-R), BRCA1 (-S), y XRCC2 (-U). (Erickson, 2016). Varios de los eventos en esa cascada de señales parecen ser independientes del complejo nuclear. El último gen conocido es RFWF3, quien codifica para la transcripción de la ubiquitina ligasa E3, la cual se ha relacionado recientemente con la reparación del daño a DNA mediante recombinación homóloga (HR)

(Knies, 2017).

Los genes AF también toman parte en otros mecanismos de reparación por escisión y translesión. (Mamrak, 2017) Por ejemplo, otra función del complejo FANCD2/ FANCI es el reclutamiento de FANCD1 (BRCA2), FANCN y FANCO (RAD51 C), las cuales regulan la actividad de RAD51, enzima clave para la reparación de la ruptura de doble hebra por recombinación homóloga; FANCO que codifica XPF, es una endonucleasa esencial para la reparación por escisión de nucleótidos. FAAP20 interactúa con la polimerasa de translesión REV1 (Clouston, 2013).

La vía Fanconi opera principalmente en la fase S del ciclo celular para reparar el daño al DNA que detiene la progresión de la horquilla de replicación; es particularmente esencial para la remoción de los ICLs. Una vez detenida la horquilla de replicación, la cinasa ATR de respuesta a estrés es activada a través de la acumulación de una hebra de DNA vía FANCM/FAAP24, la cual interactúa con la proteína HCLK2 para aumentar la activación de ATR. La actividad de ATR es probablemente activar el ensamblaje del complejo nuclear CF. FANCM funciona como una plataforma de aterrizaje asociada a la cromatina y que inicia el complejo ID. FANCM también forma una estrecha asociación con el complejo proteico de Bloom (Las mutaciones causantes del síndrome de Bloom deshabilitan la actividad de las helicasas de 3' → 5'. Las proteínas de estos genes normalmente regulan la actividad correcta de la recombinación homóloga), la cual se ha relacionado con la vía Fanconi, por lo que puede ser importante para la resolución de las uniones de Holliday (estructura típica con forma de X, que se forma en la transición entre el homodúplex y el heterodúplex durante la reparación de DSB basados en recombinación homóloga (Helleday et al., 2007) planteándose *downstream* en la reparación de los ICLs.

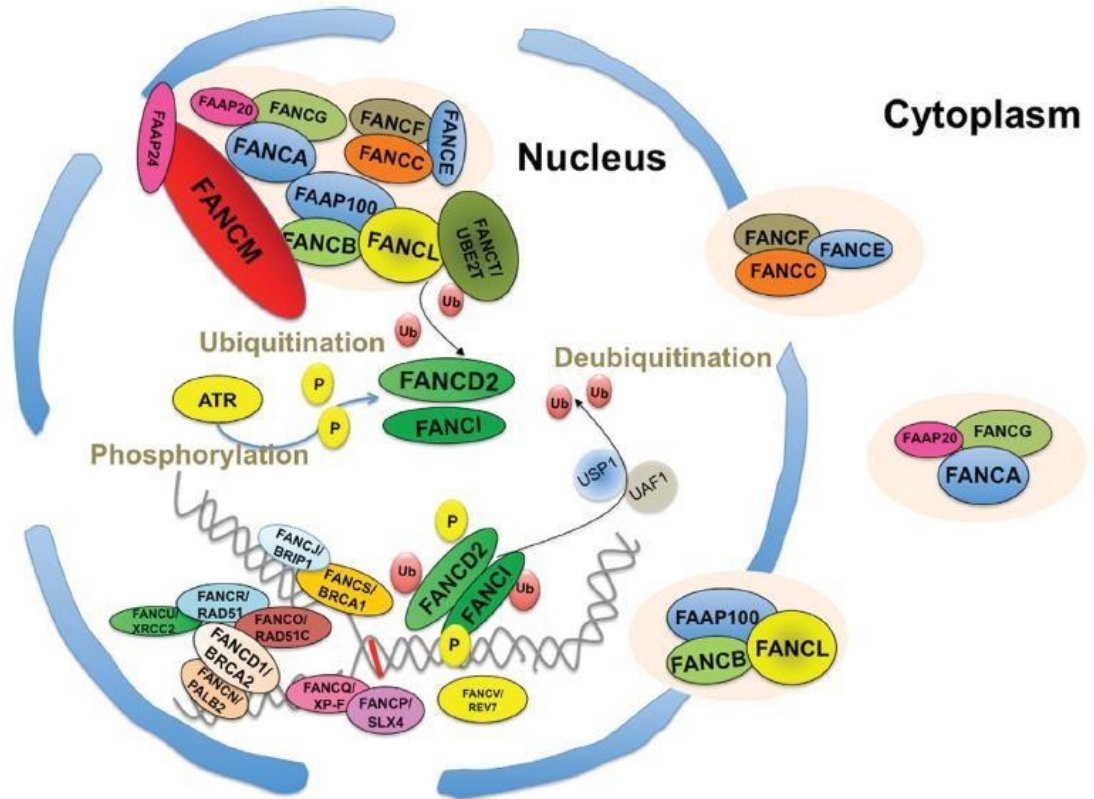


**Figura 6. Complejo Fanconi para el mantenimiento genómico** (Erickson, 2016).

El ensamblaje de todas las subunidades del complejo nuclear CF es esencial para activar la ubiquitina E3 ligasa UBE2T. FANCL transfiere residuos individuales de ubiquitina de UBE2T a los dos miembros del complejo ID. El complejo ID (FANCI-FANCD2) es activado por el daño al DNA inducido, fosforilación y monoubiquitinación (Joo, 2011) El mapa de densidad electrónica de los cristales de FANCI-DNA y los datos in vitro muestran que cada proteína tiene sitios de unión para el DNA de cadena simple y doble, sugiriendo que el complejo ID reconoce estructuras de DNA que resultan en el encuentro con la horquilla de replicación con un enlace cruzado (Joo, 2011).

Además, el residuo de ubiquitina en FANCD2 puede interactuar con los dominios de unión de la endonucleasa FAN1 y la proteína de andamio del complejo de incisión FANCP/SLX4. La actividad de las endonucleasas resulta en el “desenganche” del ICL, lo

cual permite a la síntesis de translesión (TLS) superar la lesión del DNA. Las polimerasas TLS son esenciales para la reparación de ICLs en las fases S/G2 y G1 del ciclo celular (Clauson, 2013).



**Figura 7. Representación esquemática de la distribución subcelular de las proteínas de Fanconi, su asociación y relocalización en el núcleo (Gueiderikh, 2017)**

La reparación de la ruptura, ocurre por reparación homóloga, mientras que el relleno de huecos en el DNA que contiene la lesión requiere TLS (síntesis de translesión), siendo catalizado por una DNA polimerasa especializada (Long, 2011). Varias polimerasas de TLS han sido implicadas, incluso para la reparación de ICL dependientes de replicación, la más importante parece ser el complejo REV1-Polz. En la reparación de ICLs, un mecanismo que se basa en la interacción de REV1 con FAAP20, un miembro del complejo nuclear de AF, se piensa que está ahí para mediar el reclutamiento de REV1- Polz (Sharma, 2011). Dando evidencia de cómo la TLS es reclutada al sitio del daño.



La actividad de juntar las uniones finales no homólogas es requerida para el mantenimiento de las células madre hematopoyéticas fetales (Nie, 2019).

Después de la omisión de la replicación, la lesión resultante en la hebra de DNA será removida con reparación por escisión de nucleótidos o por escisión de bases. En la horquilla de replicación, puede resultar la formación de una ruptura de doble cadena, es entonces cuando entra la reparación por recombinación homóloga para corregir este error y para reiniciar la replicación.

La reparación de esta lesión de doble cadena de DNA lleva a la resercción para crear un extremo 3' suelto capaz de invadir y capturar la información de la secuencia de la plantilla de la hebra rezagada. Para completar la vía de Fanconi es esencial que el complejo ID sea desactivado por la enzima deubiquitinizante USP1/UAF1, para regresar la vía FA/BRCA a su estado original. En términos generales, la reparación de los ICLs ocurre a través de la escisión secuencial de una hebra, y después la otra. Esto previene que se generen múltiples rupturas de doble cadena (Clauson, 2013 y Erickson, 2016).

El actual modelo sugiere que las funciones de FANCM están relacionadas con la detección del estancamiento o detención de la replicación formando un “andamio” sobre el cual el complejo BLM (Helicasa de DNA importante para la disolución de uniones de Holliday) y el complejo nuclear Fanconi que contiene FANCA, B, C, E, F, G y L se unen para estabilizar la horquilla de replicación y promover la reparación del DNA (Erickson, 2016).

La pérdida de la función de los genes de reparación caracteriza a un grupo de enfermedades de predisposición al cáncer que presentan hipersensibilidad celular al daño del DNA y la fragilidad de los cromosomas; Este grupo incluye anemia de Fanconi y síndrome de Bloom (Naim, 2009).

Para ser más específicos, la vía Fanconi, se desarrolla cronológicamente como se resume a continuación en la figura 8.

1. Algunos agentes endógenos, ambientales y quimioterapéuticos infligen daño al DNA formando aductos entre las hebras de DNA creando entrecruzamientos

2. Dos horquillas de replicación convergen en las hebras unidas covalentemente en el entrecruzamiento (ICL). La maquinaria de replicación encuentra la lesión de DNA en la bifurcación que lleva a la horquilla de replicación.
3. El complejo AF detecta la horquilla de replicación estancada, se ensambla a la lesión del DNA e inicia una respuesta en ese *checkpoint* activando ATR, el cual torna en fosforilatos múltiples proteínas FA. Esto desencadena la actividad de ubiquitina ligasa de FANCL resultando en la monoubiquitinación de FANCD2 y FANCI.
4. El complejo heterodimérico FANCD2-FANCI es reclutado por el sitio del ICL. Esto promueve el reclutamiento corriente abajo de las nucleasas, en particular endonucleasas específicas de estructura como XLX4 (FANCP), ERCC1-XPF, FAN1 y MUS81-EME1 para coordinar incisiones nucleolíticas con la finalidad de flanquear el ICL. Las incisiones desenganchan el ICL dejando los nucleótidos entrecruzados atados a la hebra complementaria. FAAP20 interactúa con el complejo AF y se une a el REV1 monoubiquitinado.
5. Esto cataliza el bypass de lesión dependiente de TLS a través del aducto, mediado por TLS polimerasas especializadas tales como REV1 y Pol $\zeta$ . Esto restaura la integridad de la hebra de la plantilla requerida para la progresión de la hebra principal naciente.
6. El DSB generado después de las incisiones nucleolíticas sirve como sustrato adecuado para la reparación por la ruta de RH. Las proteínas AF corriente abajo promueven la invasión de la cadena dependiente de RAD51 formando el filamento sináptico. Se forman migración de rama e intermedios que contienen uniones Holliday.
7. La unión doble resultante de Holliday se resuelve mediante nucleasas específicas de HR, finalmente se completa la reparación de HR y se restablece la integridad del DNA.

(Bhattacharjee, 2018)

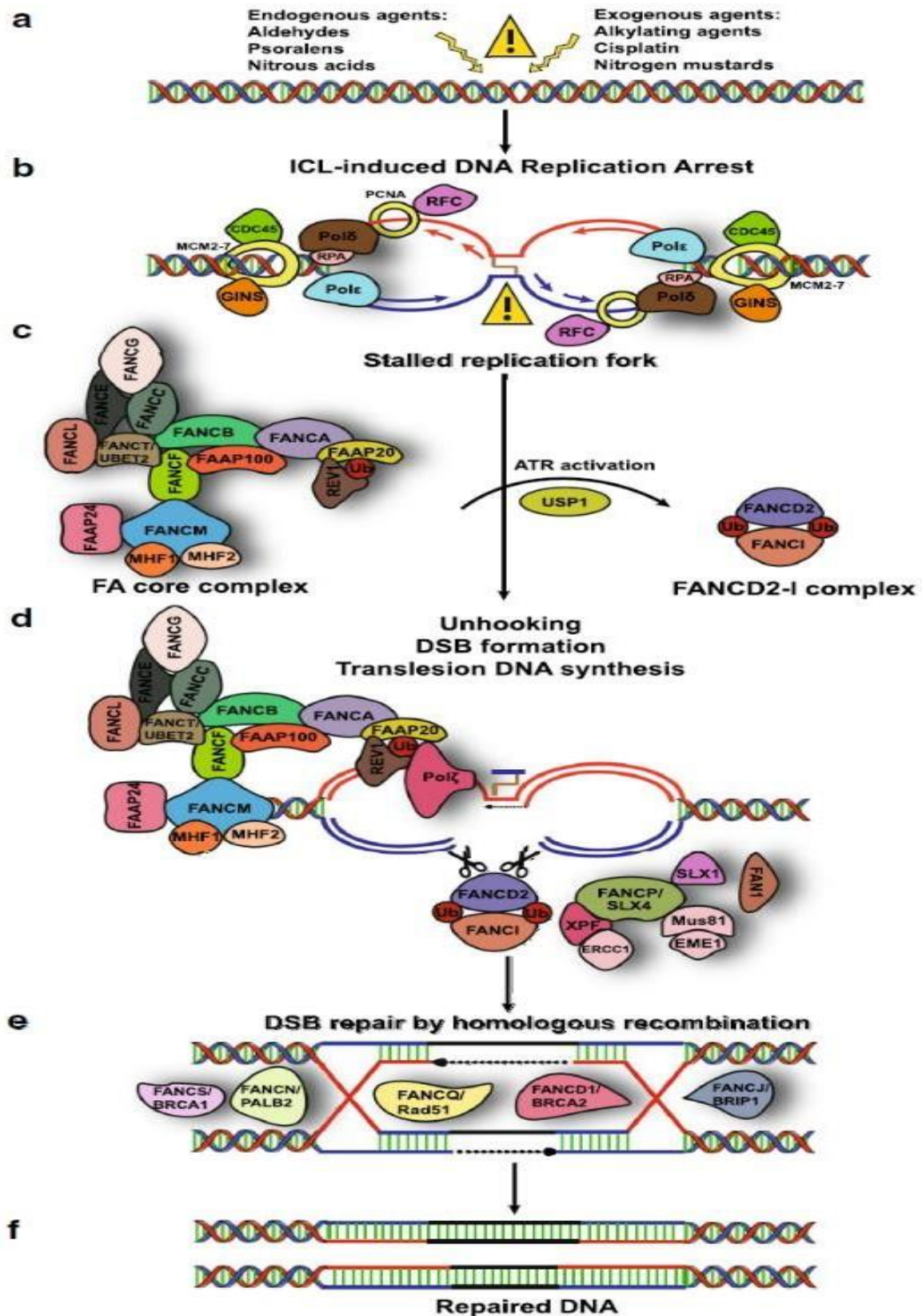


Figura 8. Un modelo de la reparación de los enlaces cruzados de DNA (ICL).

El desenganche de ICL en una horquilla de replicación bloqueada da como resultado una ruptura de doble cadena en una cromátida y un espacio de una sola hebra que alberga el aducto de ICL en la otra.

Debido a que los pacientes con anemia de Fanconi desarrollan defectos cromosómicos aún sin estar expuestos a agentes externos que inducen ICLs se ha decidido poner atención a los agentes que producen ICLs dentro del cuerpo naturalmente, por ejemplo el acetaldehído y formaldehído así como a las enzimas que les metabolizan naturalmente reduciendo su actividad genotóxica, por lo que las personas con estas variantes que consumen alcohol tienen un elevado riesgo de cáncer rectal y esofágico. El metabolismo lipídico y la peroxidación producen aldehídos, como el 4-hidroxinonenal (4HNE) y malondialdehído (MDA). El nivel de aldehídos endógenos es importante para la patogénesis de AF (Sakai, 2019).

Modelos de ratones que tienen deficiencias en los genes FANC, pero tienen telómeros normales no producen el fenotipo completamente lo que sugiere que los telómeros acortados en pacientes con AF son responsables en buena parte de la patogenia de la AF (Blasco, 2005).

#### **2.4.1 Mutaciones en las proteínas FANC que conllevan a la fragilidad cromosómica**

Cuando alguna de las proteínas del CF presenta alguna mutación que le impide realizar la reparación de DNA, los entrecruzamientos del material genético no pueden ser identificados y reparados, afectando principalmente la proliferación de células hematopoyéticas (Mehta, 2015). En la anemia de Fanconi el proceso entero de señalización, activación en el punto de daño y replicación puede llevar varias horas en completarse.

Aunque la AF es un trastorno genético complejo con muchos genes involucrados y una gran variedad de fenotipos celulares y características clínicas, la causa subyacente gira alrededor de defectos moleculares que contribuyen a una respuesta anómala al daño del DNA y a su reparación, por ejemplo, para el ensamblaje de todas las proteínas del complejo central de CF en una ubiquitina multimérica de la ligasa E3 que es requerida para la transferencia (mediada por FANCL) de cada ubiquitina, por la ligasa UBE2T al complejo ID, por lo tanto el contraste de las mutaciones en los genes de complejo nuclear

de AF es la ausencia de FANCD2 y FANCI monoubiquitinadas (Bogliolo, 2015). La ausencia de las proteínas FANCD2 y FANCI se ha asociado con un mayor incremento de inestabilidad cromosómica y células binucleadas (Kee, 2012). FANCI es una proteína AF que interactúa con proteínas que funcionan en la biogénesis de los ribosomas, es decir, la síntesis de ribosomas en la célula. Además, FANCI localiza en el nucléolo (el compartimento celular donde inicia la biogénesis de los ribosomas) y funciona en la transcripción y procesamiento del RNA pre-ribosomal (pre-rRNA). Interesantemente, los defectos en la biogénesis del ribosoma son la otra razón por la que ocurren síndromes de falla medular

(Sondalle, 2019).

En casos muy raros se han encontrado anomalías cromosómicas y alteraciones (mutaciones) en los genes FGF8, HOXD13, ZIC3, PTEN, FANCB, FOXF1 y TRAP1 y en el DNA mitocondrial (Shaw, 2006).

Si bien la evidencia sugiere que las ICLs son las principales culpables, existen otros factores que impulsan el estrés de replicación y la inestabilidad genómica en AF (Datta, 2019). Cerca del 98% de los casos son autosómicos recesivos, mientras que del 1 al 2% de quienes poseen mutaciones en el gen FANCB es heredado, asociado al cromosoma X

(Siddiqui, 2019).

A la fecha, las mutaciones en 21 genes se han asociado a Anemia de Fanconi o a un fenotipo celular similar a la Anemia de Fanconi, cuyas características propias son; la falla medular, predisposición a leucemia mieloide aguda e hipersensibilidad cromosómica a los agentes que producen enlaces cruzados (ICLs) (Gueiderikh, 2017).

A continuación en la tabla 2 se muestran los genes FANC humanos conocidos hasta ahora y sus características.

Gen (NCBI gen ID)	Nombre del gen	FANC símbolo	Símbolos sinónimos del gen	Localización	Tamaño de proteína (aa)
<b>FANCA(2175)</b>	Fanconi anemia complementation group A	<i>FANCA</i>	<i>FA, FA-H, FA1, FAA, FACA, FAH, FANCH</i>	16q24.3	1,455
<b>FANCB(2187)</b>	Fanconi anemia complementation group B	<i>FANCB</i>	<i>FA2, FAAP90, FAAP95, FAB, FACB</i>	Xp22.31	859
<b>FANCC(2176)</b>	Fanconi anemia complementation group C	<i>FANCC</i>	<i>RP11-80115.2, FA3, FAC, FACC</i>	9q22.3	558
<b>BRCA2(675)</b>	Breast cancer 2	<i>FANCD1</i>	<i>RP11-298P3.4, BRCC2, BROVCA2, FACD, FAD, FAD1, FANCD, GLM3, PNCA2, XRCC11</i>	13q12.13	3,418
<b>FANCD2(2177)</b>	Fanconi anemia complementation group D2	<i>FANCD2</i>	<i>FA-D2, FA4, FACD, FAD, FAD2, FANCD</i>	3p25.3	1,451
<b>FANCE(2178)</b>	Fanconi anemia complementation group E	<i>FANCE</i>	<i>FACE, FAE</i>	6p21.22	536
<b>FANCI(55215)</b>	Fanconi anemia complementation group I	<i>FANCI</i>	<i>KIAA1794</i>	15q26.1	1,328

Gen (NCBI gen ID)	Nombre del gen	FANC símbolo	Símbolos sinónimos del gen	Localización	Tamaño de proteína (aa)
<b>FANCL(55120)</b>	Fanconi anemia complementation group L	<i>FANCL</i>	<i>FAAP43, PHF9, POG</i>	2p16.1	380
<b>FANCM(57697)</b>	Fanconi anemia complementation group M	<i>FANCM</i>	<i>FAAP250, KIAA1596</i>	14q21.3	2,048
<b>PALB2(79728)</b>	Partner and localizer of BRCA2	<i>FANCN</i>	<i>PNCA3</i>	16p12	1,186
<b>RAD51C(5889)</b>	RAD51 paralog C	<i>FANCO</i>	<i>ROVCA3, R51H3, RAD51L2</i>	17q23	376
<b>SLX4(84464)</b>	SLX4 structure-specific endonuclease subunit	<i>FANCP</i>	<i>BTBD12, MUS312</i>	16p13.3	1,834
<b>ERCC4(2072)</b>	Excision repair cross-complementation group 4	<i>FANCQ</i>	<i>RAD1, XPF, ERCC11</i>	16p13.1 2	916

Gen (NCBI gen ID)	Nombre del gen	FANC símbolo	Símbolos sinónimos del gen	Localización
<b>BRCA1(672)</b>	Breast cancer 1	<i>FANCS</i>	<i>BRCA1, BRCC1, BROVCA1, IRIS, PNCA4, PPP1R53, PSCP, RNF53</i>	17q21.31
<b>UBE2T(29089)</b>	Ubiquitin- conjugating enzyme E2T	<i>FANCT</i>	<i>HSPC150</i>	1q32.1 197

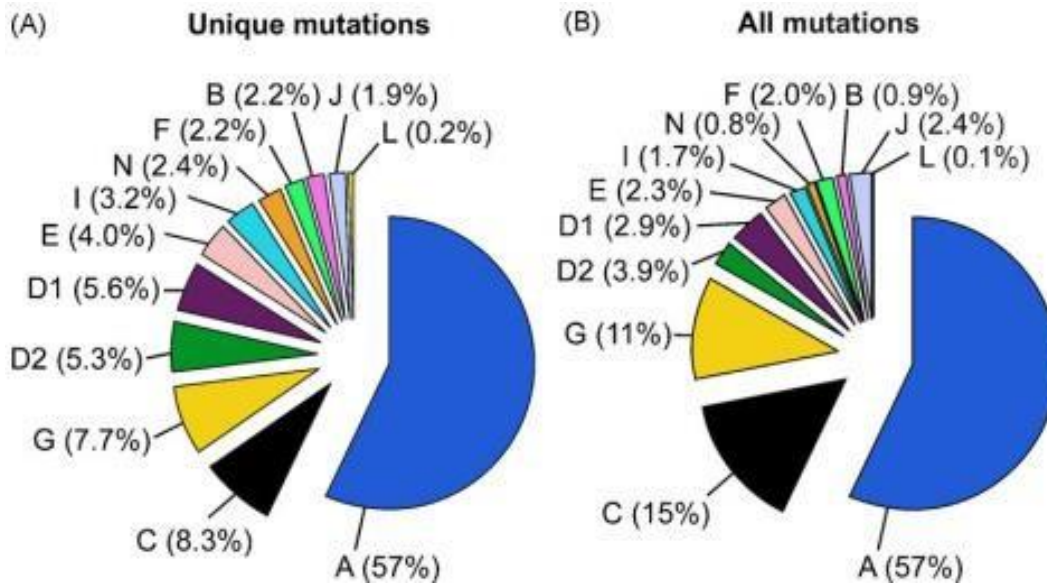
**Tabla 2. Genes humanos FANC** (Dong, 2015)

Otros componentes intrínsecos del complejo nuclear Fanconi son proteínas asociadas a la AF (FAAP) FAAP10/MHF2, FAAP16/MFH1, FAAP20, FAAP24, y FAAP100, las cuales podrían representar nuevos grupos proteínas involucradas con la anemia de Fanconi, a pesar, de que ningún paciente ha sido identificado hasta ahora con mutaciones en los genes correspondientes.

Componentes proteicos de diferentes mecanismos de reparación son importantes para una respuesta robusta que inducen enlaces cruzados. Interacciones físicas de proteínas de reparación con los genes FANCD2, BRCA1, FANCI, y SLX4 (FANCP) han sido reportadas. Junto con proteínas de otras vías de reparación, estos factores son componentes integrales de un complejo (BASC) que se cree es actúa como un sensor crucial para el daño en el DNA.

Para FA-A como el grupo de complementación más grande, los porcentajes de ambos (pacientes y mutaciones FANCA) ascienden a 57% con una proporción de 1, lo que indica una representación igual de mutaciones privadas y recurrentes. Para los siguientes grupos de complementación más frecuentes (FA-C y FA-G), la proporción de mutaciones únicas frente a totales es <1 debido a la prevalencia relativa de mutaciones recurrentes en FANCC y FANCG. En contraste, muchos de los subtipos de AF poco frecuentes revelan relaciones cercanas a 2: 1 para mutaciones únicas frente a totales, lo que sugiere muchas variantes de secuencias patógenas diferentes pero raras (Neveling, 2009).





**Figura 9. Distribuciones de frecuencia de mutaciones únicas (A) frente a mutaciones totales (B) del gen FA. Los gráficos circulares que representan porcentajes se derivan de la lista de 622 mutaciones únicas sin información del paciente, y de las mutaciones de 1968, incluidos varios informes de pacientes en la base de datos de mutaciones de anemia de Rockefeller Fanconi (Neveling, 2009).**

En 1998 Naf y col. llevaron a cabo una investigación que relacionó la localización de las proteínas FANCA con la patogenicidad, ellos descubrieron que todas las variantes de las proteínas FANCA que mostraron ser patogénicas residen en el citoplasma y, a la inversa, aquellas categorizadas como no patogénicas se localizan en el núcleo. Esto se debe a que la localización en el núcleo de la proteína FANCA es necesaria para llevar a cabo su función, si estas se encuentran en el citoplasma pierden su actividad. Además, las formas mutantes de FANCA evitan la acumulación en el núcleo de dicha proteína, evitando el reclutamiento del resto de las proteínas FANCA requeridas para la reparación del DNA. Por lo tanto, corregir la localización subcelular alterada de las proteínas FANCA puede ser un blanco terapéutico (Kimble, 2018). Se sabe que ninguna de las formas de FANCA mutadas conserva la capacidad de entrar o de permanecer en el núcleo de una forma similar a la proteína de tipo salvaje (WT).

Sólo 15 genes han sido clasificados *bona fide* (de buena fé) como genes AF (FANCA, B, C, D1, D2, E, F, G, I, J, L, N, P, Q y T) FANCO, FANCR y FANCS son genes similares a los de la AF, porque causan el síndrome de fragilidad cromosómica y malformaciones relacionadas a AF pero sin falla medular (Bogliolo, 2015).

Gen	Grupo de complementación	% de pacientes con AF atribuidas a la variante patogénica del gen
<b>BRCA2</b>	FA-D1	~3%
<b>BRIP1</b>	FA-J	~2%
<b>FANCA</b>	FA-A	60%-70%
<b>FANCB</b>	FA-B	~2%
<b>FANCC</b>	FA-C	~14%
<b>FANCD2</b>	FA-D2	~3%
<b>FANCE</b>	FA-E	~3%
<b>FANCF</b>	FA-F	~2%
<b>FANCG</b>	FA-G	~10%
<b>FANCI</b>	FA-I	~1%

Variantes patogénicas de cualquiera de los genes incluidos en esta tabla son >1% de los pacientes AF (Mehta, 2018).

**Tabla 3. Causas genéticas más comunes**

Gen	Grupo de complementación	Referencia
<b>ERCC4</b>	FA-Q	2 individuals w/FA & biallelic <i>ERCC4</i> pathogenic variants reported [Bogliolo et al 2013]; functional studies of <i>ERCC4</i> missense variants reported by Osorio et al [2013].
<b>FANCL</b>	FA-L	13 <i>FANCL</i> pathogenic variants reported [Chandrasekharappa et al 2013, Nicchia et al 2015, Vetro et al 2015]

<b>FANCM</b>	FA-M	Assignment of a formal complementation group for persons w/ <i>FANCM</i> pathogenic variants still controversial as only 1 reference family/cell line has been identified & that cell line has been determined to have biallelic pathogenic variants in both <i>FANCA</i> & <i>FANCM</i> . Of note, under experimental conditions specific knockdown of <i>FANCM</i> alone results in an FA phenotype [Singh et al 2009]
<b>MAD2L2</b>	FA-V	1 individual w/homozygous pathogenic variants reported [Bluteau et al 2016]
<b>PALB2</b>	FA-N	14 <i>PALB2</i> pathogenic variants reported including a deletion of exons 1-10 [Reid et al 2007, Xia et al 2007, Byrd et al 2016]
<b>RAD51</b>	FA-R	2 individuals w/features of FA & a <i>de novo</i> <i>RAD51</i> pathogenic variant reported [Ameziane et al 2015, Wang et al 2015]
<b>RAD51C</b>	FA-O	Assignment of a formal complementation group for persons w/ <i>RAD51C</i> pathogenic variants still controversial as only 1 reference consanguineous family identified [Vaz et al 2010]
<b>RFWD3</b>	FA-W	One individual with features of FA & compound heterozygous pathogenic variants in <i>RFWD3</i> reported [Knies et al 2017]
<b>SLX4</b>	FA-P	Assignment of a formal complementation group for persons with <i>SLX4</i> pathogenic variants still controversial as only a handful of reference families have been identified & <i>SLX4</i> biology falls outside previously characterized FA proteins [Kim et al 2011, Stoepker et al 2011]
<b>UBE2T</b>	FA-T	1 individual w/biallelic <i>UBE2T</i> pathogenic variants including a large paternal deletion & a maternal duplication reported [Rickman et al 2015, Virts et al 2015]
<b>XRCC2</b>	FA-U	1 individual w/homozygous pathogenic variants reported [Park et al 2016]

*Las variantes patogénicas de cualquiera de estos genes son reportados únicamente en pocas familias (<1% de los pacientes AF)*

**Tabla 4. Causas genéticas menos comunes** (Mehta, 2018)-

Se ha puesto especial atención en los genes *FANCD2* y *FANCI* porque la mayoría de los pacientes con AF (98%) han perdido la capacidad de conducir a la ubiquitinación de las proteínas codificadas por ambos genes, sin embargo cuando no pueden ser

ubiquitinizadas se ve afectada la regulación del crecimiento celular, reparación del DNA y eso hace a los pacientes por un lado más propensos a desarrollar tumores y por otro lado, se pierde la capacidad hematopoyética en la médula ósea (Bruun, 2003).

BRCA1 tiene más funciones aparte del mantenimiento del genoma en la vía de Fanconi, es aquí donde BRCA2 parece actuar predominantemente en la vía mencionada. La depleción de BRCA1 causa una disminución marcada, sin embargo, no una completa ausencia de ubiquitinación de FANCD2. En contraste con BRCA1, BRCA2 no es necesaria para la ubiquitinación normal de FANCD2 después del daño en el DNA, lo cual es requerido para la función de la vía Fanconi (Bruun, 2003) y esta monoubiquitinación es esencial para la función de la vía de Fanconi y la resistencia a MMC. BRCA2. Las variantes patogénicas en BCRA2 están asociadas con el inicio temprano de leucemia aguda y tumores sólidos (Hirsch, 2004). La probabilidad de malignidad es de 97% a la edad de 6 años, incluyendo leucemia mieloide aguda, meduloblastoma y tumor de Wilms (el cáncer de riñón más común en niños) (Alter, 2007).

En las células normales (no de AF), FANCD2 es monoubiquitinada en respuesta al daño del DNA y es dirigida a ciertos puntos en el núcleo. La monoubiquitinación de FANCD2 es requerida para la formación del foco y complementación funcional (García-Higuera, 2001). Las mutaciones en FANCA son comunes en pacientes (aproximadamente en 65% de los casos) porque FANCA puede regular *upstream* al complejo AF. En la vía de Fanconi, la enzima E1 UBE1, junto con la enzima E2 UBE2T (FANCT) y la ligasa E3-RING con FANCL, son los responsables de ubiquitinar los substratos de DANCI y FANCD2 (Tan, 2017) Estas dos moléculas son necesarias para coordinar la mono ubiquitinación de FANCI y FANCD2 (Sánchez, UNAM).

La modificación postraducción de las proteínas con ubiquitina involucra una cascada enzimática que consiste en una enzima activadora E1, una E2 conjugadora y una ligasa E3 (López, 1939). En la vía de Fanconi, la enzima E1 UBE1, junto con la enzima E2 UBE2T (FANCT) y la ligasa E3-RING con FANCL, son los responsables de ubiquitinar los substratos de DANCI y FANCD2 (Tan, 2017).

Ciertos alelos de genes que codifican la maquinaria de recombinación homóloga activa en la fase S pueden causar el fenotipo clínico común en AF. Finalmente, las mutaciones bialelicas en UBE2T fueron identificadas en pacientes no diagnosticados de AF y la ubiquitina de la ligasa E2 el símbolo de FANCT (Erickson, 2016).

La anemia de Fanconi ha sido estudiada a nivel clínico, genético y de biología celular. Sin embargo, la identidad de muchos genes FANC han sido descubiertos hace poco más de 20 años, su función molecular exacta en la reparación del DNA sólo ha sido explorado superficialmente.

Las anomalías citogenéticas clonales de la médula ósea se vuelven cada vez más común con la edad. Entre las más frecuentes observadas se encuentran las duplicaciones y triplicaciones del brazo largo del cromosoma 1, el aumento de las proporciones del brazo largo del cromosoma 3 y monosomía 7 o pérdida del brazo largo del cromosoma 7. Las supresiones de 5q, 11q, reordenamientos de 6p, y las ganancias de los cromosomas 8 y 21, también se han observado por diferentes grupos (Torres, 2016).

Se ha confirmado que células AF en modelos murinos son únicamente vulnerables a estrés inflamatorio de muchos tipos diferentes, en el modelo de comunicación celular, bloquea la función de la citocina inflamatoria interleucina 1 beta (IL-1 $\beta$ ) (un supresor de la proliferación de las células progenitoras AF in vitro) previniendo la falla medular. Múltiples citocinas inflamatorias y moléculas de adhesión están involucradas en la respuesta inflamatoria, incluyendo factores que pueden desencadenar y otros inhibir la capacidad replicativa de las células progenitoras hematopoyéticas, así que es importante localizar en qué parte el estrés replicativo se induce a las células progenitoras Fanconi (Zhang, 2007).

El envejecimiento celular inducido por TNF (Factor de necrosis tumoral) se correlaciona con la acumulación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y el daño del DNA oxidativo. La neutralización de TNF o la eliminación del receptor de TNF en ratones FANCC previenen la producción excesiva de ROS y la senescencia hematopoyética.

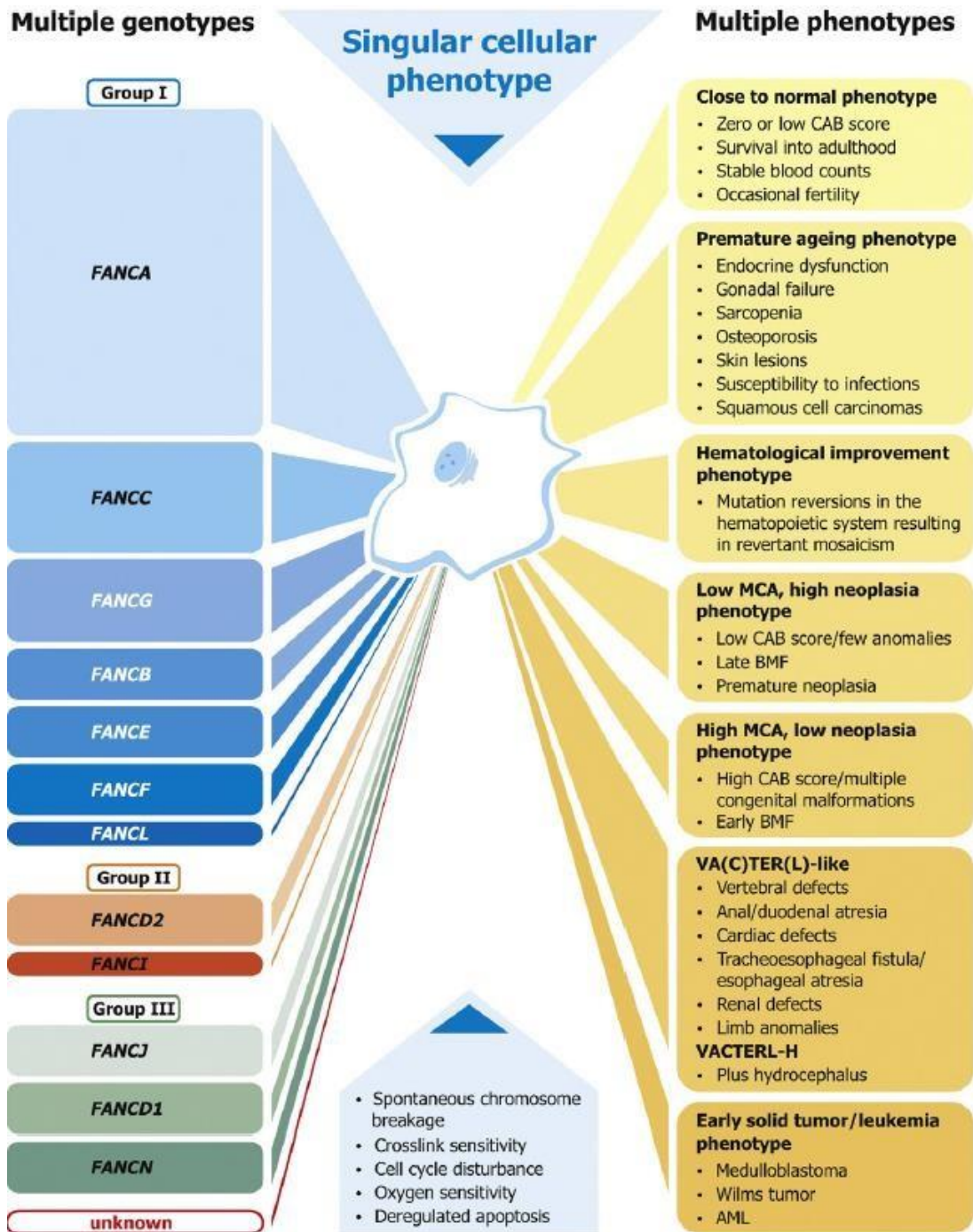
Otras mutaciones importantes se mencionan a continuación:

- FANCG. Las variantes patogénicas de FANCG están asociadas con falla medular severa y mayor incidencia de leucemia comparada con FANCC (Faivre, 2000).
- PALB2. Está asociado a tumores sólidos como el meduloblastoma y tumor de Wilms (Reid, 2007).
- De acuerdo a IFAR (International Fanconi Anemia Registry), las mutaciones en el intrón 4 y exón 14 de FANCC está asociada con un inicio temprano de falla

medular y poca supervivencia comparada con las mutaciones en FANCG y FANCA (Faivre, 2000).

- RAD51 es a la fecha el único gen autosómico dominante causante de la anemia de Fanconi, debido a los efectos negativos dominantes. Sólo dos pacientes con mutaciones en RAD51 han sido reportados con fenotipos de AF atípicos, sin falla medular (Takenaka, 2019).

Los altos grados de heterogenicidad a nivel molecular y fenotípico son, en contraste, marcados al fenotipo celular de AF, el cual es sorprendentemente uniforme. Esta uniformidad de características celulares comúnmente examinadas se extiende más allá de la ruptura cromosómica espontánea como es originalmente observado en las células AF (Neveling, 2009).



**Figura 10. Cómo se distinguen por genes específicos y su gama de mutaciones, y una amplia variedad de manifestaciones clínicas, se unifican patogénicamente por una combinación visible de características celulares.**

**"Unknown (desconocido)" significa pacientes con AF cuyos defectos genéticos no se pueden identificar en la actualidad (Neveling, 2019).**

## 2.4.2 La anemia de Fanconi como factor predisponente para presentar otras enfermedades

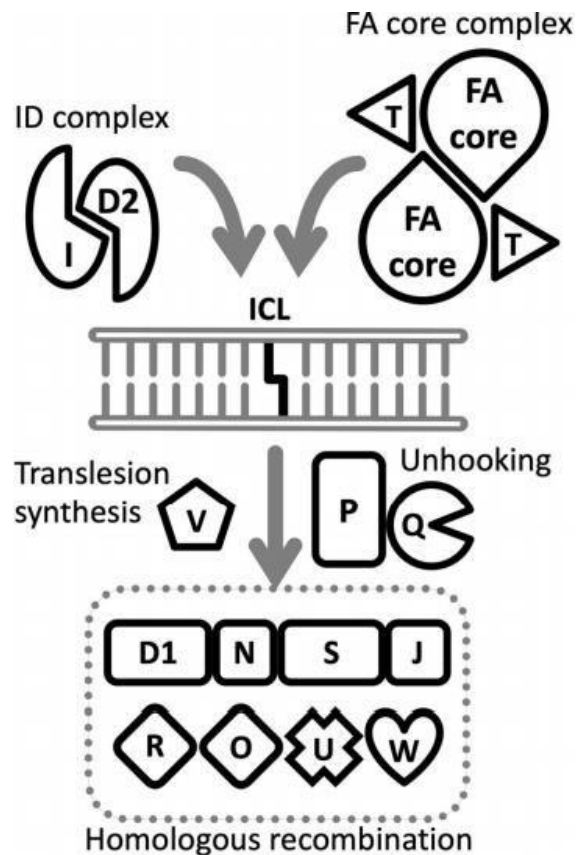
Debido a que varias proteínas que son de la vía Fanconi tienen funciones relacionadas a la recombinación homóloga, se puede explicar que las mutaciones en estos genes se relacionen también a otros síndromes aparte de las características típicas de la anemia de Fanconi.

A continuación, se muestran en una tabla las proteínas de la vía de Fanconi que también tienen funciones con la recombinación homóloga.

Proteína AF (alias)	Función	Proteína (alias)	Función
<b>FANCA</b>	Complejo nuclear	<b>FANCM</b>	Complejo nuclear, helicasa
<b>FANCB</b>	Complejo nuclear	<b>FANCN (PALB2)</b>	Recombinación homóloga
<b>FANCC</b>	Complejo nuclear	<b>FANCO (RAD51C)</b>	Recombinación homóloga
<b>FANCD1 (BRCA2)</b>	Recombinación homóloga	<b>FANCP (SLX4)</b>	Desenganche ICL
<b>FANCD2</b>	Complejo ID	<b>FANCQ (ERCC4/XPF)</b>	Desenganche ICL, endonucleasa específica de estructura
<b>FANCE</b>	Complejo nuclear	<b>FANCR (RAD51)</b>	Recombinación homóloga
<b>FANCF</b>	Complejo nuclear	<b>FANCS (BRCA1)</b>	Recombinación homóloga
<b>FANGG</b>	Complejo nuclear	<b>FANCT (UBE2T)</b>	Enzima conjugadora de ubiquitina
<b>FANCI</b>	Complejo ID	<b>FANCU (XRCC2)</b>	Recombinación homóloga
<b>FANCI (BRIP1)</b>	Recombinación homóloga	FANCV (MAD2L2/REV7)	Síntesis de translesión
<b>FANCL</b>	Recombinación homóloga	FANCW	Recombinación homóloga, ubiquitin- ligasa

**Tabla 5. Productos de los genes Fanconi y sus funciones** (Sakai, 2019)





**Figura 11. En este modelo se representa cómo se relaciona la vía Fanconi con la recombinación homóloga (Sakai, 2019).**

Recordando cómo funciona a grandes rasgos el complejo AF, contiene un módulo homodimérico para la ubiquitinación. FANCT actúa como una enzima conjugadora de ubiquitina asociada al complejo nuclear. FANCD2 y FANCD1 (complejo ID), y son blancos para la ubiquitinación mediada por el complejo nuclear AF. FANCP y FANCO están involucrados en las incisiones a la cadena de DNA en cada sitio de la ICL. FANCV es una subunidad accesoria de la DNA polimerasa  $\zeta$  involucrada en la **síntesis de translesión** sobre los ICL ya desenredados. Al final de este proceso mediado por **recombinación homóloga** restaura la fidelidad del genoma (Sakai, 2019).

La vía de AF funciona también como una barrera en contra de procesos de reparación altamente mutagénicos como la unión de extremos no homólogos (NHEJ), Uno de los principales mecanismos de inhibición de la reparación por unión de extremos no homólogos, es la restricción del acceso de sus diferentes factores, como el heterodímero

Ku 70- 80 a los extremos generados por las endonucleasas, durante la reparación de los enlaces covalentes (Kee, 2012).

Varios síndromes de envejecimiento prematuro humano se caracterizan por una tasa acelerada de pérdida de telómeros e inestabilidad cromosómica. Curiosamente, estas enfermedades son producidas por mutaciones en proteínas reparadoras de DNA como NBS1, MRE11, WRN, BLM, ATM y FANC, por lo que, mutaciones en los genes Fanc, pueden ser una de las causas de estos síndromes, además de la ya estudiada anemia de Fanconi (Ahmed, 2009).

Por otro lado, el síndrome mielodisplásico provoca problemas en la función del sistema inmunitario por lo que los pacientes con AF son más susceptibles a desarrollar cáncer, infecciones que se complican y en ocasiones el desarrollo de estas enfermedades conduce al diagnóstico de AF pues es la forma en que se explica que un paciente no responda, por ejemplo, a tratamientos con antibióticos, el diagnóstico se confirma con exámenes genéticos.

Mutaciones monoalélicas en 6 genes asociados a AF (FANCD1, FANCJ, FANCM, FANCN, FANCO y FANCS) predisponen a cáncer de seno y de ovario (Bogliolo, 2015).

Mientras que los pacientes asignados al subtipo FANCA tienden a tener una enfermedad más leve con un inicio tardío de insuficiencia de la médula ósea, los pacientes en los subtipos FANCC y FANCG tienden a desarrollar una enfermedad más grave, lo que exige una intervención más temprana, como el trasplante de médula ósea. Los pacientes con FANCD1 tienen un inicio más temprano y una mayor incidencia de leucemia y tumores sólidos (Kee, 2012).

Se han reportado con frecuencia casos clínicos que relacionan a enfermedades como el Pioderma gangrenoso, carcinoma de células escamosas, cáncer de cabeza y cuello.

Identificar los factores de riesgo genéticos para el carcinoma de células escamosas (SqCC) de pulmón permitirá su uso en la estratificación del riesgo y vigilancia personalizada (Selvan, 2019).

En un estudio se ha observado un enriquecimiento general de variantes raras y deletéreas de la línea germinal en genes AF en casos con SqCC. De acuerdo con estudios previos, el BRCA2 en particular mostró una mayor carga general de variantes raras y deletéreas, las variantes de la línea germinal deletéreas se enriquecieron en los genes de la anemia

de Fanconi incluso sin la variante BRCA2 rs11571833 que está fuertemente enriquecida en los casos de SqCC pulmonar (Selvan, 2019).

La expresión de las proteínas BRCA1 ha sido asociada positivamente con el tamaño de los tumores, invasión linfática, metástasis tumoral, receptor de estrógeno y expresión de FANCD2. La expresión de las proteínas de FANCD2 ha sido asociada positivamente con el tamaño de los tumores y metástasis tumoral (Feng, 2019).

El riesgo de desarrollar síndrome mielodisplásico (SMD) y leucemia mieloide aguda (LMA) incrementa con la edad. Comparado con la población general, el riesgo de LMA en estos pacientes es 800 veces más alta (Siddiqui, 2019). La monosomía 5 y 7 son comunes en los pacientes con AF que presentan LMA y SMD.

Los tumores hepáticos también son muy comunes probablemente debido a la administración de andrógenos. No hay evidencia que indique un aumento incrementado de malignidad en los portadores de AF. De cualquier modo, aquellos portadores que tienen mutaciones hereditarias en BRCA2 tienen mayor probabilidad de desarrollar tumores malignos (Eeles, 2000).

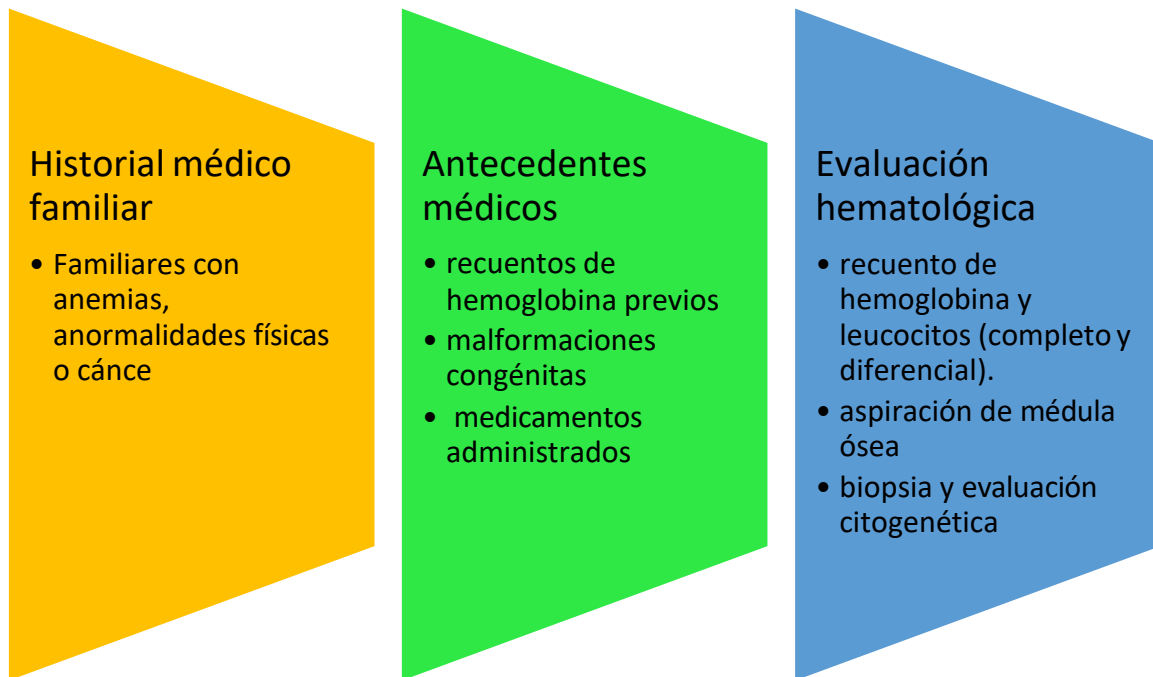
### 3. Diagnóstico

Es fundamental la anamnesis y el examen clínico completo para su direccionamiento hacia una asistencia médica especializada y se hace necesaria la identificación de todas las morbilidades presentes en el momento del diagnóstico y seguimiento clínico, también antecedentes familiares clínicamente relevantes para establecer un manejo integral dentro de la enfermedad.

La anemia de Fanconi actualmente se describe como una enfermedad genética caracterizada por presentar en la mayoría de los casos falla medular, fragilidad cromosómica y una alta predisposición a desarrollar tumores sólidos, así como varias anomalías anatómicas en distintos órganos.

A partir de que se ha logrado identificar qué mutaciones son las que causan estas anomalías se ha podido definir un espectro más amplio de la enfermedad, pues algunos pacientes tienen una o varias mutaciones al mismo tiempo, aunque el diagnóstico está bien definido por la clínica desde hace décadas.

Los pacientes diagnosticados con AF deben sujetarse a un examen completo de laboratorio y a un examen físico, que incluye lo siguiente:



- Examen del oído para evaluar la pérdida de capacidad auditiva o anormalidades estructurales del oído.
- Si hay indicaciones clínicas al efecto, se deberá hacer un examen oftalmológico.
- Un examen por un otorrinolaringólogo (especialista en oídos, nariz y garganta) en busca de cáncer de cabeza y cuello, comenzando desde los diez años de edad.
- Exámenes por otros especialistas, dependiendo de las necesidades individuales del paciente (Fanconi Anemia Research Fund, 2008).

Los individuos con anemia pueden experimentar cansancio, se incrementa su necesidad de dormir, debilidad, aturdimiento, mareo, irritabilidad, dolor de cabeza, palidez, dificultad para respirar, y síntomas cardíacos.



En México se tiene un algoritmo para el diagnóstico y diferenciación de la anemia aplásica, de modo que si en la infancia se presenta síndrome de falla medular se diferencia entre si es adquirida o si es congénita. La anemia de Fanconi es la más frecuente de las congénitas, seguidas por otras enfermedades como síndrome de Blackfan-Diamond.

Para simplificar el diagnóstico se ha hecho uso del término VACTERL, éste es un acrónimo en que cada letra representa la primera letra de uno de los hallazgos más comunes que se observan en las personas afectadas:

(V) = anomalías vertebrales

(A) = atresia anal, que es la ausencia u obstrucción del orificio anal

(C) = defectos cardíacos (del corazón)

(T) = anomalías traqueales incluyendo fistula traqueo-esofágica (TE), que es una conexión anormal entre la parte superior del esófago y la tráquea

(E) = atresia esofágica, cuando la parte superior del esófago, no se conecta con la parte inferior del esófago y del estómago

(R) = anomalía renal (riñón) y radial (del lado del pulgar de la mano)

(L) = otras anomalías en las extremidades (brazos y piernas).

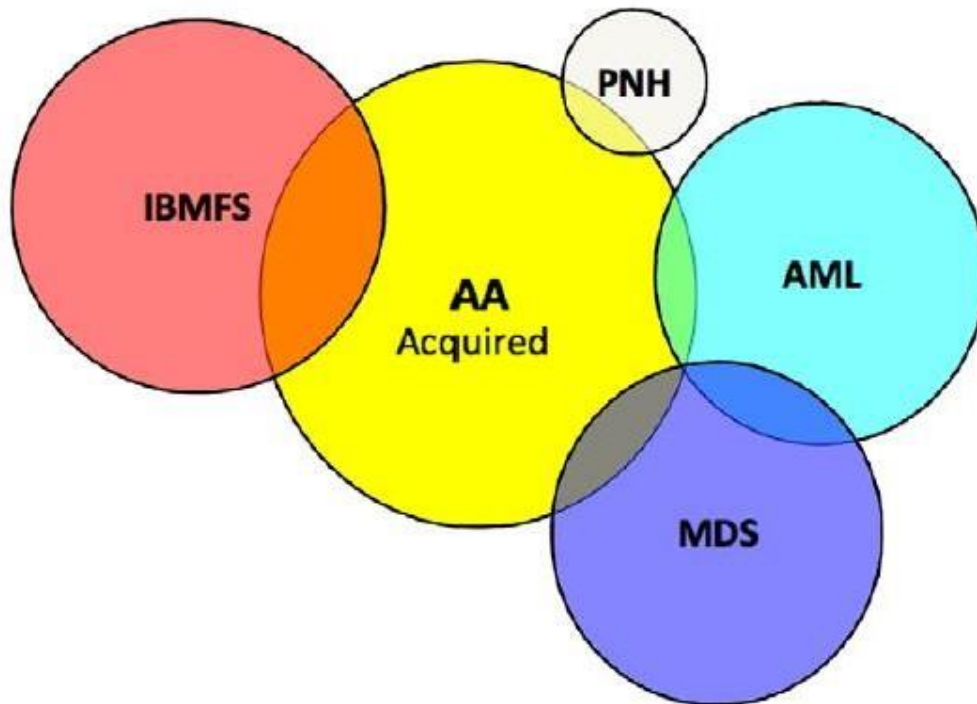
(Castori, 2015)

La frecuencia de VACTERL en pacientes con AF es cercana al 10%. La asociación VACTERL es un grupo de defectos de nacimiento que ocurren juntos y que afectan varias partes del cuerpo.

El diagnóstico diferencial por VACTER/VACTERL incluye a la anemia de Fanconi y a otros síndromes de falla medular asociados a anomalías congénitas como la Anemia de Blackfan Diamond, síndrome de Nijmegen, y trombocitopenia con ausencia de radio (TAR).

No se sabe cuál es la causa de la asociación VACTERL y no se ha identificado una anomalía específica o que esté presente en todos los pacientes con la asociación VACTERL. Algunos investigadores creen que las anomalías que ocurren en la asociación VACTERL pueden resultar de defectos en la capa media (mesodermal) de las primeras capas del embrión durante el desarrollo fetal debido a diversas razones. (National Organization of Rare Diseases, 2019). Algunas características de la asociación VACTERL no se desarrollan o no aparecen hasta que se es adulto (Castori, 2015).

Los defectos físicos más severos, los cuales algunas veces incluyen características del síndrome VACTERL-H (VACTERL con Hidrocefalia), las frecuencias de los genotipos en los pacientes AF VACTERLH son diferentes a lo esperado para la población de pacientes AF y frecuentemente reportadas en pacientes con mutaciones en los siguientes genes: FANCC, FANCD1/BRCA2, FANCD2, FANCG, FANCI y FANCN/PALB2 (Marsh, 2015). Es importante tener presente el fenotipo VACTERL cuando se estudian casos con alteraciones hematológicas, pues casos severos de VACTERL-H y otros síndromes como el de Baller-Gerold han sido identificados después como AF hasta que se presenta la falla medular y test positivos de falla medular (Auerbach, 2009).



**Figura 13. Diagnóstico diferencial anemia de Fanconi (Shimamura, 2010).**

Se debe realizar el diagnóstico diferencial con otros síndromes que incluyen anemia aplásica: Hemoglobinuria paroxística nocturna (PNH), síndrome mielodisplásico (MDS), leucemia mieloide aguda (AML) y síndrome de falla medular hereditario (IBMFS), ya que hay muchas características en común como se muestra en el esquema de la figura 13.

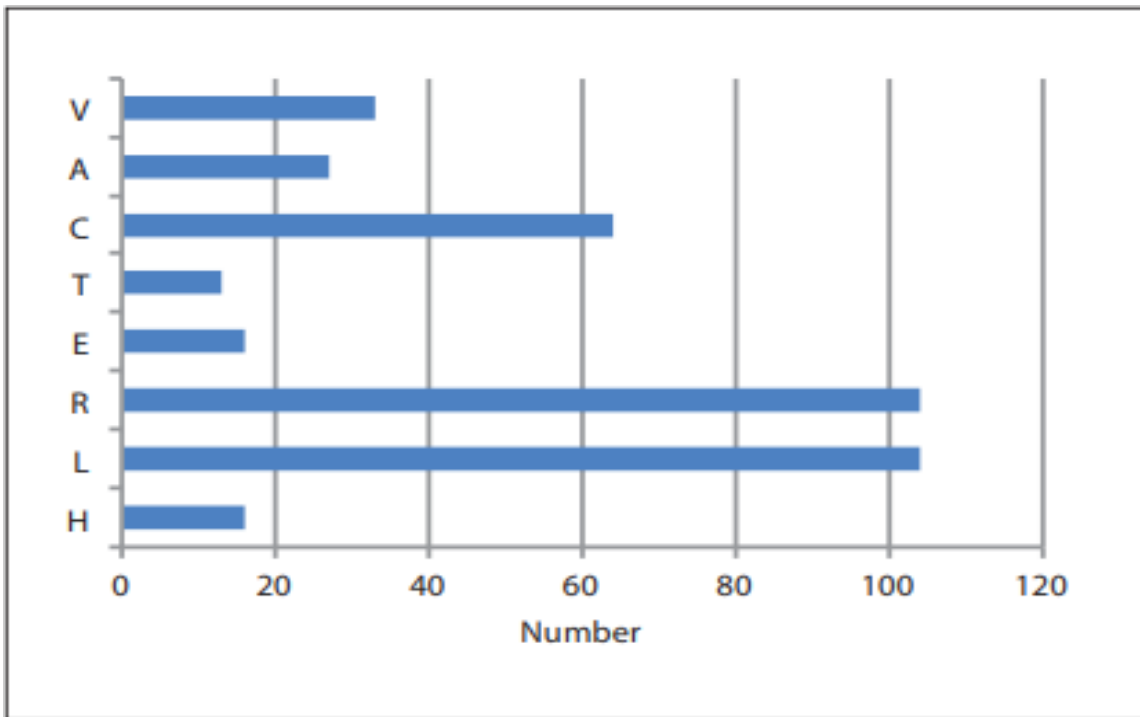
Las enfermedades genéticas que son parecidas a la asociación VACTERL incluyen el síndrome de Feingold, síndrome CHARGE, la anemia de Fanconi, el síndrome de Townes-Brocks, y el síndrome de Pallister-Hall. Al menos 5% de los pacientes con AF tienen esta asociación (National Organization of Rare Diseases, 2019).

Una revisión de 2,245 casos de anemia de Fanconi que fue llevada a cabo desde 1927 hasta 2012, identifica 108 casos con al menos tres de las características que definen a la asociación VATER (asociación derivada de VACTERL, donde no se presentan defectos cardíacos (C) ni anomalías en las extremidades (L)); sólo 29 han sido reportadas por los autores. La asociación VATER fue primero nombrada en principios de los 1970's, donde se describen, las características de un grupo de malformaciones congénitas: Defectos vertebrales, atresia anal, fístula traqueo esofágica (TEF) con atresia esofágica, y displasia Radial y renal (Solomon, 2011). La asociación VATER con la AF presenta en su mayoría solo anomalías renales y radiales o ausencia de pulgar (93% de los casos tenían

ambas) comparado con menos del 30% de los pacientes que presentaron todas las características VATER; la presencia de uno o varios de estos defectos de nacimiento debería llevar al personal de la salud a realizar las pruebas específicas para el diagnóstico temprano de la anemia de Fanconi (Alter, 2013).

Se considera que el fenotipo VACTERL-H entre los casos con AF es aproximadamente del 5%; Se desconoce la frecuencia de AF entre pacientes con VACTERL-H (Alter, 2016).

Las atresias gastrointestinales han sido reportadas en 14% de los casos de Anemia de Fanconi. Otras malformaciones que caen en el espectro de VACTERL también ocurren: esqueléticas (71%), cardíacas (13%) y renales (Shaw, 2006).



**Figura 14. Características VATER en individuos con Anemia de Fanconi (Alter, 2012)**

Todos los pacientes tienen al menos tres de las características VACTERL-H. Las anomalías renales y radiales son las más frecuentes reportadas en 104 de 108 pacientes con VATER en un estudio realizado por Alter con datos recogidos de casos clínicos reportados desde 1927 a agosto del 2012, lo cual se resume en la gráfica de la figura 14.



El diagnóstico basado en observaciones clínicas puede resultar extremadamente difícil debido a la gran variabilidad de síntomas que muestran los pacientes con AF. Este hecho, unido a que un 30% de los pacientes con AF no muestran malformación alguna, supone que muchos pacientes sólo acuden al médico cuando los síntomas de la enfermedad hematológica son manifiestos. En un estudio con 2000 individuos hasta el 2009 se calcula que las características físicas ocurren en aproximadamente el 75% de los individuos con AF (Dong, 2015). La reducción de una o más series sanguíneas suele poner al especialista ante la sospecha de una anemia hereditaria que debe ser confirmada mediante estudios clínicos adicionales, así como mediante análisis citogenético y moleculares (Tan, 2017).

Asociaciones familiares de varias combinaciones de anomalías hematológicas, óseas, renales, cardíacas, del oído, crecimiento y pigmentación de la piel han sido bien documentadas y se han incorporado en síndromes diferentes bien delineados. Entre estos está la disqueratosis congénita, síndrome de TAR, síndrome Holt-Oram, Baller Gerold, Síndrome Aase, Síndrome de QT largo, Síndrome Schwachman, síndrome IVIC y la asociación VACTERL. Las malformaciones de pulgar han sido reportadas en un número de pacientes con Blackfan-Diamond (Esmer, 2004).

Otra condición genética a ser considerada en el diagnóstico diferencial es el síndrome Baller-Gerold y la asociación VACTERL con hidrocefalia. Las manifestaciones típicas de este desorden raro incluyen desarrollo lento, displasia radial, anomalías renales, y defectos en el septo ventricular. La atresia anal está presente raramente (Rossbach, 2996).

Alter y colaboradores desarrollaron el acrónimo PHENOS como complemento de VACTERL-H, para incluir características que son exclusivas de AF y no están incluidas en VACTERL-H. Según un estudio realizado por ellos mismos, los pacientes con AF y VACTERL-H tienen las frecuencias más altas de al menos cuatro de las seis características de PHENOS (PHENOS: microcefalia, microftalmia, anomalías del SNC, hallazgos otológicos y baja estatura). Por lo tanto, la combinación de VACTERL-H con PHENOS está altamente asociada con la AF, y debería conducir a las pruebas apropiadas de los bebés en una evaluación clínica de VACTERL-H que tienen estas características

(Alter, 2016).

### 3.1 Observaciones clínicas

En un estudio de datos del International Fanconi Anemia Registry (IFAR) Un tercio de todos los pacientes carecían de malformaciones congénitas (MC). Se ha encontrado que la altura, el peso y la circunferencia de la cabeza eran  $\geq 5$  centil en 26.6% de los pacientes con AF sin MC referidos al IFAR, y en 43.8% de los pacientes con AF sin MC examinado. Se notificaron anomalías menores en el 9.4% de los pacientes con AF sin MC remitidos al IFAR y el 100% de los pacientes con AF sin MC. La mayoría de los pacientes con AF sin MC tienen alteraciones en los parámetros de crecimiento, anomalías en la pigmentación de la piel o microftalmia (Giampietro, 1997).

- Retardo intrauterino, talla baja.



**Figura 15. Baja estatura en pacientes con AF (Shimamura, 2010 y Falci, 2011).**

- Hipopigmentación de la piel (café au lait)



**Figura 16. Hipopigmentación en pacientes con AF (Siddiqui, 2019 y Shimamura, 2010).**

- Craneofacial Craneosinostosis, frente prominente, micrognatia.



**Figura 17. Microftalmia y microcefalia en paciente infantil con AF (Shimamura, 2010 y Freire, 2018).**

- Ojos: 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 hipoplasia tenar, ausencia o hipoplasia del radio, del pulgar o de ambos, pulgar flotante, bífido, digitalizado o desplazado.

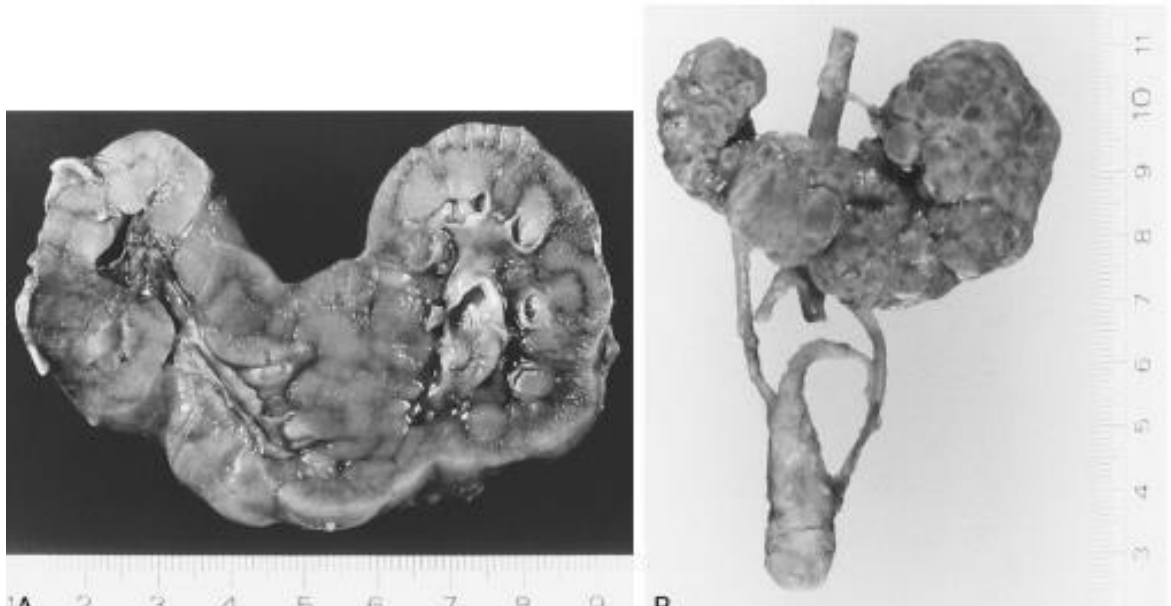


**Figura 18. Hipoplasia del derecho y ausencia completa del pulgar izquierdo  
Ausencia de pulgar, hipoplasia tenar (García de Teresa, 2013 y Rossbach,  
1966)**



**Figura 19. Hipoplasia bilateral del primer metacarpiano en niña con AF.**

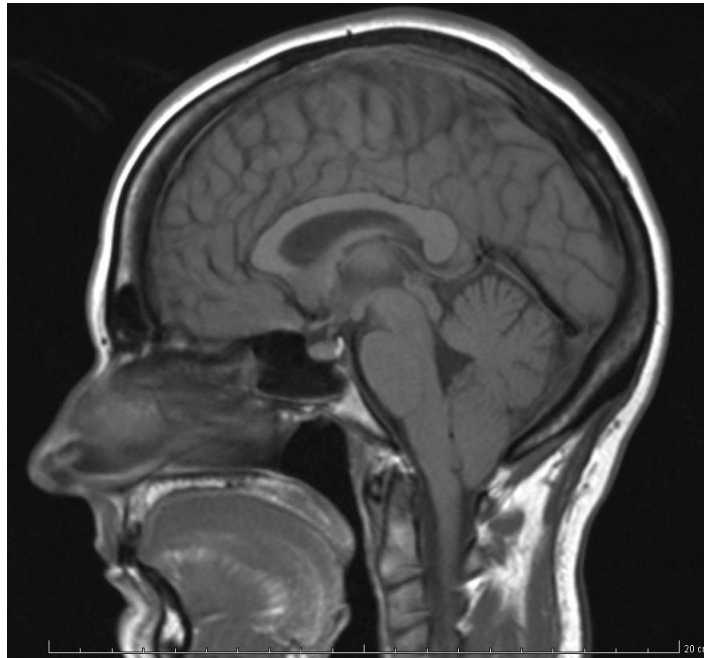
- Columna: espina bífida, fusión vertebral, xifosis, agenesia o hipoplasia sacra.
- Tórax: ausencia clavicular, deformidad de Sprengel, anomalías costales. Miembros torácicos: anomalía humeral, hipoplasia o aplasia cubital, braquidactilia, aracnodactilia.
- Miembros pélvicos: enfermedad de Perthes, displasia o luxación de cadera, asimetría de extremidades inferiores, pie equino varo.
- Riñón y tracto urinario Riñón ectópico, en herradura, rotado, hipoplásico o ausente, hidronefrosis, hidrouréter, reflujo, estenosis uretral.



**Figura 20. Especímenes de riñón en “herradura” (Mouriquand, 2012)**

- Genital Hipogenitalismo, disgenesia gonadal.
- Masculinos: 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: Persistencia de conducto arterioso, defecto septal ventricular, estenosis pulmonar o aórtica, atresia pulmonar, coartación de aorta, doble arco aórtico, tetralogía de Fallot, cardiomiopatía.
- Gastrointestinal: Atresia esofágica, atresia duodenal, atresia anal, atresia de vías biliares, fístula traqueoesofágica, membrana duodenal, páncreas anular, malrotación intestinal, obstrucción intestinal.

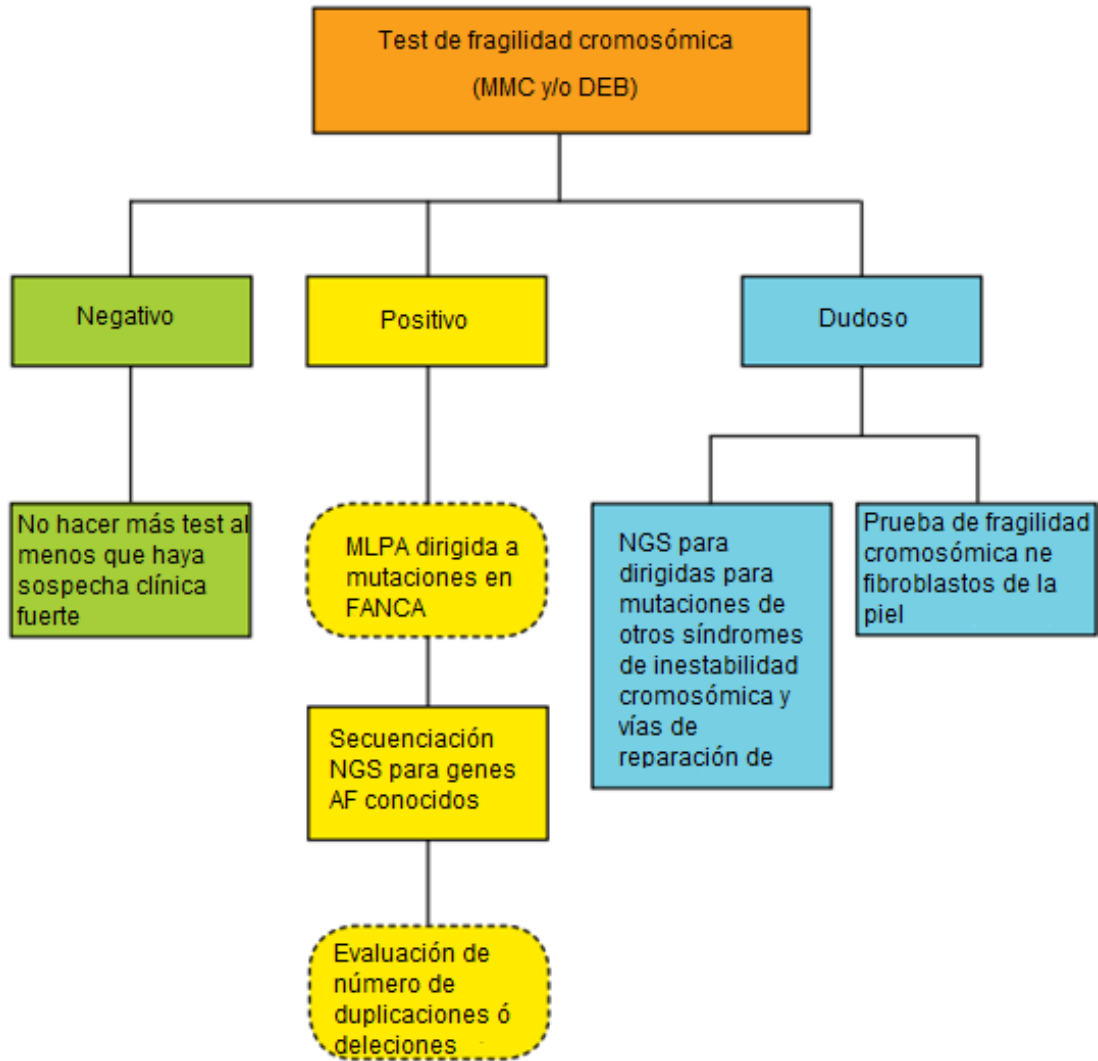
- Sistema nervioso central (SNC): Microcefalia, hidrocefalia, malformaciones arteriales del SNC, hipófisis anormal, ausencia de septum pellucidum/cuerpo calloso, malformación de Arnold-Chiari, ventrículo único, defecto del tubo neural.



**Figura 21. Malformación de Arnold-Chiari vista por tomografía craneal.**

- Las principales manifestaciones orales asociadas a la AF notificadas en la literatura fueron gingivitis (41,5%), periodontitis (22,3%), dientes rotados (22,3%) y agenesia (20,2%) (García de Teresa, 2013 y Falci, 2011).

Resumiendo el proceso del diagnóstico que se realiza inicialmente cuando se puede sospechar de AF por las características fisionómicas del paciente, se pueden seguir los pasos como se muestra en el diagrama de la figura 22, partiendo de la evaluación de la fragilidad cromosómica con mitomicina C (MMC) y diepoxibutano (DEB), (ésta técnica se detallará más adelante).



**Figura 22. Diagrama de flujo para pruebas de laboratorio de anemia de Fanconi (Marsh, 2015)**

El fenotipo clínico es muy variable, por lo que el diagnóstico se retrasa frecuentemente hasta que la pancitopenia aparece, resultando más complicado identificar la AF únicamente con base a las manifestaciones clínicas por sí solas. La hipersensibilidad de las células de AF al efecto clastogénico del diepoxibutano, provee un marcador único para el diagnóstico antes del comienzo de las manifestaciones hematológicas.

Los pacientes con anemia de Fanconi se presentan con varios defectos congénitos, sin embargo, aproximadamente del 25% al 40% de los pacientes son físicamente normales.

Las características fenotípicas se pueden agrupar en cuatro grandes grupos: 1) defectos o anomalías físicas existentes al nacimiento, 2) endocrinopatías, 3) anomalías hematológicas y 4) aparición de tumores sólidos.

Aproximadamente la mitad de los individuos con AF tienen baja estatura, la etiología de la baja estatura en la AF es multifactorial, incluidas las causas no endocrinas y endocrinas como la producción insuficiente de la hormona de crecimiento y alteraciones tiroideas (Torres, 2016). Incluso los individuos con AF sin endocrinopatías tienden a tener baja estatura, pero es más frecuente en quienes las tienen. Por lo tanto, la terapia de reemplazo hormonal no siempre puede normalizar el crecimiento (Petryk, 2015). En un estudio se concluye que aproximadamente el 61% de los niños y 37% de los adultos muestran hipotiroidismo (Rose, 2012). Ya en 1960 se había señalado que algunas características de la FA, como la criptorquidia (ausencia de uno o ambos testículos en el escroto), la pigmentación anormal y el crecimiento atrofiado, pueden estar relacionadas con la disfunción endocrina. También se informaron otras anomalías endocrinológicas, que incluían deficiencia de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH). El hipotiroidismo puede deberse a la disormonogénesis y no a la aplasia, ya que estudios de imagenología tiroidea en pacientes muestra una glándula localizada normalmente (Mahmoud, 1998).

La Trombocitopenia con ausencia de radio (TAR) es otro desorden recesivo autosómico raro que se presenta al nacimiento o en la infancia temprana. Como el nombre lo indica, los pacientes tienen trombocitopenia y defectos radiales como en la AF, sus pulgares se presentan bilateralmente (Martínez, 1998), por eso es importante un diagnóstico diferencial.

Los pacientes con anemia de Fanconi presentan una hipoplasia de toda la hematopoyesis por lo que se ven reducidas las líneas mieloides y la que se manifiesta primero suele ser la trombocitopenia, anemia severa y granulocitopenia las cuales se manifiestan en forma de sangrados e infecciones recurrentes en diferentes grados (Ávila, 1993). La mayor parte de los pacientes con anemia de Fanconi desarrollan insuficiencia medular, pero la edad de aparición es variable, aún entre hermanos afectados.

La disfunción endocrina está muy extendida en niños y adultos con AF; se ha expandido el fenotipo de AF para incluir osteopenia/osteoporosis de inicio temprano y anomalías lipídicas, pues hasta 92% de los pacientes mayores de 18 años presenta osteopenia u osteoporosis (Giri, 2007). Las anomalías más comunes son la resistencia a la insulina en primera fase, el hipotiroidismo primario leve y la disfunción gonadal masculina (Rose, 2012). El



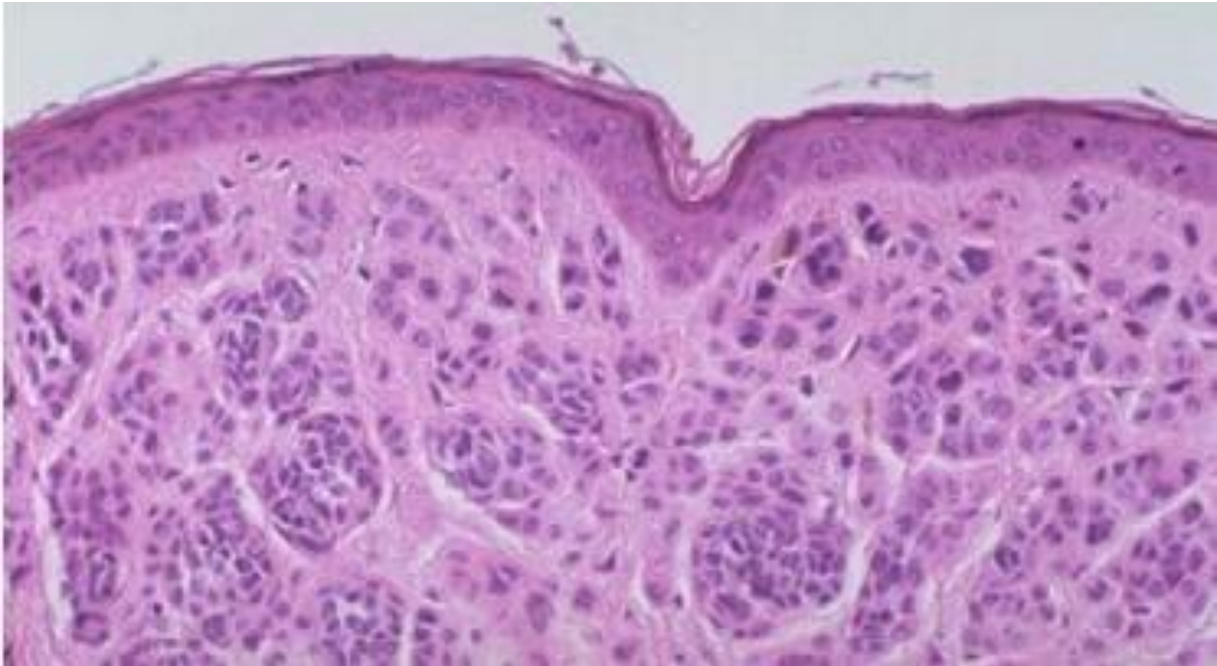
metabolismo anormal de la glucosa o la insulina está asociado con la AF. A diferencia de la insulina reducida en la diabetes, las personas con AF suelen tener un nivel más alto de insulina sérica. Aproximadamente el 8% de los individuos con AF se informa que son diabéticos, mientras que hasta el 72% mostró un nivel elevado de insulina (Kee, 2012). Los pacientes con AF tienen un mayor riesgo de diabetes mellitus que la población general. La diabetes se puede presentar antes o después de un trasplante de células hematopoyéticas y no se ha asociado con un genotipo de AF individual. La tendencia a la hiperglucemia se debe tanto a un deterioro en la función de las células  $\beta$  como a la resistencia a la insulina (Petryk, 2015).

Las células humanas deficientes en AF también muestran una acumulación de cuerpos lipídicos (organelos nucleares y citoplásmicos que almacenan lípidos neutros). Algunos investigadores sugieren que los cuerpos lipídicos (LD) pueden servir como biomarcadores para enfermedades metabólicas (Sakai, 2019).

En el contexto de que la disfunción mitocondrial y el desencadenamiento del estrés celular, tal como ocurre en la AF, el metabolismo lipídico está sesgado hacia la acumulación de lípidos y se observan cuerpos lipídicos en el citosol celular. Es de destacar que aproximadamente el 50% de los pacientes con AF desarrollan un trastorno del metabolismo de los lípidos (Degan, 2019).

Se ha encontrado contenido elevado de acetil coenzima A (AcCoA) en las células Fanconi, debido a la actividad defectuosa de la oxidación fosforilativa. Normalmente, el exceso de lípidos es almacenado en la célula como triglicéridos y guardados en cuerpos lipídicos para proteger a la célula de la lipotoxicidad. Por microscopía electrónica se ha observado un incremento del doble de cuerpos lipídicos en linfoblastos con AF en comparación con los controles (Degan, 2019).

Las anomalías en la pigmentación de la piel se presentan en la mayoría de los pacientes AF que presentan fenotipo clínico y son una razón fuerte para sospechar de la Anemia de Fanconi.



**Figura 23. Hipermelanosis en biopsia de piel (Giler, 2007)**

La proliferación de las células germinales es defectuosa en hombres y mujeres con anemia de Fanconi, y el mantenimiento de las células madre de la espermatogonia son defectuosas en los hombres con Anemia de Fanconi. Casos no diagnosticados de anemia de Fanconi pueden ser identificados a través de pruebas genéticas de las personas con formas particulares de infertilidad (Tsuí, 2019).

El 70% de los casos de anemia aplásica adquirida se denomina idiopática, sin identificar una causa específica o etiológica. En algunas series se ha reportado historia de exposición a agentes tóxicos y medicamentos entre el 15-20% (Esmer, 2004).

El fenotipo de las personas con anemia de Fanconi puede ser muy variable y esa es la razón por la que es importante su diferenciación de otras enfermedades que causen falla medular. Aunque se conocen las características típicas de la anemia de Fanconi (baja estatura, pigmentación en la piel, anormalidades esqueléticas, etcétera), hay casos en que las personas que poseen las mutaciones no manifiestan anormalidades explícitas como se presenta en varios estudios en diferentes países.

Anormalidades	Número de casos	%
Pigmentación de la piel (café au lait)	21	70
Baja estatura	20	66.7
Deformidad esquelética (ausencia de pulgar, scoliosis vertebral, caderas, radio, y otros)	17	56.7
Microcefalia, microoftalmia	16	53.3
Deformidades del tracto renal y urinario	8	26.7
Anormalidades cardíacas	2	6.7
Pérdida de audición	1	3.3
Sin anomalías	10	33.3

**Tabla 5. Frecuencia de anomalías físicas en anemia de Fanconi de acuerdo a un estudio realizado en un hospital pediátrico de 2008 a 2016 (Al-doski, 2018).**

También se encuentran anomalías congénitas en el Sistema Nervioso Central en los niños con anemia de Fanconi, pero aún están poco caracterizadas, en especial consideración con ciertos grupos genéticos. Los pacientes con anemia de Fanconi tienen mayor incidencia de neurohipófisis ectópica, hipoplasia de adenohipófisis, y otras anomalías (Johnson-Tesch, 2017).

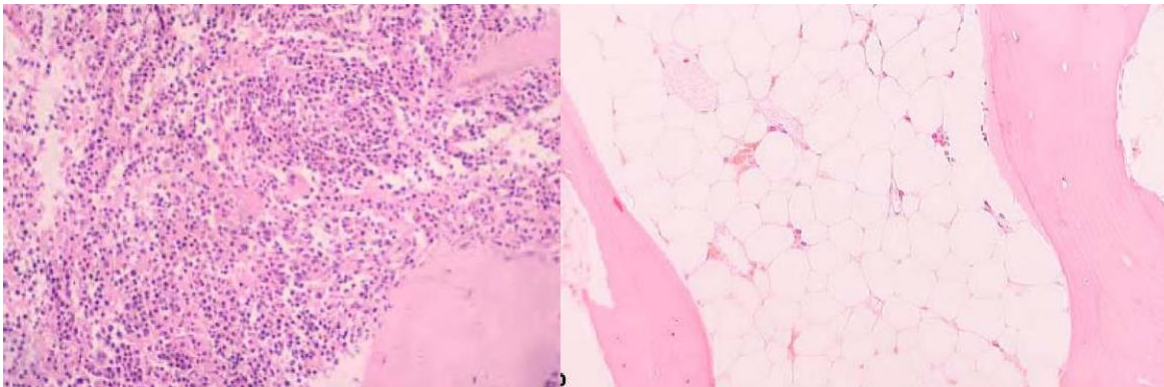
Se ha encontrado que en pacientes que han sido tratados con trasplantes de médula ósea hay una reducción significativa en mediciones de función pulmonar (FEV1, FVC) después de ser trasplantados o ser expuestos a radiación respectivamente (Ameziane, 2008).

Existen casos en los que se descubren genes Fanconi en pacientes que no presentan ninguna característica fisiológica de la enfermedad, ni siquiera la fragilidad cromosómica que anteriormente era una prueba importante para el diagnóstico, si no se descubren por otros signos como la macrocitosis (Aslan, 2017) y raramente se considera para esta enfermedad sobre todo por su baja incidencia.

Se han reportado con alta frecuencia casos de AF en un grupo de pacientes que presentan azoospermia (7.1%). El *screening* para las variantes patogénicas de FANCA en dichos pacientes tiene el potencial de identificar AF sin diagnosticar antes de la aparición de otras manifestaciones clínicas severas de la enfermedad (Krausz, 2019).

## 3.2 Hematológico

El inicio de la enfermedad se presenta habitualmente en forma gradual y los síntomas se relacionan principalmente al desarrollo de pancitopenia progresiva que implica recuento bajo de todas las líneas celulares en sangre: eritroide, mieloide y megacariocítica. De hecho, las manifestaciones hematológicas son semejantes a las que se observan en la anemia aplásica adquirida, incluyendo disminución de la celularidad en la médula ósea y citopenias en sangre periférica. Aparece principalmente como una anemia de características macrocíticas hipo regenerativa con elevación de expresión del antígeno "i" en los hematíes, y trombocitopenia precediendo a la leucopenia (López, 2004). En la mayoría de estos casos, la historia natural es progresiva, y el espectro clínico incluye manifestaciones no hematológicas y una predisposición al cáncer (Ahmed, 2009).



***Figura 24. Imágenes de biopsia de médula ósea normal y médula ósea aplásica respectivamente. Nótese cómo la masa celular es reemplazada por espacios de grasa (Ahmed, 2009).***

En la médula ósea la proporción entre tejido adiposo y tejido hematopoyético varía con la edad y el hueso en cuestión. La médula ósea del recién nacido es muy celular y apenas contiene grasa. En un adulto normal y a nivel de la cresta ilíaca se considera normal que entre un 45 y un 50% del espacio intramedular esté formado por tejido hematopoyético homogéneamente distribuido entre la grasa (Acevedo, 1993). Las diferentes series hematopoyéticas ocupan localizaciones diferentes en la médula ósea.

La serie roja forma pequeños islotes separados de las trabéculas óseas, con unas 20-40 células eritroides, y por lo común en contacto con macrófagos cargados de pigmento férrico (Acevedo, 1993).

Los síndromes de insuficiencia de la médula ósea comprenden un grupo de diversos trastornos unidos por su propensión a causar hematopoyesis ineficaz e inadecuada (Ahmed, 2009). Los precursores pluripotentes desaparecen, quedando sustituidos por lagunas grasas, provocando pancitopenia periférica.

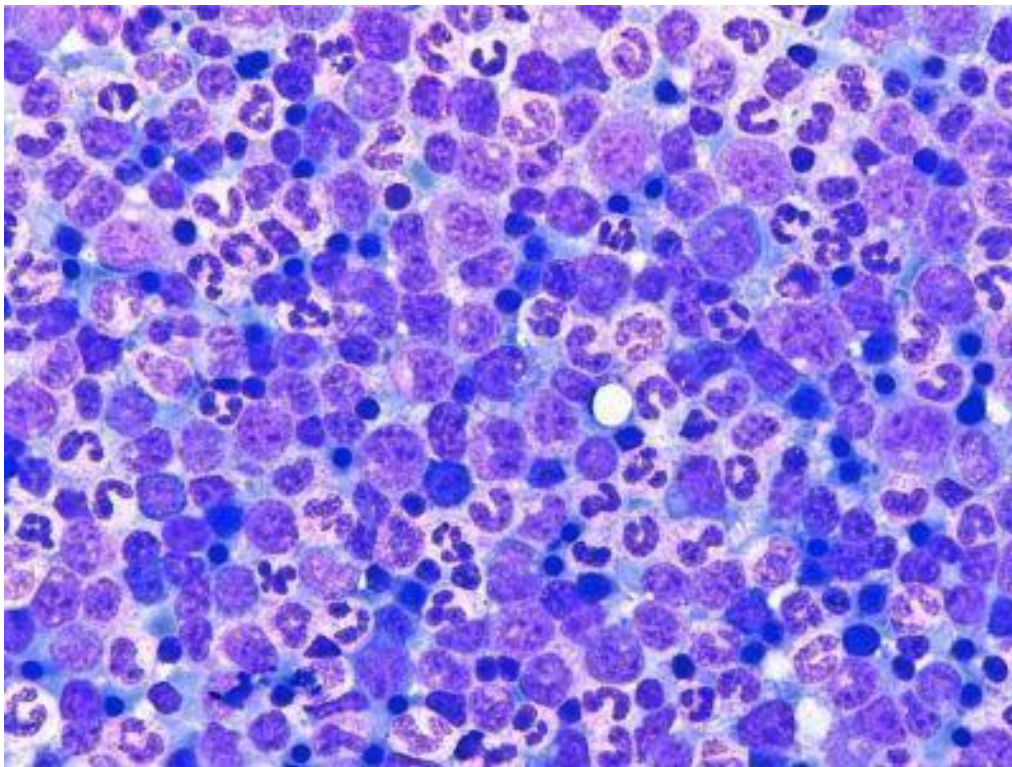
Entre las líneas sanguíneas afectadas se encuentran las plaquetas, cuya función principal es limitar la hemorragia al revestimiento endotelial en el caso de daño vascular. Así pueden observarse al inicio las manifestaciones atribuibles a una trombocitopenia como petequias o hematomas o episodios graves de epistaxis o sangrado gastrointestinal. Posteriormente se hacen evidentes los signos de anemia que incluyen principalmente palidez, fatiga, debilidad e hiporexia (Giler, 2007).

Frecuentemente los pacientes con AF presentan macrocitosis, este término hace referencia a un aumento en el tamaño de los eritrocitos, la macrocitosis no es una característica exclusiva de este tipo de anemia, pues se puede presentar como consecuencia de la deficiencia de vitamina B12 y/o ácido fólico, así como en otras anemias macrocíticas de etiologías variadas como el alcoholismo, fármacos, hipotiroidismo, enfermedad hepática, y los síndromes mielodisplásicos y con menos frecuencia por cardiopatías congénitas, síndrome de Down y anemias hemolíticas. La macrocitosis se identifica en la biometría hemática a través del parámetro VCM (volumen corpuscular medio), o sea el volumen promedio de los eritrocitos y se reporta en fL, cuando este resultado es elevado (>100 fL aproximadamente), es un claro indicador de macrocitosis en la infancia.

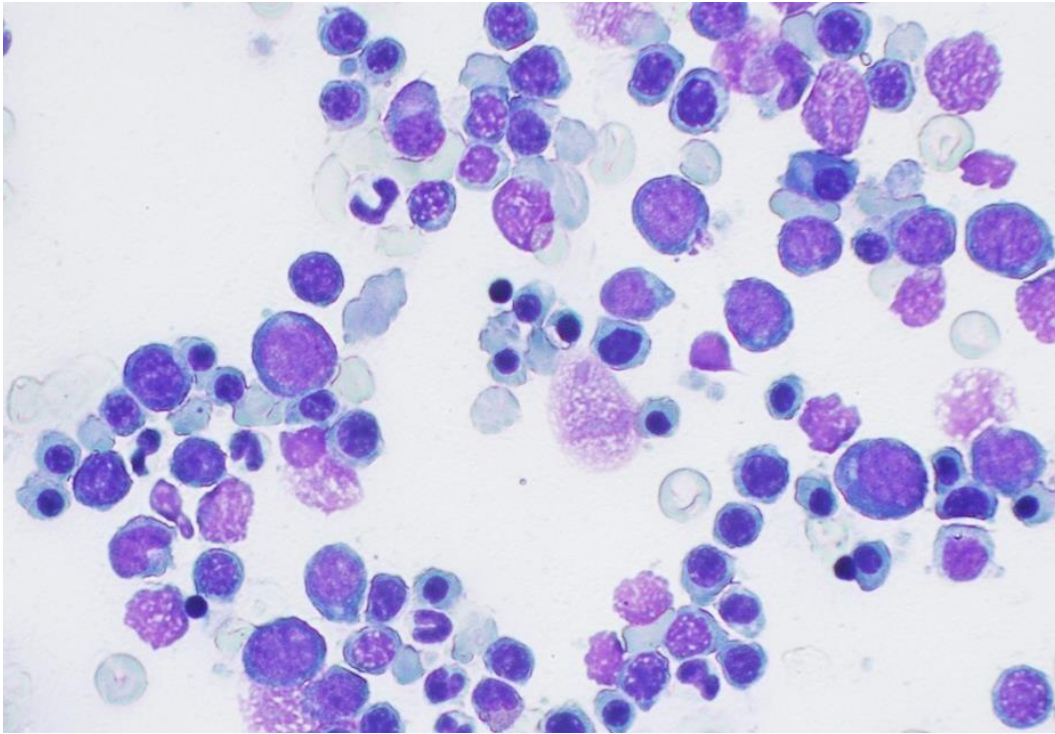
A menudo hay trombocitopenia asociada con niveles elevados de hemoglobina fetal, macrocitosis y neutropenia (Auerbach, 2009). La hemoglobina fetal difiere de la forma adulta de la proteína en su mayor afinidad por el oxígeno y se produce a partir de los primeros dos meses de gestación (Nicolaidis, 1988). Las citopenias (valores bajos en los niveles de cualquier línea celular sanguínea) deben ser persistentes y no secundarias a otra causa tratable. Por ejemplo, en casos de infecciones bacterianas o virales (Shimamura, 2002). Las citopenias secundarias a infecciones son provocadas por citotoxicidad directa, o anticuerpos, y/o por alteración del estroma. Algunas bacterias y algunos virus promueven la supresión de la médula por efecto directo o mediado por citoquinas, hemofagocitosis o, en otros casos, destrucción inmune. Algunos fármacos como los quimioterápicos, linezolid, bortezomib, tiazidas, etc, pueden producir citopenia por una acción directa sobre los precursores hematopoyéticos (Flores, 2017).



En los cortes histológicos de médula ósea pueden diferenciarse aspectos en la arquitectura del tejido hematopoyético (islotes eritropoyéticos, mielopoyesis paratrabecular, etc.) y aspectos citológicos de la eritropoyesis, mielopoyesis y megacariopoyesis que aportan información fundamental de carácter diagnóstico. La hemoglobinización de la eritropoyesis no es visible pero sí lo es la basofilia de los precursores. La granulación primaria o específica de la mielopoyesis tampoco se distingue, pero las granulaciones sí (Acevedo, 1993). Característicamente el examen de médula ósea muestra depresión de las tres líneas celulares, lo cual se correlaciona con el hallazgo de pancitopenia periférica. Algunos niños con anemia de Fanconi pueden presentar al inicio hiper celularidad de la médula ósea a consecuencia de hiperplasia eritrocitaria, haciéndose hipocelular en estadios avanzados de la enfermedad.



**Figura 25. Médula ósea hiper celular (extraído de <http://atlas.gechem.org/es/component/k2/item/366-medula-osea-hipercelular> 29/04/2019).**



**Figura 26. Hiperplasia eritroide (Cipriani, 2005).**

La anemia es de tipo crónica arregenerativa, esto quiere decir, que el descenso de los niveles de hemoglobina (Hb) no se acompaña de una capacidad regenerativa normal de la médula ósea sin aumento, por tanto, del número de reticulocitos en sangre periférica (Torres, 2004) y es generalmente normocítica o ligeramente macrocítica; el porcentaje de reticulocitos es comúnmente bajo, habitualmente se revela granulocitopenia con linfocitosis relativa (Giler, 2007). Los linfocitos son una línea celular encargada de mediar la inmunidad innata, dichas células pueden elevarse frecuentemente en infecciones víricas como por virus de Epstein-Barr, VIH 1 y hepatitis, o no víricas como toxoplasmosis, la brucelosis, la tuberculosis y la sífilis secundaria; casusas no infecciosas como reacciones de hipersensibilidad, cardiopatías y síndromes linfoproliferativos (Sánchez, 2004).

Cuando se presenta pancitopenia crónica generalizada, se está hablando de una insuficiencia medular (fracaso en la función hematopoyética) que se manifiesta como hipoplasia medular. La diferencia entre aplasia e hipoplasia medular es una cuestión de grado, en función de la severidad de la pancitopenia. Frecuentemente el aspirado medular es seco y la biopsia revela una médula desprovista de células hematopoyéticas y constituida por grasa, en la que se identifican aisladas células macrofágicas y células

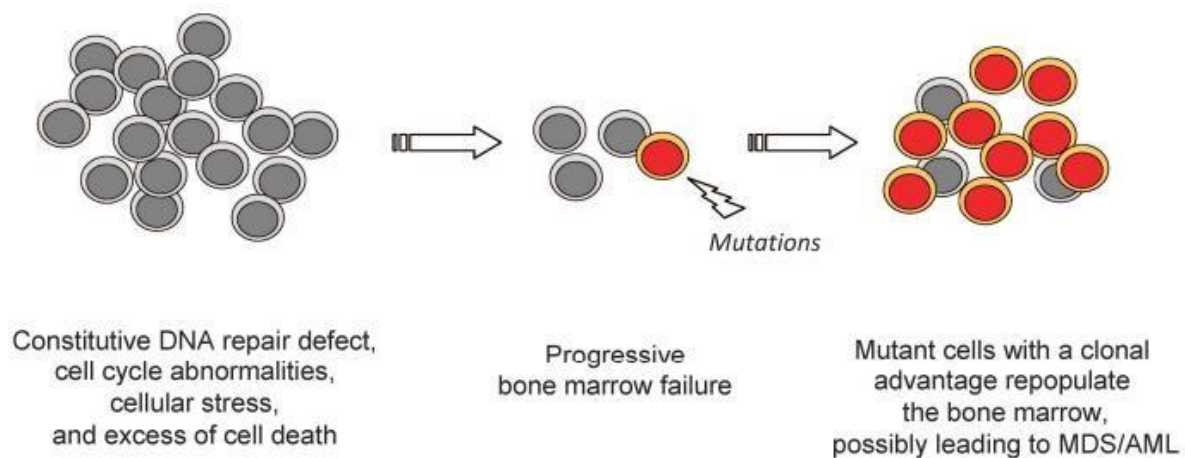
linfoides que en algunos casos aparecen formando pequeños agregados cuya presencia ha sido relacionada con un peor pronóstico (Acevedo, 1993).

El fallo medular primario puede ocurrir a edad temprana, o más adelante en el transcurso de la vida, como manifestación de varios síndromes **hereditarios** o bien puede ser **adquirido** en cualquier momento de la vida, clasificándose así en hereditarios o adquiridos (Elena, 2017). La anemia de Fanconi es la patología más frecuente de falla medular por causas hereditarias.

Las citopenias en los pacientes con AF justifican un examen de laboratorio completo para eliminar otras causas tratables distintas de la insuficiencia medular primaria.

Parámetro	Leve	Moderado	Grave
Neutrófilos absolutos	<1500/mm <sup>3</sup>	<1000/mm <sup>3</sup>	<500/mm <sup>3</sup>
Plaquetas	150,000-50,000 mm <sup>3</sup>	<50000/mm <sup>3</sup>	<30,000/mm <sup>3</sup>
Hb	≥8g/L	<8g/L	<8g/L

**Tabla 5. Clasificación de la insuficiencia de médula ósea por grado de citopenia y hemoglobina (Shimamura, 2002).**



**Figura 27. Evolución clonal espontánea frecuente en la médula ósea de AF (Soulier, 2011).**



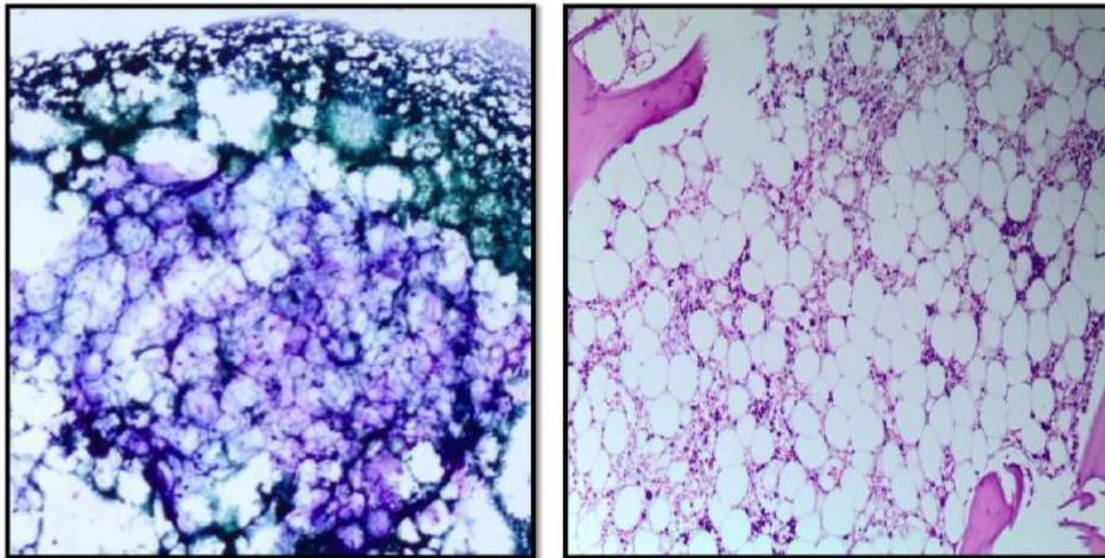
Los pacientes con AF tienen una disfunción hematopoyética acumulativa, es decir, que la médula pierde la capacidad de generar células sanguíneas que va empeorando con el tiempo, probablemente relacionada con un exceso de inestabilidad genética, estrés celular, activación de p53 y muerte celular. Esta disfunción se demuestra intrínseca, por la excelente eficacia del trasplante alogénico de células hematopoyéticas en esta población.

En tal antecedente de hematopoyesis deficiente, las células AF de la médula ósea experimentan una fuerte presión selectiva hacia la evolución clonal, es decir, los cambios genéticos en las células, que llevan a mutaciones en el clon original y a la aparición de otros nuevos y es probablemente favorecida por la inestabilidad cromosómica constitutiva, incluso puede existir un cierto grado de diseritropoyesis (término empleado para referirse a alteraciones en la serie roja), constante en la AF, pero esta no se considera parte del criterio para el SMD. La mielodisplasia y las células de leucemia mieloide aguda (LMA) han experimentado una evolución genética clonal (Soulier, 2011).

La AF debe ser planteada como una enfermedad crónica enfocada a la vigilancia principalmente del tejido hematopoyético sin descuidar las demás morbilidades asociadas. El curso natural de la enfermedad incluye un estado libre de alteraciones hematológicas, un estado preclínico con signos de la enfermedad, un estado con signos y síntomas y finalmente el proceso hacia la muerte, cada parte tienen periodos de transición. El promedio de vida en los pacientes con AF es de 23 años, el riesgo de muerte es de 81 % a los 40 años, la mayoría muere por la falla medular (Auerbach, 2009).

Los pacientes con AF enfrentan un elevado riesgo de contraer síndrome mielodisplásico (SMD) y leucemia mieloide aguda (LMA), se conocen mutaciones específicas relacionadas a la frecuencia de evolución clonal que desencadena estas enfermedades a consecuencia de la fragilidad cromosómica (Barber, 2003 y Nuñez, 2012). Clínicamente, los pacientes con AF experimentan SMD y LMA con la mayor frecuencia durante su adolescencia o juventud. Estas enfermedades son a menudo, pero no siempre, precedidas por una fase hipoplásica o aplásica (Soulier, 2011). Aproximadamente el 75% al 90% de los pacientes con AF presentan insuficiencia en la médula ósea, de leve a grave durante la primera década de vida (Torres, 2016). Los pacientes deben ser supervisados muy estrechamente para evaluar la posible aparición de SMD o de leucemia y para identificar la presencia de anomalías citogenéticas que puedan justificar una intervención inmediata.

Anualmente deberá realizarse una aspiración de médula ósea con o sin biopsia para comparar la médula con las muestras anteriores del paciente. El SMD en AF a menudo se presenta como citopenia refractaria con displasia multilineaje (Norris, 2008), con o sin exceso de blastos (Soulier, 2011).

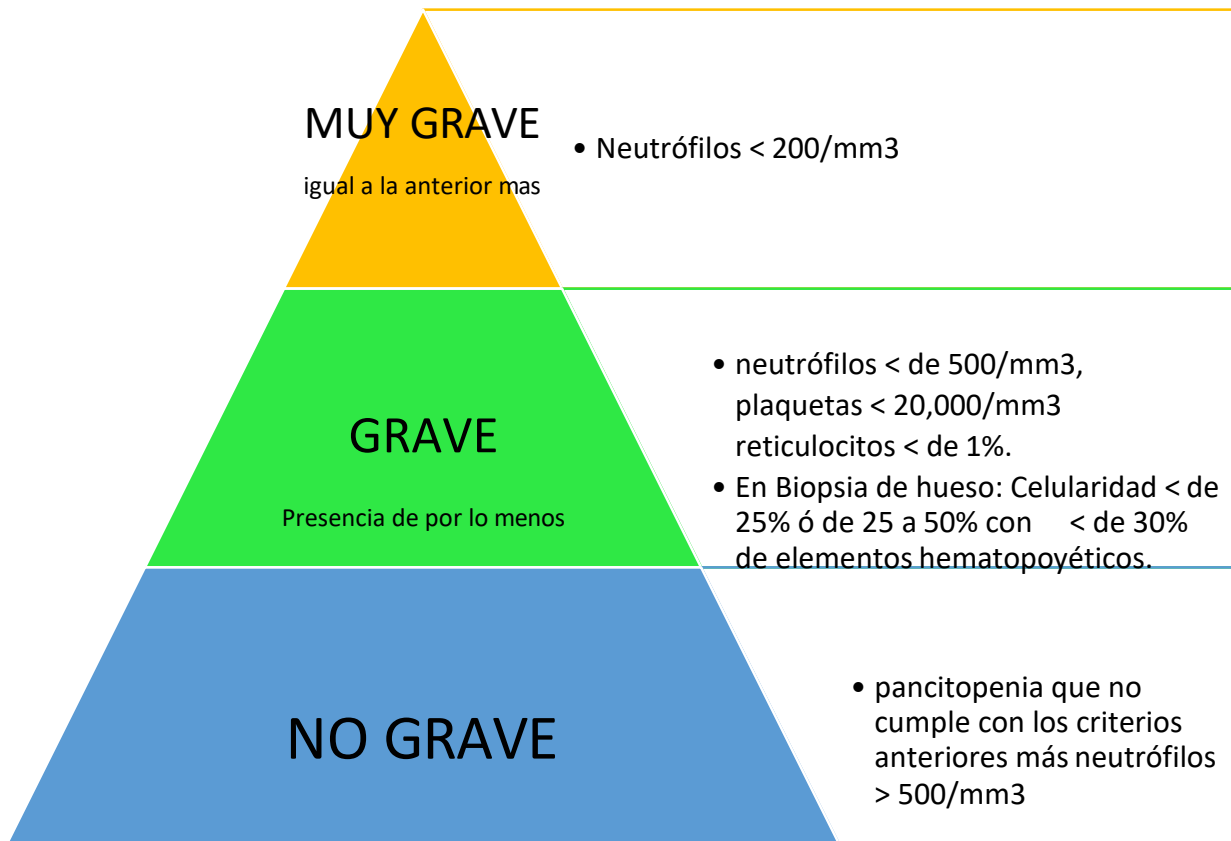


***Imagen 28. Hipoplasia medular en aspirado de médula ósea y de biopsia de médula ósea respectivamente (Al-Doski, 2018).***

Se recomienda la tipificación HLA de alta resolución temprana del paciente y de la familia cercana para evaluar la disponibilidad de donantes de médula ósea potenciales por si fuera necesario un trasplante.

### 3.2.1 Criterios Diagnósticos para la clasificación de anemia aplásica

La anemia aplásica es el síndrome en el que hay pancitopenia debida a una disminución de la hematopoyesis en la médula ósea; el hemograma muestra pancitopenia, con anemia normocítica o macrocítica, y el resto de las series, aunque disminuidas, no muestran alteraciones morfológicas. A continuación, se describe la clasificación de la anemia aplásica en un esquema para complementar lo descrito por Shimamura, agregando la categoría de mayor gravedad.



(Camitta, 1976)

Se debe considerar el diagnóstico de anemia de Fanconi en cualquier caso de aplasia medular, también existen casos en los que se ha sugerido considerar una macrocitosis inexplicada durante la infancia como para sospechar de anemia de Fanconi (Aslan, 2017).

En un estudio realizado en la ciudad de México se encontró que las características hematológicas coinciden con las reportadas anteriormente. Se encuentra que el 100% de los pacientes cursaron con compromiso nutricional al momento del diagnóstico, así como también un 22% se acompañó de retraso en el desarrollo psicomotor. El 33% con alteraciones renales, siendo la principal ectopia renal (Torres, 2016).

La causa exacta de estos defectos hematopoyéticos no está clara, aunque evidencia creciente sugiere una intolerancia subyacente de las células hematopoyéticas de AF al estrés oxidativo (Kee, 2012).

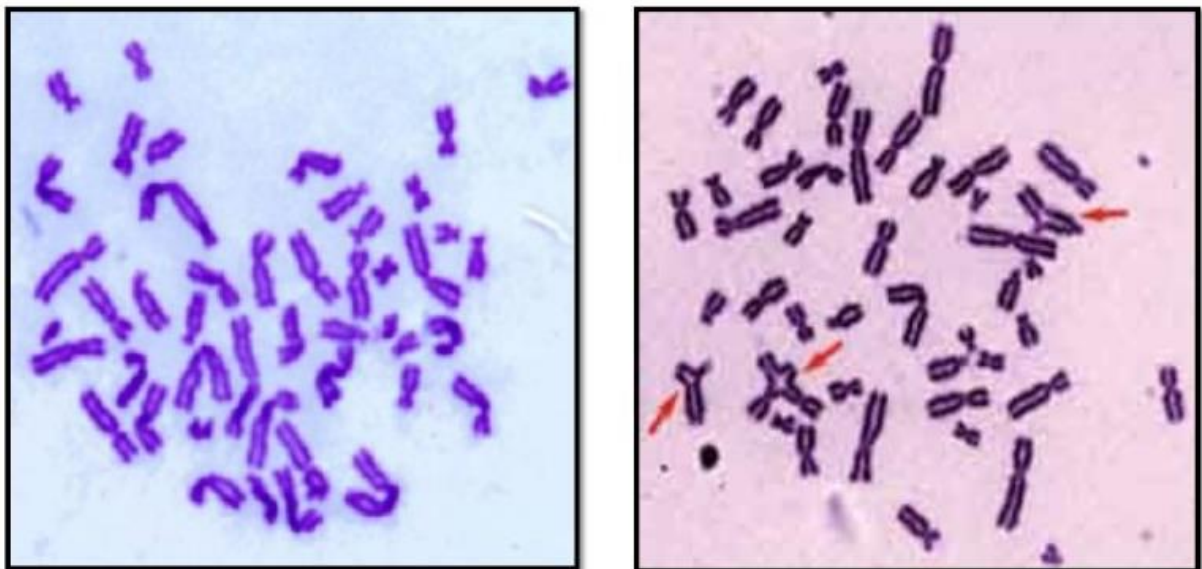
### 3.3 Citogenético

#### 3.3.1 Prueba de fragilidad cromosómica

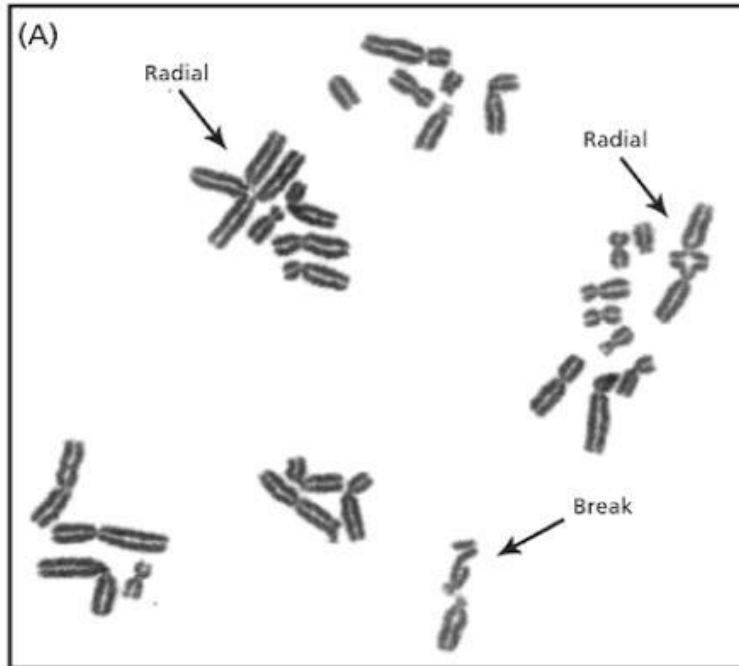
Esta prueba precede a una caracterización molecular, su uso continuo es consistente para poder involucrar a los genes de Fanconi (Shim, 2017). Uno de los rasgos característicos son los signos de rupturas cromosómicas espontáneas o inducidas por clastógenos como diepoxibutano, mitomicina C, cisplatino o mostaza nitrogenada (García, 2016). Estos estudios suelen realizarse sobre linfocitos de sangre periférica o fibroblastos de piel. Esta confirmación puede ser compleja debido al mosaicismosomático (Torres, 2016).

Se observa a la izquierda en la figura 29 un resultado negativo para ruptura cromosómica y positivo a la derecha, se indica con flechas rojas

La anemia de Fanconi y su diagnóstico están bien caracterizados por observación de la fragilidad cromosómica y aberraciones en las células de pacientes tratados con quimioterapia (Tan, 2017). Durante mucho tiempo estudios mencionan que la prueba con clastógenos para identificar a la fragilidad cromosómica ha sido muy útil para diferenciar a la AF de otros trastornos con hallazgos similares como la disqueratosis congénita.



**Figura 29. Prueba de sensibilidad a mitomicina C para fragilidad cromosómica en anemia de Fanconi, resultado positivo y negativo respectivamente (Al-doski, 2018).**



**Figura 30. Fenotipo celular de la AF (Erickson, 2016).**

Las aberraciones más frecuentes involucran pérdida del brazo largo del cromosoma 7 o del cromosoma completo (monosomía 7), ganancia del brazo largo del cromosoma 1, y ganancia del brazo largo del cromosoma 3 (Neveling, 2009).

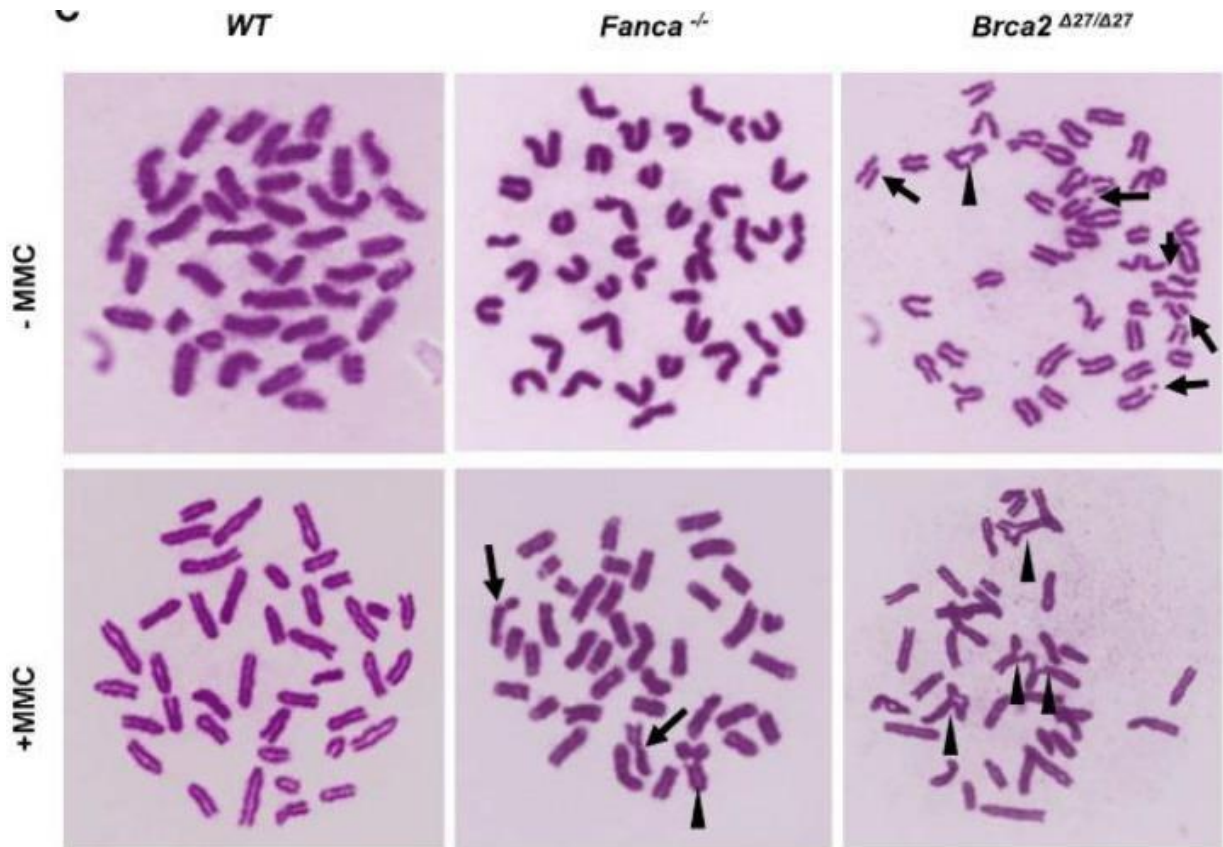
Una población de células revertidas (células con fenotipo normal) puede ser detectada en sangre periférica en cerca de 15 a 20% de los pacientes con anemia de Fanconi. Dicho mosaicismo es usualmente encontrado por la presencia de una población de células resistentes al daño del DNA durante el examen citogenético. En casos extremos, el diagnóstico de AF puede reportarse como un falso negativo, debido a dichas células que no presentan el fenotipo característico de la AF. Es importante hacer notar que los métodos de secuenciación masiva pueden ser alterados por este fenómeno. El tejido específico que sea empleado para la extracción de células y DNA es muy importante en el diagnóstico de AF. Si los exámenes de diagnóstico de la sangre no resultaran concluyentes, o incluso si fuese negativo, pero hay fuerte evidencia clínica de que el paciente podría tener AF, deberán obtenerse fibroblastos de la piel para exámenes más completos (Fanconi Anemia Research Fund, 2008).

Varios mecanismos de reversión han sido observados en células con mutaciones, incluyendo recombinación mitótica.

El mosaicismo ha sido asociado con un grado más suave de falla medular, incluso hay reportes de remisión hematológica completa debida a la reversión al nivel de las células madre. Esta reversión puede ocurrir más preferentemente en pacientes heterocigotos para mutaciones Fanconi y dependiendo de la línea celular, su cuadro clínico puede ralentizarse o mejorar (Gross, 2002).

Aproximadamente 10 a 20% de los pacientes con AF tienen una forma de mosaicismo en la cual los cultivos de fibroblastos muestran rupturas cromosómicas incrementadas, mientras que los linfocitos no. El porcentaje de células normales en la sangre de estos pacientes tiene un rango de entre 50% a 100% (Marsh, 2015). Como las células de la médula ósea están involucradas en el desarrollo de leucemia, su estado puede no ser generalizado por los resultados en los linfocitos.

El laboratorio debe también obtener medidas o una comparación de ruptura cromosómica basal mediante la evaluación de células que no han sido tratadas con MMC y / o DEB. Estos hallazgos pueden ayudar a guiar el seguimiento de las pruebas moleculares, pues la medida de fragilidad cromosómica puede variar marcadamente entre las mutaciones de diferentes grupos de complementación. Por ejemplo, pacientes con mutaciones en el gen FANCD1 tienen niveles más elevados de rupturas cromosómicas comparados con otros grupos de pacientes AF (Marsh, 2015).



**Figura 31. Fenotipo celular de células de tipo salvaje (WT) comparadas con las que tienen mutación en FANCA y BRCA2 expuestas a dosis de mitomicina C. (Navarro, 2006) Se señalan las anomalías provocadas en el cromosoma a diferentes dosis de MMC en células mutantes.**

### 3.4.2 Análisis por bandeado con Giemsa

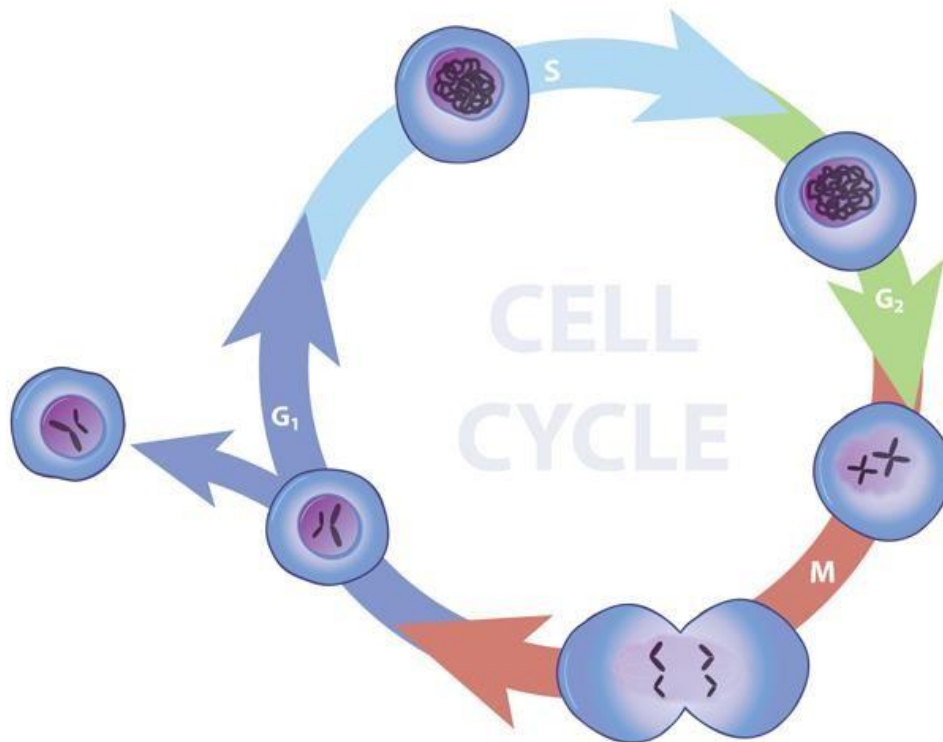
Siguiendo el diagnóstico de AF, los cromosomas de las células de la médula ósea de estos pacientes deben ser analizado usando el bandeado de Giemsa (esta técnica marca el cromosoma con bandas coloreadas y es utilizada para obtener el patrón único y característico de tinción en cada cromosoma) para determinar cuál clona con anomalías cromosómicas adquiridas está presente, y si lo está, caracterizar esas anomalías (Marsh, 2015).

Al menos 20 células diferentes en la metafase del ciclo celular deberían ser analizadas con la técnica mencionada, siguiendo después el procesamiento de células adicionales si es necesario.

- Los cromosomas de las células normales y anormales deben ser documentadas con cariogramas (imágenes digitales o fotografías de los cromosomas con cada par alineado en orden numérico hasta el XX o XY).
- Los resultados deben ser sintetizados usando la nomenclatura estándar encontrada en la versión más reciente del Estándar Internacional para Nomenclatura Citogenética (ISCN) (Slovak, 2013).

Aunque como ya se ha mencionado, la prueba de fragilidad cromosómica con DEB y MMC es la primera más utilizada, algunos laboratorios diagnostican AF midiendo la cinética del ciclo celular, en linfocitos tratados con un mitógeno y agentes inductores de ICLs. Los linfocitos normales (que no tienen ningún daño) van a progresar durante todas las fases normales del ciclo celular, (fases Gap1 (G1) → Síntesis (S) → Gap 2 (G2) → Mitosis (M)) sin algún retraso significativo. Por otro lado, las células que tienen daño en el DNA se detendrán en la fase G2 del ciclo para reparar el daño antes de progresar a M. Debido a que las células AF tienen más daño sin reparar después del tratamiento con agentes inductores de enlaces cruzados (ICLs), un elevado porcentaje de células (aproximadamente 40% o más) de pacientes con AF serán detenidas durante la fase G2 comparadas con las células de los pacientes sin AF (Marsh, 2015).





**Figura 32. Esquema del posicionamiento de los cromosomas en la célula durante las diferentes fases del ciclo celular (O'Connor, 2010)**

Además de las anomalías hematológicas y el aumento de la susceptibilidad al cáncer, los individuos con AF presentan otros problemas clínicos, como la pérdida y las anomalías auditivas, así como problemas de fertilidad.

La primera prueba que debe ser utilizada para diagnosticar AF es el de fragilidad cromosómica, la cual se realiza en una muestra de sangre de una paciente en un laboratorio de citogenética. Primero se cultivan linfocitos del paciente con una sustancia llamada mitógeno de células T, el cual estimula a estas células a dividirse. Seguido, este cultivo se trata con agentes que inducen los ICLs, los más utilizados son la mitomicina C (MMC) y el diepoxibutano (DEB) (Marsh, 2015).

### 3.5 Diagnóstico Prenatal

El diagnóstico prenatal está indicado en los embarazos en los que el feto tiene un riesgo del 25% de padecer la enfermedad. El consejo genético es la parte más importante de cualquier procedimiento de diagnóstico prenatal. La familia que tiene un miembro diagnosticado de AF debe conocer perfectamente el modo de herencia de la enfermedad y la posibilidad del diagnóstico prenatal con los riesgos que el procedimiento conlleva. El diagnóstico se realiza con los test de fragilidad cromosómica clásicos, realizados en muestras de vellosidades coriónicas, sangre umbilical percutánea o células fetales obtenidas por amniocentesis aproximadamente a partir de las 10-12 semanas de gestación o amniocentesis a las 16-18 semanas de gestación (Sagaseta, 2003).

La AF se puede relacionar con alteraciones en el crecimiento tanto prenatal como postnatal. Las medidas de talla, peso y circunferencia de la cabeza con pacientes AF en el IFAR está cerca al percentil 5, es decir que hasta 51% de los pacientes son pequeños para la edad gestacional (Wajnrach, 2001).

### 3.6 Diagnóstico Molecular

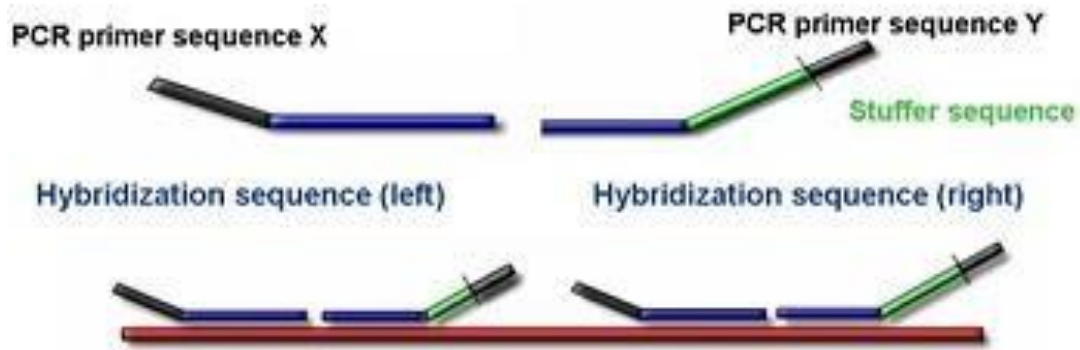
Para Determinar el gen responsable de la enfermedad de un paciente con AF, se debe realizar la caracterización del gen involucrado en la enfermedad. Este test es confirmatorio y sirve también para considerar nuevas opciones de tratamiento.

El diagnóstico de una predisposición a una malignidad hematológica genética nos proporciona información para las opciones terapéuticas, riesgo de complicaciones relacionadas al tratamiento, la selección de un donador de células madre hematopoyéticas, evaluación de comorbilidades, y estrategias de supervivencia para lograr una mejora clínica. Los síndromes de inestabilidad del genoma no reconocidos pueden impedir el tratamiento racional del cáncer, por mencionar un caso reportado en el que un paciente de 33 años tratado con quimioterapia, desencadenó mielotoxicidad fatal y se realizó el diagnóstico de AF post mortem debido a que presentaba características sospechosas (Engel, 2019).

La función de los genes de AF puede ser afectada por numerosos tipos de mutaciones deletéreas, tales como sustitución de pares de bases, deleciones pequeñas de sólo un par de bases, deleciones grandes que incluyen cientos de miles de pares de bases de DNA e inserciones. Varios de estos tipos de mutaciones tienen implicaciones para las pruebas que se realizan para diagnosticar la AF (Marsh, 2015).

La caracterización de los genes implicados en cada caso de anemia de Fanconi se puede realizar por técnicas de biología molecular, actualmente es muy utilizada la técnica MLPA (Amplificación de sondas dependientes de ligandos múltiples), técnica con la cual se pueden identificar y cuantificar mutaciones puntuales o aberraciones en genes completos. Consiste en hacer una amplificación por medio de PCR de los genes implicados con sondas específicas marcadas divididas en dos partes más una ligasa específica para la secuencia que se busca y se realiza una identificación por medio de electroforesis capilar y se comparan los resultados con un control para ver si la mutación se encuentra o no, y en caso de encontrarse si está en la cantidad normal o si hay copias de más (Ameziane, 2008).

## 1. Denaturation and Hybridization



## 2. Ligation

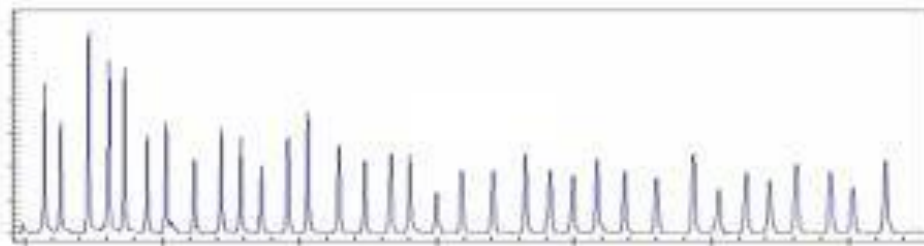


## 3. PCR with universal primers X and Y

exponential amplification of ligated probes only



## 4. Fragment analysis



**Figura 33. Esquema que explica el procedimiento multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) (Schouten, 2002).**

Las pruebas genéticas deben considerarse parte de la rutina para pacientes que son sospechosos de tener una neutropenia primaria después de que se descarten causas

adquiridas. La neutropenia persistente sin una causa aparente, historia familiar de leucemia mieloide aguda o de algún síndrome de neutropenia deben hacer considerar un síndrome hereditario (Furutani, 2019).

Estudios recientes han demostrado que la progresión clínica de la enfermedad puede ser influenciada por las variaciones inter- e intragénicas, enfatizando la importancia de identificar los grupos de complementación (Chandra, 2005). Se han utilizado virus como vectores en células in vitro para expresar y asociar genes con un fenotipo específico.

### 3.6.1 Opciones disponibles para diagnóstico molecular

En cerca del 10% de los pacientes afectados con AF el diagnóstico se retrasa hasta la adultez, y los síntomas presentes en estos casos “ocultos” de Anemia de Fanconi es a menudo tumores sólidos y la toxicidad relacionada al tratamiento del cáncer (Krausz, 2019).

La secuenciación de Sanger de genes individuales puede ser efectiva cuando se sospecha de un gen en particular, o cuando se ha realizado un *screening* en los familiares y se tiene alguna mutación conocida.

El análisis focalizado multiplexado con paneles de secuenciación de nueva generación (NGS) para los genes de neutropenia múltiple generalmente es rentable y eficiente debido a la gran variabilidad y la superposición en los fenotipos clínicos entre diferentes trastornos de neutropenia. Sin embargo, la utilidad de cualquier panel genético dirigido depende del conjunto específico de genes incluidos (que son variables entre paneles), la cobertura de las regiones codificantes y las regiones patógenas no codificantes, y el análisis posterior a la secuenciación.

Para aquellos pacientes en los cuales la o las causas genéticas no han sido identificadas por otros métodos como la secuenciación completa del exoma (WES) y secuenciación completa del genoma (WGS) pueden ser herramientas poderosas. En WES, los exomas son secuenciados usando técnicas de nueva generación que pueden identificar mutaciones en genes RNA codificantes y no codificantes (Furutani, 2019), pero la cobertura de los genes deseados puede ser variable (Krausz, 2019). La secuenciación masiva del exoma no sólo plantea una forma más rápida y eficaz para el subtipaje de los pacientes AF, sino que permite descartar diferentes genes AF e identificar nuevos genes AF a partir de una muestra de DNA.

La secuenciación completa del genoma (WGS) es frecuentemente realizada en laboratorios de investigación y puede evaluar el contenido no exónico perdido por WES, o las variantes no codificantes como las mutaciones no intrónicas y mutaciones en regiones de promotores y potenciadoras.

Estas dos últimas técnicas mencionadas son muy útiles para identificar mutaciones poco frecuentes.

La llegada de la técnica PCR (reacción en cadena de la polimerasa) ha presentado la oportunidad de un diagnóstico genético en la preimplantación combinada (Verlinsky, 2001).

Secuenciar una tríada (madre, padre y el probando afectado), y/o a un familiar adicional afectado o no afectado puede ser útil para determinar cuál de las variantes coincide con el fenotipo clínico, aunque si se encuentra una penetrancia variable (variación del tipo y severidad de las manifestaciones clínicas), puede haber confusión en el análisis (Futurani, 2019).

Los análisis de microarreglos cromosómicos (CMA) es otra técnica que puede ser usada como primera estrategia para identificar deleciones y duplicaciones en los genes relacionados a Anemia de Fanconi. Hay varios tipos de microarreglos disponibles, dos de los cuales nos referimos comúnmente como arreglo de comparación genómica (aCGH) o SNP (polimorfismo de nucleótido simple). Similar a los NGS (*next generation sequencing* o secuenciación masiva paralela) los microarreglos pueden ser dirigidos para detección de deleciones y duplicaciones (variantes en números de copia [CNV] o aberraciones en número de copias [CNA]) con un conjunto de genes conocidos, o pueden ser diseñados para detectar estos CAN en cualquier sitio del genoma. Tiene alta sensibilidad y es capaz de detectar cambios tan pequeños de hasta 5-10 Kb de tamaño, y una resolución 1000 veces mayor a la que se consigue en un cariotipo convencional (Batzir, 2015). La técnica CMA puede ser aplicada al diagnóstico prenatal o postnatal con beneficios únicos (Marsh, 2009).

Las amplificaciones de sondas dependiente de ligandos múltiples (MLPA) es un análisis relativamente simple basado en el método de PCR para detectar cambios en el número de copias del DNA cromosomal en múltiples objetivos, la amplificación en una sonda es dependiente de el paso de ligación, el cual puede ocurrir si el DNA objetivo está presente en la muestra. Para una secuencia corta de DNA, dos sondas adyacentes son diseñadas para tener la secuencia *primer directa* y *reversa* respectivamente (Hogervorst, 2003).

Entre otras pruebas encontramos al test de complementación retroviral, donde, la combinación del análisis por inmunoblot y la corrección fenotípica de células AF mediada por retrovirus, permite lograr un método rápido de clasificación (Pulsipher, 1988). La prueba de complementación, también llamado test cis-trans, sirve para determinar cuáles dos mutaciones están asociadas al fenotipo presente en dos diferentes formas del mismo gen (alelos) o si son variaciones de dos diferentes genes. La prueba de complementación es relevante para genes recesivos, que causa la expresión del rasgo recesivo, y esta prueba también puede determinar cuál de los rasgos recesivos se expresarán en la siguiente generación.

### 3.7 Nuevas perspectivas de diagnóstico

Los estudios de proteómica cuantitativa combinada con análisis bioinformáticos son útiles para la identificación de biomarcadores proteicos y vías asociadas a la anemia de Fanconi y Anemia aplásica. Algunas proteínas expresadas diferencialmente (DEPs) es decir expresadas en diferentes condiciones para ser estudiadas, son críticas como ENO1, PGK1, ACTC1, ACTLB2, EEF1A1, y CFL1, pues muy probablemente cumplen papeles importantes en AF y pueden ser utilizadas como marcadores para diagnóstico temprano y para distinguir la anemia de Fanconi de la Anemia aplásica adquirida (Hou, 2018).

## 4. Tratamiento

El tratamiento para pacientes con anemia de Fanconi va a depender del cuadro clínico que presenta cada paciente, pues debemos recordar que existen diferentes fenotipos afectando diferentes órganos y tejidos dependiendo de las mutaciones en el paciente. Algunos pacientes presentan signos de falla medular desde la infancia y muchos en otras etapas de la vida incluso en la adultez. En cambio, hay casos en los que el primer signo es la aparición de algún tumor sólido en la adultez, anomalías renales o problemas de fertilidad.

El tratamiento de la anemia de Fanconi se dirige principalmente al fallo medular, constatándose respuestas temporales a factores de crecimiento (eritropoyetina [EPO], factor estimulante de colonias de granulocitos [G-CSF] o andrógenos). Sin embargo, el tratamiento potencialmente curativo es el trasplante alogénico de médula ósea de

donantes familiares o no emparentados HLA idénticos, empleando regímenes de acondicionamiento con dosis reducidas de quimio o radioterapia. Sin embargo, esto no corrige la elevada propensión de desarrollar neoplasias en otros órganos y tejidos. Nuevos avances terapéuticos incluyen la selección genética de donantes familiares para trasplante alogénico y la terapia génica (López, 2004).

El manejo sintomático de la pancitopenia en los niños con anemia de Fanconi es semejante al que se utiliza en niños con anemia aplásica adquirida e incluye transfusión de eritrocitos y plaquetas cuando se encuentran indicados (Giler, 2007). El trasplante de médula ósea para pacientes con un donador con HLA idéntico de un hermano ha sido durante mucho tiempo muy útil y disminuye la fatalidad en estos pacientes. Sin embargo, en varios casos la muerte es causada por el rechazo del trasplante. La enfermedad de injerto contra huésped (GvHD) es una complicación grave asociada con los trasplantes alogénicos (Jensen, 2019).

## 4.1 Actuales

### 4.1.1 Trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH)

En la naturaleza, pueden pasar tres cosas a las células progenitoras hematopoyéticas con anemia de Fanconi, y dos de ellas son indeseables. Las células hematopoyéticas progenitoras llevan un buen camino algunas veces. Aquí, una sola célula de Fanconi puede mutar de una forma que cause reversión de la mutación de uno de los alelos de Fanconi (mosaicismo). En algunos casos este mosaicismo ocurre in útero, y la progenie de la célula madre mutante reemplaza el sistema hematopoyético entero en gemelos (Bagby, 2018). Lo otro que puede pasar es la muerte de las células progenitoras que lleva finalmente a la falla medular, la cual es la complicación más común en la vida temprana de los pacientes con anemia de Fanconi. Las células neoplásicas pueden mutar de forma que se vuelven resistentes a factores que antes las mantenían controladas, lo cual las hace abrirse paso en la médula.

Trasplante de células progenitoras hemapoyéticas (TCPH) de donante relacionado: tratamiento de primera línea en:

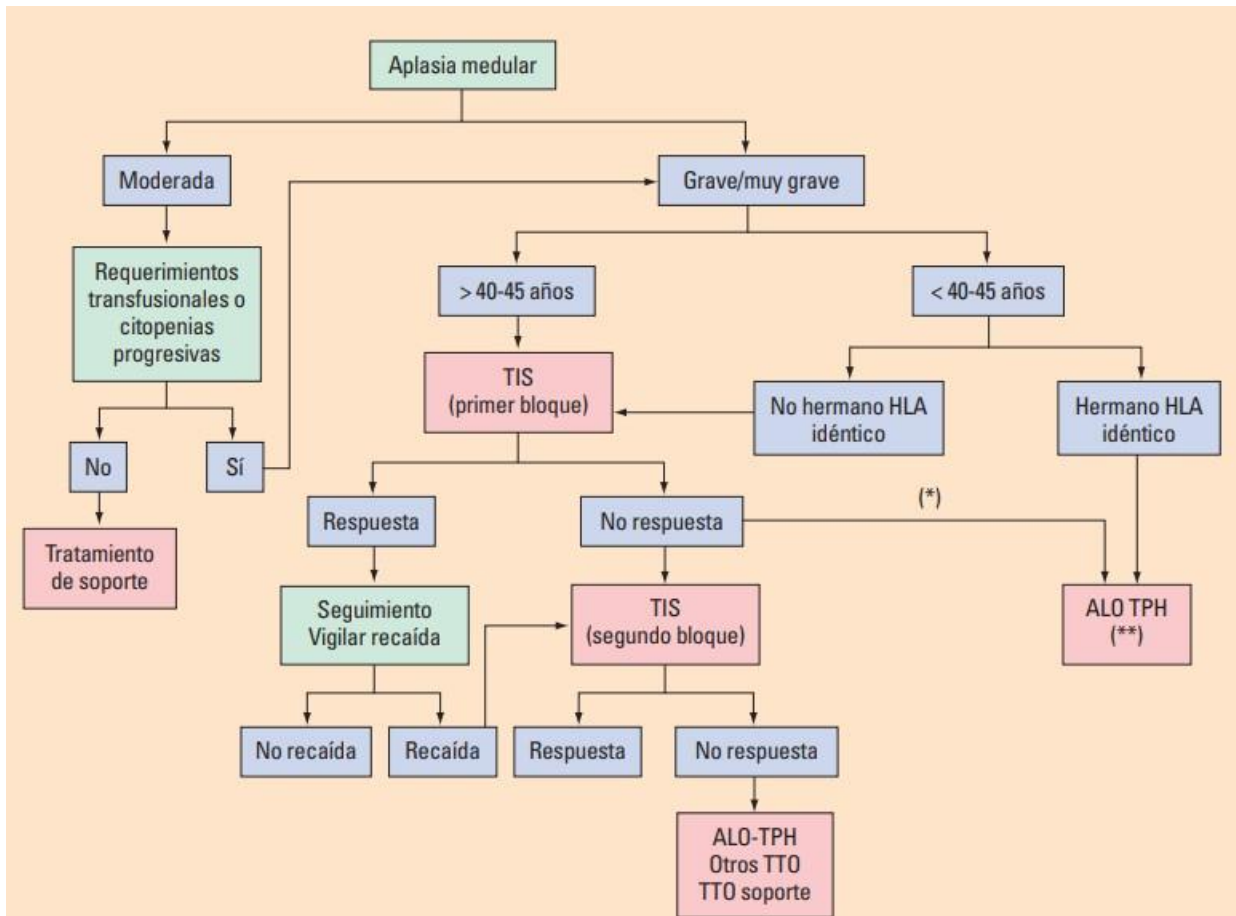
- Pacientes pediátricos o adultos hasta 50 años



- Ausencia de comorbilidades significativas
- Presencia de un donante familiar histoiéntico
- Tratamiento inmunosupresor (IS): en pacientes sin indicación de TCPH o que no cuenten con donante histoiéntico relacionado.

(Elena, 2017)

Conseguir un donante de médula ósea compatible es difícil, además de que requiere tiempo que puede ser vital para el paciente, una vez que se realiza el trasplante es necesario llevar a cabo un seguimiento de su salud, complementando con otras terapias para tratar los síntomas y malestares que pueda desarrollar. Por otro lado, se ha reportado que los pacientes que son trasplantados son más propensos a desarrollar otros tumores sólidos en diferentes tejidos. Los pacientes que reciben muchas transfusiones de glóbulos rojos afrontan el riesgo de acumular niveles de hierro tóxicos. El hígado, el corazón y los órganos endocrinos son sitios primarios para la acumulación de hierro, de la que podría resultar daños a los órganos receptores (es decir, cirrosis hepática, paro cardíaco o disfunción endocrina).



**Figura 34. Algoritmo de tratamiento de la aplasia medular (Nuñez, 2012).**

El trasplante de médula ósea en niños con anemia de Fanconi ofrece la única posibilidad de curación de la anemia aplásica. Sin embargo, existe el riesgo de que el tratamiento quimioterapéutico y/o la radiación puedan acelerar el desarrollo de neoplasias secundarias en estos pacientes (Giler, 2007). La terapia citotóxica de dosis alta utilizada en el TCPH se asocia con tumores malignos secundarios en la población sana, aunque puede que la inestabilidad cromosómica subyacente de la AF desempeñe el papel más importante en el desarrollo de tumores sólidos que el trasplante de células hematopoyéticas (Kutler, 2003). Además, los pacientes con AF tienen una función inmunitaria normal después del trasplante y tienen el potencial de mejorar la vigilancia inmunológica. Sin embargo, se requieren más estudios que evalúen el papel del TCPH en el desarrollo del cáncer en la AF.

El trasplante de células del cordón umbilical y de médula ósea HLA compatible se ha mantenido siendo la única opción curativa, sin embargo, sólo aproximadamente un tercio

de los pacientes tienen la posibilidad de encontrar un donador HLA compatible (Pulliam, 2008). La movilización de las células hematopoyéticas adecuadas en pacientes AF es un prerrequisito clave para una colección no invasiva.

#### 4.1.2 Manejo de neoplasias asociadas a anemia de Fanconi

La quimioterapia convencional no solo tiene el potencial para causar daño al DNA, también puede conducir a una morbilidad y mortalidad considerable en ésta frágil población. La azacitidina (HCT) es la terapia definitiva para pacientes con anemia de Fanconi y leucemia mieloide aguda. Los agentes citotóxicos convencionales causan un daño potencial al DNA, y actualmente, no se ha establecido un régimen para estos pacientes antes de la azacitidina. En pacientes con anemia de Fanconi la azacitidina puede ser considerada una alternativa a la quimioterapia convencional (Ding, 2017).

Tipo de compuesto	Mostaza nitrogenada	Compuestos de platino	Nitrosoureas	Mitomicina C	Psoralens
Ejemplo de compuesto	HN <sub>2</sub> , Melfalalan, clorambucil	Cisplatina, carboplatina	BCNU, carmustina	MMC	Psoralen, 8-metoxipsoralen
Secuencias entrecruzadas (ICLs)	5'-GNC-3' 3'-CNG-5'	5'-GC-3' 3'-CG-5'	5'-G-3' 3'-C-3'	5'-CG-3' 3'-GC-5'	5'TA-3' 3'-AT-5'
Distorsion	Variable	Mayor, dobleces	Desconocida	Modesta	Mayor, sin dobleces
Fraccion de ICLs (%)	1-5	2-5	3-8	5-13	Más de 40
Otras lesiones mayores	Mono-aductos	entrecruzamientos internos	Mono-aductos, entrecruzamientos	Monoaductos, ROS	Mono-aductos
Usos quimioterapéuticos	Tumores linfoides	Ovario, testículo, pulmón	Glioblastoma	Gatointestinal, seno, vejiga	Vitiligo, psoriasis, linfoma cutáneo

**Tabla 6. Propiedades de diferentes clases de agentes que provocan entrecruzamientos en el DNA (Wang, 2010).**

En la tabla 6 se resumen las características de algunos de los agentes utilizados en la terapia del cáncer y/o para estudios experimentales de ICL. Las diferentes fuentes de reticulación producen diferentes rangos de estructuras de DNA aberrantes de las cuales las ICL siempre componen la fracción menos abundante (Wang, 2010).

La anemia de Fanconi está asociada a un riesgo incrementado de desarrollar Cáncer de cabeza y cuello escamoso (HNSCC) y presenta un dilema en el tratamiento debido a la toxicidad incrementada de la quimioterapia y radioterapia (Wang, 2010).

El tratamiento con supresión inmune y trasplante de médula ósea ha mejorado las tasas de mejora y la supervivencia de pacientes con anemia aplásica. La medición de la respuesta requiere puntos finales que se guarden a puntos específicos. No ha habido actualizaciones en estos parámetros en pacientes con anemia aplásica.

Se recomienda la tipificación ALH (Antígenos leucocitarios humanos) de alta resolución temprana del paciente y de la familia cercana para evaluar la disponibilidad de donantes de médula ósea potenciales por si fuera necesario un trasplante.

En una proporción de pacientes con desórdenes no malignos a los que les han realizado donación de células hematopoyéticas se ha encontrado un “quimerismo mixto” (MC) que es la presencia simultánea de las células derivadas de las células hematopoyéticas tanto del paciente como del donador. En los pacientes AF, el MC podría tener implicaciones únicas y la existencia persistente de células AF representa un dilema en el manejo de estos pacientes, pues las células AF que persisten podrían teóricamente evolucionar a en una clona maligna. Finalmente, en un estudio se concluye que el quimerismo combinado en pacientes AF no parece tener un efecto adverso al finalizar su seguimiento (Ayas, 2018).

De cualquier modo, la existencia de una población de células sanas ha sido asociada con un riesgo incrementado de falla de injerto en el trasplante de médula ósea. Los linfocitos revertidos son más resistentes al régimen usado en AF y pueden sobrevivir al rechazo inmunológico de la médula ósea (MacMillan, 2000).

### 4.1.3 Manejo farmacológico

Habitualmente se usa la oximetolona. Aunque hay datos de mejora en los pacientes tratados con este fármaco, la oximetolona tiene efectos secundarios que resultan más molestos en niñas y mujeres, por lo que se llega a usar también el danazol que supone menos efectos masculinizantes. También se llevan a cabo ensayos con otros andrógenos como la oxandrolona. Hay que mencionar que estos tratamientos se relacionan con problemas de hepatotoxicidad que pueden llegar a ser graves (Tan, 2017). También se llega a utilizar la ciclofosfamida de forma complementaria.

Los andrógenos (para promover la generación de glóbulos rojos) utilizados en la AF pueden afectar el crecimiento y la maduración ósea y alterar la altura del adulto. Aunque los andrógenos de baja dosis utilizados en el retraso constitucional mejoran el crecimiento, los andrógenos tienen el potencial de acelerar la maduración epifisaria (Petryk, 2015).

Algunos medicamentos (p. Ej., Corticosteroides para suprimir la enfermedad de injerto contra huésped) o la radioterapia utilizada durante el trasplante allogenico pueden afectar la función tiroidea o gonadal y afectar el crecimiento. Además, la irradiación corporal total utilizada en la preparación para trasplante allogenico afecta directamente el potencial de crecimiento de la columna vertebral (Petryk, 2015).

Desde que los pacientes con AF son hipersensibles a los agentes inductores de ICLs, requieren un régimen modificado previo al trasplante con una dosis de ciclofosfamida menor de lo usual o menor dosis de agentes quimioterapéuticos (Esmer, 2004).

El uso de la cafeína en células AF, aun cuando han sido tratadas previamente con MMC (mitomicina C), aumenta significativamente su supervivencia celular, lo cual sugiere que la falla en el evento de reparación de estas células puede definirse por un efecto en alguna vía bioquímica básica. Se piensa que la cafeína puede potenciar o proteger el daño cromosómico, según las condiciones de cultivo celular (Río, 2016).

### 4.1.4 Manejo de anomalías hormonales

La anemia de Fanconi frecuentemente se asocia con retraso del crecimiento. Se ha descrito la deficiencia de la hormona del crecimiento biológico, aislada o asociada con anomalías de tirotrópina, y síndrome de interrupción del tallo hipofisario en imágenes de

resonancia magnética de 5 pacientes con anemia de Fanconi. El tratamiento con hormona de crecimiento produjo un crecimiento de recuperación en todos los casos. La posibilidad de que la terapia de reemplazo de la hormona del crecimiento humano (GH) pueda aumentar el riesgo de recurrencia del cáncer en un niño que ha sido tratado previamente por un tumor cerebral o leucemia, o inducir cáncer de novo, ha preocupado a los pediatras durante varios años (Shalet, 1979).

En algunos casos no se ha encontrado ninguna evidencia de aceleración del crecimiento en respuesta al tratamiento a largo plazo con hormona de crecimiento (GH) y tampoco efecto sobre la anemia. La respuesta a la terapia con oximetolona ha sido mucho más sorprendente en la tasa de crecimiento, la función epifisaria y la mejora en los parámetros hematológicos (Gleadhill, 1975). Un estudio indica que aproximadamente el 44% de los pacientes presentan una respuesta anormal a el tratamiento con GH (Wajnrajch, 2001).

#### 4.1.5 Manejo de neoplasias asociadas a AF

El carcinoma de células escamosas de cabeza y cuello (HNSCC) es el cáncer sólido más común en estos pacientes, con un riesgo incrementado 700 veces. Una proporción considerable de pacientes es diagnosticada en etapas avanzadas de la enfermedad, los cuales son tratados con combinación de cirugía, radioterapia y cisplatina. Esta combinación es efectiva pero menos de la mitad de los pacientes llegan a curarse (Verhagen, 2018).

La prognosis y tratamiento terapéutico de la AF y anemia aplásica adquirida (AA) son diferentes, sin embargo, frecuentemente ocurre que el tratamiento es incorrecto o se atrasa porque los síntomas son muy similares a los de la anemia aplásica (Hou, 2018).

La introducción de fludarabina (Fludara) en los protocolos de trasplante de células madre hematopoyéticas de AF ha seguido produciendo mejorías dramáticas en los resultados de los pacientes. Como resultado de lo anterior, el trasplante de células madre entre donantes no relacionados o no compatibles es una opción de tratamiento muy real para cada vez un mayor número de pacientes con AF (Fanconi Anemia Research Fund, 2008).

El efecto principal de andrógeno-terapia consiste en aumentar la hemoglobina, aunque también puede mejorar el recuento de plaquetas. La andrógeno-terapia debe considerarse cuando la hemoglobina del paciente cae por debajo de los 8 g/dl o si el recuento de plaquetas es inferior a 30000/mm<sup>3</sup>. Puesto que no hay pruebas de que los andrógenos

puedan impedir la insuficiencia medular, el tratamiento se inicia cuando las citopenias descienden a niveles clínicamente significativos.

Se ha reportado un caso de reconstitución hematopoyética en un niño con AF severa tras recibir un trasplante de células crío preservadas del cordón umbilical de una hermana que mostró no ser afectada por la enfermedad mediante diagnóstico prenatal, teniendo un cariotipo normal y teniendo un HLA idéntico al del paciente. Se ha usado un proceso de “pretrasplante” desarrollado especialmente para el tratamiento de estos pacientes, esta técnica hace uso de la hipersensibilidad de las células anormales a los agentes alquilantes que “enganchan” el DNA y a la radiación (Eliane, 2011).

#### 4.1.6 Factor estimulante de colonias

Los factores de proliferación para las células madre hematopoyéticas solos o en combinación con andrógenos son beneficiosos en la mejora de las cuentas de neutrófilos en algunos pacientes. De cualquier modo, estos deben ser discontinuados si hay evidencia de evolución clonal. El Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) es una terapia aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) para la movilización de células madre hematopoyéticas (HSC) y células progenitoras para el trasplante autólogo en varias formas de manifestaciones clínicas (Pulliam, 2008).

Una movilización pobre de las células hematopoyéticas representa un riesgo para la recolección de las mismas durante la aféresis, por lo cual es importante asegurar la efectividad de los fármacos utilizados para este fin.

Ensayos previos en pacientes con AF usando una extendida administración de G-SCF moviliza un número limitado de células CD34. En un estudio se examinó cuantitativamente la capacidad repobladora de la médula ósea y la movilización en sangre periférica en células de tipo salvaje (WT o *wild type*) y AF singénicas de ratón. Como se esperaba, ambas células FANCA y FANCC tienen una disminución significativa en la repoblación de la médula ósea comparada con la capacidad repobladora de las células WT de ratón cuando se les administra AMD3100. La interacción entre el estroma de la médula ósea y las células hematopoyéticas mediado por CXCR4 (quimiocina tipo 4), juega un papel importante en la quimiotaxis de las HSC y su retención en la médula. AMD3100, un derivado bicíclico, es un antagonista competitivo de esta interacción (Pulliam,

2008). Actualmente ya se han reportado casos en los que el fármaco Perifloxor (nombre comercial para AMD3100) produce un incremento marcado de la movilización de las HSC, seguido de la recuperación exitosa del paciente 1 año después del trasplante (Nadeau, 2015).

Una limitante al aplicar esta tecnología en pacientes AF, es la inestabilidad del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) para movilizar números suficientes de células madre progenitoras de la médula ósea a la sangre periférica. Ya sea que el bajo número de células CD34+ es un resultado de hipoplasia medular o la inhabilidad del G-CSF para movilizar adecuadamente las células hematopoyéticas queda bien entendido

(Pulliam, 2008).

Se ha demostrado en un protocolo validado de transducción de G-CSF en células de ratones que después se trasplantan a los ratones con Anemia de Fanconi corrigen el fenotipo de células progenitoras cultivadas in vitro. Las células corregidas se abren camino entre las células enfermas en ratones inmunodeficientes, lo que da una nueva perspectiva terapéutica para los pacientes con anemia de Fanconi (Río, 2017).

También al estudiar el efecto del tratamiento con andrógenos, se ha observado que más del 75% de los pacientes presentan al inicio algún grado de mejoría hematológica: se incrementa la cifra de reticulocitos seguida del aumento de hemoglobina, leucocitos y plaquetas. Sin embargo, es muy difícil mantener una respuesta sostenida al tratamiento

(García, 2016).

En los cultivos celulares se constata una disminución de colonias formadores de unidades eritrocitarias (CFU-E) y colonias formadores de unidades granulocíticas y monocíticas (CFU-GM) como expresión de la alteración de ambas series eritropoyética y granulopoyética, anomalía de respuesta de CFU-GM por alteración en la célula madre pluripotencial, aumento en la producción de eritropoyetina (EPO) y aumento de Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) en relación con disminución de interleucina 6 (IL-6) (Sagaseta,

2003).

## 4.2 Nuevas perspectivas terapéuticas

Actualmente no hay tratamiento disponible o establecido para la cura de la enfermedad. Diferentes ensayos clínicos para AF están en proceso, enfocándose en las vías de



reparación del DNA, edición genética, desarrollo de antioxidantes, inhibición de la apoptosis reduciendo los valores de TNF $\alpha$  (Factor de necrosis tumoral alfa) y usando CRISPR (Siddiqui, 2019).

La caracterización genética de los pacientes con AF es esencial para desarrollar terapias, incluyendo el trasplante de células hematopoyética de algún hermano después de la selección embrional, terapia génica, o edición del genoma usando recombinación genética o nucleasas diseñadas (Bogliolo, 2015).

La terapia génica es parte de lo que se está estudiando como opción de tratamiento y se han hecho estudios in vitro y en animales.

#### 4.2.1 Terapia génica con vectores virales

Estudios clínicos y preclínicos sugieren que la terapia génica basada en la infusión de células madre hematopoyéticas previamente corregidas con vectores de lentivirus puede constituir una alternativa para tratar la anemia de Fanconi.

Estudios posteriores se han centrado la edición genética mediado por vectores retrovirales a las células hematopoyéticas para un efecto duradero y de larga duración de la reconstitución de genes en la población de células maduras. A pesar del gran éxito en la mejora de los fenotipos de enfermedades genéticas, el campo ha sido altamente desafiado por múltiples pacientes que desarrollan leucemia debido a la activación de oncogenes causada por elementos reguladores en los vectores retrovirales. En algunas enfermedades, la administración de genes por vectores retrovirales no es posible porque se requiere una expresión transgénica altamente regulada (Jensen, 2019). Por ejemplo, en un modelo de ratón con síndrome de hiper-inmunoglobulina M ligada al X la terapia génica retroviral causó un trastorno linfoproliferativo que probablemente se debió a una sobreexpresión no regulada del ligando CD40 (Brown, 1998).

Sin embargo, el nicho dañado en la médula ósea de los pacientes con AF podría representar un gran desafío en la recopilación y corrección genética de HSC autólogas y, hasta ahora, la terapia génica *ex vivo* con vectores retrovirales no ha sido exitosa (Rio, 2018).

Actualmente se busca una cura que pueda ser definitiva para corregir los defectos causados por las mutaciones en las células de Fanconi, por lo que se han llevado a cabo ensayos *in vitro* e *in vivo* en ratones para probar la terapia génica.

Un obstáculo importante es que se ha demostrado que la corrección de genes utilizando oligodesoxinucleótidos de cadena sencilla (ssODNs) como molde de reparación se produce a través de la vía de FA, y las frecuencias de edición de genes pueden estar altamente comprometidas en las células de estos pacientes (Jensen, 2019). El genotipo y/o transcriptoma de pacientes tienen un impacto profundo en la efectividad de los tratamientos de edición de genes y que los tratamientos adyuvantes para desviar las células hacia vías de reparación de AF podrían tener un valor terapéutico considerable

(Richardson, 2018).

Aunque estudios anteriores han demostrado la eficacia de los vectores retroviral y lentiviral para corregir el fenotipo hematopoyético en ratones con mutaciones en FANCA, hasta el momento no se han reportado beneficios clínicos en pacientes con AF tratados con terapia génica (González-Murillo, 2010). Experimentos *in vitro* y en modelos animales han mostrado que las células de tipo salvaje tienen un crecimiento selectivo sobre las células mutantes de AF (Navarro, 2006).

#### 4.2.2 Edición genética CRISPR/CAS9

Clustered Regulatory Interspaced Short Palindromic Repeats (CRISPR) es un sistema natural de inmunidad adaptativa de algunas bacterias. La secuencia de RNA reconoce específicamente una secuencia complementaria de DNA para que actúe la nucleasa Cas9 y haga cortes en el genoma. Este sistema se ha utilizado para manipular la edición genética de forma artificial en otros organismos con diferentes propósitos, una de las posibilidades es la terapia génica.

El requisito para una edición de genes eficiente es la introducción de una ruptura de doble cadena (*double strand break* o DSB) en el sitio deseado en el genoma. El sistema CRISPR/Cas ofrece varias ventajas sobre otras herramientas utilizadas anteriormente:

El sistema CRISPR / Cas es más fácil de usar, ya que el reconocimiento del objetivo se basa en el emparejamiento de bases de Watson-Crick entre el ARN y el DNA en lugar del reconocimiento de la proteína del DNA. Una advertencia general de los sistemas

CRISPR/Cas es que no pueden programarse para apuntar a todos los sitios en el genoma, sino que requieren un espaciador adyacente específico (PAM) para funcionar *upstream* del sitio PAM y la maquinaria de reparación de DNA celular. Luego repara la DSB, es ahí cuando tiene lugar la edición del gen real. La ruptura del dsDNA se puede reparar por una de las dos vías principales de reparación del DNA: la unión de extremos no homóloga (NHEJ) o la recombinación homóloga (HR), también conocida como reparación dirigida por homología o HDR. En NHEJ, los dos extremos del DNA se ligan en un proceso propenso a errores, lo que crea inserciones o eliminaciones (INDEL). En el reconocimiento de la PAM y la unión al objetivo, Cas9 se activa para dividir el DNA 3-4 nucleótidos de tamaño (nt) (Jensen, 2019).

En un estudio se muestra reparación funcional *in vitro* y que el análisis genómico puede mejorar el valor en el pronóstico de los biomarcadores genéticos. Se concluye que los defectos en la reparación son marcados y frecuentes en el cáncer de células escamosas de cara y cuello y están asociadas a la mejora clínica (Verhagen, 2019).

Análisis funcionales confirman la re-expresión de una nueva proteína FANCA funcional capaz de corregir el fenotipo de la anemia de Fanconi. Cabe destacar que el trasplante de células madre hematopoyéticas (después de ser editadas por recombinación homóloga) a ratones inmunodeficientes, mostraron que es factible la repoblación a largo término con nuevas células hematopoyéticas. Además, cuando las células hematopoyéticas de un paciente son marcadas por una nucleasa CRISPR/Cas9, se han podido identificar eventos de reparación por recombinación homóloga, mostrando una expansión *in vitro* de 50 veces más después de sólo nueve días de cultivo y el trasplante de cantidades limitadas de células AF hCD34+ en ratones mostraron también una remarcable expansión de células corregidas *in vivo* (Roman, 2018).

La molécula de RNA guía el complejo Cas9 al sitio genómico que requiere reparación. Aquí la nucleasa Cas9 produce un corte y se mueve al gen mutado que es entonces reemplazado por el DNA normal a través de reparación homóloga que inducen la formación de enlaces cruzados a radioterapia, mejoran la proliferación de células hematopoyéticas.

El reemplazo genómico mediado por Cas9 se puede separar en dos vías distintas según el tipo de plantilla utilizada para la reparación. Las DSB inducidos por Cas9 se pueden reparar utilizando eventos de reparación dependientes del donante o de unión final. Los

resultados de reemplazo de secuencia compiten con la unión final, cuyos resultados incluyen la reparación perfecta de la secuencia original, el reemplazo genético y la alteración genética (Richardson, 2018).

Una plataforma CRISPR recientemente desarrollada ha sido diseñada para dirigirse a ARNm en lugar de DNA (Cox, 2017).

#### **4.2.3 Nuevos tratamientos farmacológicos**

Este año ha sido aprobado por la FDA el fármaco RP-L102 (por Rocket Pharmaceuticals, Inc.) Para la terapia génica de anemia de Fanconi se le han otorgado las designaciones de terapia avanzada y medicina avanzada (RMAT) para RP-L102, una terapia génica basada en vectores lentivirales para el tratamiento de la anemia de Fanconi (P&T, 2019).

#### **4.2.4 Hallazgos en el metabolismo en Anemia de Fanconi para potenciales blancos terapéuticos**

Los hallazgos relacionados al metabolismo en AF sugieren una potencial estrategia en el manejo clínico de AF. En efecto, la fosfatasa alcalina sérica desempeña funciones regulatorias importantes en la presentación del antígeno y la activación de las células T, donde la oxidación de los ácidos grasos está implicada en el mantenimiento de las células madre (Degan, 2019).

Las células madre hematopoyéticas (HSC) prefieren utilizar la glucólisis anaeróbica en lugar de la respiración mitocondrial para la producción de energía (Li, 2019). Recientemente se ha descubierto que las HSC de anemia de Fanconi (FA) dependen más de la respiración mitocondrial en relación con la glucólisis en su estado de reposo para el metabolismo energético. Los resultados sugieren que la supresión glicolítica mediada por el eje metabólico p53-TIGAR puede desempeñar un papel compensatorio en una nueva comprensión de las diferencias metabólicas entre las HSC normales y enfermas que pueden ser valiosas para desarrollar mejores estrategias terapéuticas para enfermedades hematológicas como la falla medular con daño al DNA y la proliferación de leucemia (Li, 2019). La supresión glicolítica mediada por p53-TIGAR (TIGAR es una fructosa-bifosfatasa que activa p53, inhibiendo la expresión (Li, 2019).

La asociación entre el metabolismo lipídico alterado en AF también emerge en un estudio de la miRNoma de FA. Ambos miRNAs (miR-122 y miR-206) son regulados *downstream* en AF. Esto significa que las funciones de las que son responsables de controlar son reguladas “hacia arriba”. El estudio de las funciones reguladoras de miR-122 han recibido gran atención por su complejidad. Se ha mostrado que miR-122 es un regulador clave de colesterol y ácidos grasos, los resultados de su modulación en la homeostasis de lípidos y glucosa (Capelli, 2017).

La biosíntesis de glicofosfolípidos puede ser apuntada terapéuticamente por inhibidores específicos que pueden atenuar la capacidad invasiva de las células HNSCC (Degan, 2018).

Considerando el potencial regulatorio de los miRNA como supresores tumorales permitiendo la regulación de vías de señalización les hace una opción interesante como nuevos biofarmacéuticos en estudios preclínicos y ensayos clínicos (Degan, 2018).

Una elevación consistente de glicofosfolípidos y particularmente la acumulación de gangliosidos. Conversamente, la represión de esta clase de lípidos fue observada en la corrección genética de células HNSCC (carcinoma de células escamosas de cara y cuello) derivadas de pacientes AF. Estudios funcionales demuestran la regulación “hacia arriba” es requerida para la invasión de las células HNSCC conducida por los defectos de la vía AF. La motilidad de los queratinocitos no transformados en respuesta a la pérdida de la vía AF despliega una dependencia similar, esto soporta las funciones tempranas y tardías de la vía AF en controlar la invasión de los queratinocitos a través de la regulación lipídica (Zhao, 2018).

#### 4.2.5 RNA no codificantes que regulan la traducción de RNA mensajeros

Las células AF tratadas con C75 (Ácido 4-metilen-2-octil-5-oxotetra-hidrofuran-3-carboxílico) mostraron una reducción del 50% de Beta-cetoacil-ACP reductasa (KAR) y enoacilreductasa (ENR), y tanto el tratamiento con C75 como el A922500 dieron como resultado una disminución del 30% en el contenido de lípidos y un aumento del 70% en el contenido de AcCoA, lo que confirma que las células AF convirtieron el exceso de AcCoA en grasa ácidos, que luego se acumulan en LDs (cuerpos lipídicos) (Degan, 2019).

El complejo AF recombinante puede ser purificado de células de insectos usando baculovirus modificados (Tan, 2017).

## 5. Conclusiones

Entender la biología molecular de la anemia de Fanconi no solo ayuda en el diagnóstico y la intervención de los pacientes afectados, también nos provee de información de la hematopoyesis normal y cómo se puede dañar en pacientes con falla medular y cáncer asociado.

Los avances continuos en este tema nos ayudan a predecir o identificar aspectos relacionados al riesgo de cáncer y resultados terapéuticos.

La caracterización hematológica para el diagnóstica de la anemia de Fanconi es conocida actualmente y además contamos con información precisa sobre los mecanismos moleculares que fallan en los individuos cuando presentan mutaciones en la vía Fanconi y por lo tanto la enfermedad caracterizada como Anemia de Fanconi, por lo que también se han desarrollado nuevas técnicas de diagnóstico, y nuevas perspectivas de tratamientos.

## VI. Referencias consultadas

1. Acevedo, A., & de Anatomía Patológica, J. D. S. (1993). Patología de la médula ósea. Editorial El Ateneo.
2. Ahmed, M., & Dokal, I. (2009). Understanding aplastic anaemia/bone-marrow failure syndromes. *Paediatrics and Child Health*, 19(8), 351-357.
3. Al-Doski, A. A. (2018) Case series of Fanconi anemia in Hevi pediatric hospital-Duhok.
4. Albert, T. J., Molla, M. N., Muzny, D. M., Nazareth, L., Wheeler, D., Song, X., ... & Weinstock, G. M. (2007). Direct selection of human genomic loci by microarray hybridization. *Nature methods*, 4(11), 903.
5. Ali, A. M., Kirby, M., Jansen, M., Lach, F. P., Schulte, J., Singh, T. R., ... & Meetei, A. R. (2009). Identification and characterization of mutations in FANCL gene: A second case of Fanconi anemia belonging to FA-L complementation group. *Human mutation*, 30(7), E761-E770.

6. Alter, B. P., & Giri, N. (2016). Thinking of VACTERL-H? Rule out Fanconi Anemia according to PHENOS. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 170(6), 1520-1524.
7. Alter, B. P., & Rosenberg, P. S. (2013). VACTERL-H association and Fanconi anemia. *Molecular syndromology*, 4(1-2), 87-93.
8. Ameziane, N., Errami, A., Léveillé, F., Fontaine, C., de Vries, Y., van Spaendonk, R. M., ... & Joenje, H. (2008). Genetic subtyping of Fanconi anemia by comprehensive mutation screening. *Human mutation*, 29(1), 159-166.
9. Aslan, D., Karabacak, R. O., & Aslan, O. D. (2017). Maternal serum alpha-fetoprotein levels are normal in Fanconi anemia: Can it be a lack of postnatal inhibition of AFP gene resulting in the elevation? *Pediatric blood & cancer*, 64(4).
10. Aslan, D. (2017). Fanconi Anemia: A Rarely Considered Cause of Macrocytosis during Childhood. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 39(7), 570-572.
11. Auerbach, A. D. (2009). Fanconi anemia and its diagnosis. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 668(1-2), 4- 10.
12. Avila, Z. L. M. (1993). Anemia de Fanconi. (revisión bibliográfica). México, DF. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
13. Ayala, Z. C. (2017) Determinación de las modificaciones epigenéticas inducidas por enlaces cruzados, en células de Anemia de Fanconi A. (tesis). Ciudad de México: Instituto de Ciencias biomédicas.
14. Ayas, M., Siddiqui, K., Amao, A., Aljefri, A., Ahmari, A. A., Ghemlas, I. A., ... & Al-Seraihy, A. (2018). Does Mixed Chimerism after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation in Patients with Fanconi Anemia Impact on Outcome?.
15. Balajee, A. S., & Bohr, V. A. (2000). Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene*, 250(1-2), 15-30.
16. Bagby, G. (2018). Recent advances in understanding hematopoiesis in Fanconi Anemia. *F1000Research*, 7.
17. Barber, L. M., McGrath, H. E., Meyer, S., Will, A. M., Birch, J. M., Eden, O. B., & Taylor, G. M. (2003). Constitutional sequence variation in the Fanconi anaemia group C (FANCC) gene in childhood acute myeloid leukaemia. *British journal of haematology*, 121(1), 57-62.

18. Batzir, N. A., Shohat, M., & Maya, I. (2015). Chromosomal Microarray Analysis (CMA) a Clinical Diagnostic Tool in the Prenatal and Postnatal Settings. *Pediatric endocrinology reviews: PER*, 13(1), 448-454.
19. Bhattacharjee, S., & Nandi, S. (2017). DNA damage response and cancer therapeutics through the lens of the Fanconi Anemia DNA repair pathway. *Cell Communication and Signaling*, 15(1), 41.
20. Bogliolo, M., & Surralles, J. (2015). Fanconi anemia: a model disease for studies on human genetics and advanced therapeutics. *Current opinion in genetics & development*, 33, 32-40.
21. Borges, M. L., de Matos, R. R. C., Soares-Ventura, E. M., Leite, E. P., d Silva, M. O., Cornélio, M. T. N., ... & Marques-Salles, T. D. J. (2017). Molecular Cytogenetic Approach to Characterize Novel and Cryptic Chromosome Abnormalities in Childhood Myeloid Malignancies of Fanconi Anemia. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 39(2), e85-e91.
22. Brosh, R. M., Bellani, M., Liu, Y., & Seidman, M. M. (2017). Fanconi anemia: a DNA repair disorder characterized by accelerated decline of the hematopoietic stem cell compartment and other features of aging. *Ageing research reviews*, 33, 67-75.
23. Brown, M. P., Topham, D. J., Sangster, M. Y., Zhao, J., Flynn, K. J., Surman, S. L., ... & Brenner, M. K. (1998). Thymic lymphoproliferative disease after successful correction of CD40 ligand deficiency by gene transfer in mice. *Nature medicine*, 4(11), 1253
24. Bruun, D., Folias, A., Akkari, Y., Cox, Y., Olson, S., & Moses, R. (2003). siRNA depletion of BRCA1, but not BRCA2, causes increased genome instability in Fanconi anemia cells. *DNA repair*, 2(9), 1007-1013.
25. Butturini, A., Gale, R. P., Verlander, P. C., Adler-Brecher, B., Gillio, A. P., & Auerbach, A. D. (1994). Hematologic abnormalities in Fanconi anemia: an International Fanconi Anemia Registry study [see comments]. *Blood*, 84(5), 1650-1655.
26. Caldecott, K. W. (2001). Mammalian DNA single-strand break repair: an X-ra (y) ted affair. *Bioessays*.
27. Callén Moréu, E. (2005). *Genética y biología molecular de la anemia de Faconi*. Universitat Autònoma de Barcelona,



28. Camitta, B. M., Thomas, E. D., Nathan, D. G., Santos, G., Gordon-Smith, E. C., Gale, R. P., ... & Storb, R. (1976). Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality. *Blood*, 48(1), 63-70.
29. Cappelli, E., Cuccarolo, P., Stroppiana, G., Miano, M., Bottega, R., Cossu, V., ... & Ravera, S. (2017). Defects in mitochondrial energetic function compel Fanconi Anaemia cells to glycolytic metabolism. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1863(6), 1214-1221.
30. Cardona, Y. T., & Morales, M. A. M. (2014). PRINCIPALES MECANISMOS DE REPARACIÓN DE DAÑOS EN LA MOLÉCULA DE DNA.
31. Castilla-Cortazar, I., de Ita, J. R., Aguirre, G. A., Castorena-Torres, F., Ortiz-Urbina, J., García-Magariño, M.,... & Leal, M. I. E. (2017). Fanconi Anemia and Laron Syndrome. *The American journal of the medical sciences*, 353(5), 425-432.
32. Castori M. (2015). VACTERL Association. National Organization for Rare Disorders; <http://rarediseases.org/rare-diseases/vacterl-association/>.
33. Chandra, S., Levran, O., Jurickova, I., Maas, C., Kapur, R., Schindler, D., ... & Hanenberg, H. (2005). A rapid method for retrovirus-mediated identification of complementation groups in Fanconi anemia patients. *Molecular Therapy*, 12(5), 976-984.
34. Cheung, R. S., Castella, M., Abeyta, A., Gafken, P. R., Tucker, N., & Taniguchi, T. (2017). Ubiquitination-linked Phosphorylation of the FANCI S/TQ cluster contributes to activation of the Fanconi anemia I/D2 complex. *Cell reports*, 19(12), 2432-2440.
35. Cheung, R. S., & Taniguchi, T. (2017). Recent insights into the molecular basis of Fanconi anemia: genes, modifiers, and drivers. *International journal of hematology*, 106(3), 335-344.
36. Cipriani Thorne, E., Caballero, M., Cornejo, C., Toribio, J., Casas, J., Torres, A., & Chian, C. (2005). Caso Clínico en el Hospital Nacional Arzobispo Loayza. *Revista Médica Herediana*, 16(1), 58-64.
37. Clauson, C., Schärer, O. D., & Niedernhofer, L. (2013). Advances in understanding the complex mechanisms of DNA interstrand cross-link repair. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 5(10),
38. Cox, D. B., Gootenberg, J. S., Abudayyeh, O. O., Franklin, B., Kellner, M. J., Joung, J., & Zhang, F. (2017). RNA editing with CRISPR-Cas13. *Science*, 358(6366), 1019-1027.

39. Datta, A., & Brosh Jr, R. M. (2019). Holding All the Cards—How Fanconi Anemia Proteins Deal with Replication Stress and Preserve Genomic Stability. *Genes*, 10(2), 170.
40. Degan, P., Cappelli, E., Regis, S., & Ravera, S. (2019). New Insights and Perspectives in Fanconi Anemia Research. *Trends in molecular medicine*, 25(3), 167-170.
41. DiJulio, J. (1991, March). Hematopoiesis: an overview. In *Oncology nursing forum* (Vol. 18, No. 2 Suppl, pp. 3-6).
42. Ding, H., Hashem, H., Cabral, L., Rangarajan, H., Abusin, G., Lazarus, H. M., & Abu-Arja, R. (2017). Azacitidine as a bridge to allogeneic hematopoietic cell transplantation in a pediatric patient with Fanconi anemia and acute myeloid leukemia. *Pediatric transplantation*, 21(2).
43. Dong, H., Nebert, D. W., Bruford, E. A., Thompson, D. C., Joenje, H., & Vasiliou, V. (2015). Update of the human and mouse Fanconi anemia genes. *Human genomics*, 9(1), 32.
44. Du, W., Adam, Z., Rani, R., Zhang, X., & Pang, Q. (2008). Oxidative stress in Fanconi anemia hematopoiesis and disease progression. *Antioxidants & redox signaling*, 10(11), 1909-1921.
45. Eeles, R. A. (2000). Future possibilities in the prevention of breast cancer: intervention strategies in BRCA1 and BRCA2 mutation carriers. *Breast Cancer Research*, 2(4), 283.
46. Elena, G., Milovic, V., Ramos, A., Rossi, B. D. L. M., & Toullet, V. (2017). Síndrome de fallo medular. *Sociedad Argentina de Hematología: Guías de Diagnóstico y Tratamiento*, 306-13.
47. Eliane, G., Agnes, D., Helene, E., Dominique, T., Gerard, S., Pierre, L.,... & Judith, B. (2011). HEMATOPOIETIC RECONSTITUTION IN A PATIENT WITH FANCONI'S ANEMIA BY MEANS OF UMBILICAL-CORD BLOOD FROM AN HLA-IDENTICAL SIBLING (1989). *Cellular Therapy and Transplantation*, 2(3 (7)).
48. Engel, N. W., Schliffke, S., Schüller, U., Frenzel, C., Bokemeyer, C., Kubisch, C., & Lessel, D. (2019). Fatal myelotoxicity following palliative chemotherapy with cisplatin and gemcitabine in a patient with stage IV cholangiocarcinoma linked to post mortem diagnosis of Fanconi anemia. *Frontiers in Oncology*, 9, 420.

49. Erickson, R. P., & Wynshaw-Boris, A. J. (Eds.). (2016). *Epstein's Inborn Errors of Development: The Molecular Basis of Clinical Disorders of Morphogenesis*. Oxford University Press.
50. Esmer, C., Sánchez, S., Ramos, S., Molina, B., Frias, S., & Carnevale, A. (2004). DEB test for Fanconi anemia detection in patients with atypical phenotypes. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 124(1), 35-39.
51. Esteban-Jurado, C., Franch-Expósito, S., Muñoz, J., Ocaña, T., Carballal, S., López-Cerón, M., ... & Beltran, S. (2016). The Fanconi anemia DNA damage repair pathway in the spotlight for germline predisposition to colorectal cancer. *European Journal of Human Genetics*, 24(10), 1501-1505.
52. Falci, S. G. M., Corrêa-Faria, P., Tataounoff, J., Santos, C. R. R. D., & Marques, L. S. (2011). Fanconi's anemia in dentistry: a case report and brief literature review. *Revista Odonto Ciência*, 26(3), 272-276.
53. Fanconi Anemia Research Fund Inc. (2008) *Anemia de Fanconi: Lineamientos para diagnóstico y manejo*.
54. Faivre, L., Guardiola, P., Lewis, C., Dokal, I., Ebell, W., Zatterale, A., ... & van Weel-Sipman, M. (2000). Association of complementation group and mutation type with clinical outcome in Fanconi anemia. *Blood*, 96(13), 4064-4070.
55. Feng, L., & Jin, F. (2019) Expression and prognostic significance of Fanconi anemia group D2 protein and breast cancer type 1 susceptibility protein in familial and sporadic breast cancer. *Oncology Letters*.
56. Flores, M. G. (2017, November). Diagnóstico de citopenias. Algoritmo de estudio. In *Hematología: Volumen 21-Extraordinario XXIII Congreso Argentino (Vol. 5, p. 250)*. Sociedad Argentina de Hematología.
57. Fortini, P., Pascucci, B., Parlanti, E., D'errico, M., Simonelli, V., & Dogliotti, E. (2003). The base excision repair: mechanisms and its relevance for cancer susceptibility. *Biochimie*, 85(11), 1053-1071.
58. Freire, B. L., Homma, T. K., Funari, M. F., Lerario, A. M., Leal, A. M., Velloso, E. D., ... & Jorge, A. A. (2018). Homozygous loss of function BRCA1 variant causing a Fanconi-anemia-like phenotype, a clinical report and review of previous patients. *European journal of medical genetics*, 61(3), 130-133.
59. Furquim, C. P., Soares, G. M. S., Ribeiro, L. L., Azcarate-Peril, M. A., Butz, N., Roach, J., ... & Teles, F. R. F. (2017). The Salivary Microbiome and Oral Cancer Risk: A Pilot Study in Fanconi Anemia. *Journal of dental research*, 96(3), 292-299.

60. Furutani, E., Newburger, P. E., & Shimamura, A. (2019). Neutropenia in the age of genetic testing: Advances and challenges. *American journal of hematology*, 94(3), 384-393.
61. García-de Teresa, B., del Castillo, V., Molina, B., & Frías, S. (2012). Diagnóstico clínico y de laboratorio de la anemia de Fanconi. *Acta Pediátrica de México*, 33(1), 38-43.
62. García de Teresa, B., Rodríguez, A., & Frías, S. (2016). Estudio multidisciplinario del paciente con anemia de Fanconi. *Acta pediátrica de México*, 37(1), 54-59.
63. Garcia-Higuera, I., Taniguchi, T., Ganesan, S., Meyn, M. S., Timmers, C., Hejna, J., ... & D'Andrea, A. (2001). Interaction of the Fanconi anemia proteins and BRCA1 in a common pathway. *Molecular cell*, 7(2), 249-262.
64. Giampietro, P. F., Verlander, P. C., Davis, J. G., & Auerbach, A. D. (1997). Diagnosis of Fanconi anemia in patients without congenital malformations: an international Fanconi Anemia Registry Study. *American journal of medical genetics*, 68(1), 58-61.
65. Giler, R. V., Béjar, D. E., Giler, P. V., Pastor, D., & Maldonado, M. (2007). Anemia fanconi: evidencia de un caso. *Medicina*, 12(2), 151-155.
66. Giri, N., Batista, D. L., Alter, B. P., & Stratakis, C. A. (2007). Endocrine abnormalities in patients with Fanconi anemia. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 92(7), 2624-2631.
67. Gleadhill, V., Bridges, J. M., & Hadden, D. R. (1975). Fanconi's aplastic anaemia with short stature. Absence of response to human growth hormone. *Archives of disease in childhood*, 50(4), 318-320.
68. Gonzáles, G. M. Motivos de sospecha y retraso en el diagnóstico en el diagnóstico en pacientes con anemia de Fanconi. (tesis). Ciudad de México: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
69. Gross, M., Hanenberg, H., Lobitz, S., Friedl, R., Herterich, S., Dietrich, R., ... & Hoehn, H. (2002). Reverse mosaicism in Fanconi anemia: natural gene therapy via molecular self-correction. *Cytogenetic and genome research*, 98(2-3), 126-135.
70. Gueiderikh, A., Rosselli, F., & Neto, J. B. C. (2017). A never-ending story: the steadily growing family of the FA and FA-like genes. *Genetics and Molecular Biology*, 40(2), 398–407. doi:10.1590/1678-4685-gmb-2016-0213
71. Hirsch, B., Shimamura, A., Moreau, L., Baldinger, S., Hag-alshiekh, M., Bostrom, B., ... & D'Andrea, A. D. (2004). Association of biallelic BRCA2/FANCD1 mutations

- with spontaneous chromosomal instability and solid tumors of childhood. *Blood*, 103(7), 2554-2559.
72. Hogervorst, F. B., Nederlof, P. M., Gille, J. J., McElgunn, C. J., Grippeling, M., Pruntel, R., ... & Kluijt, I. (2003). Large genomic deletions and duplications in the BRCA1 gene identified by a novel quantitative method. *Cancer research*, 63(7), 1449-1453.
73. Hou, H., Lu, Q., Li, D., Wu, S., Chu, X., Xu, G., & Hu, S. (2018). Quantitative Proteomic Profiling Identifies Differentially Regulated Pathways in Fanconi Anemia and Aplastic Anemia.
74. Jensen, T. I., Axelgaard, E., & Bak, R. O. (2019). Therapeutic gene editing in haematological disorders with CRISPR/Cas9. *British journal of haematology*.
75. Johnson-Tesch, B. A., Gawande, R. S., Zhang, L., MacMillan, M. L., & Nascene, D. R. (2017). Fanconi anemia: correlating central nervous system malformations and genetic complementation groups. *Pediatric Radiology*, 47(7), 868-876.
76. Joo, W., Xu, G., Persky, N. S., Smogorzewska, A., Rudge, D. G., Buzovetsky, O., ... & Pavletich, N. P. (2011). Structure of the FANCI-FANCD2 complex: insights into the Fanconi anemia DNA repair pathway. *Science*, 333(6040), 312-316.
77. Kimble, D. C., Lach, F. P., Gregg, S. Q., Donovan, F. X., Flynn, E. K., Kamat, A., ... & Auerbach, A. D. (2018). A comprehensive approach to identification of pathogenic FANCA variants in Fanconi anemia patients and their families. *Human mutation*, 39(2), 237-254.
78. Kee, Y., & D'andrea, A. D. (2012). Molecular pathogenesis and clinical management of Fanconi anemia. *The Journal of clinical investigation*, 122(11),
79. Knies, K., Inano, S., Ramírez, M. J., Ishiai, M., Surrallés, J., Takata, M., & Schindler, D. (2017). Biallelic mutations in the ubiquitin ligase RFW3 cause Fanconi anemia. *The Journal of clinical investigation*, 127(8), 3013-3027.
80. Kojima, S., Hibi, S., Kosaka, Y., Yamamoto, M., Tsuchida, M., Mugishima, H., ... & Tsukimoto, I. (2000). Immunosuppressive therapy using antithymocyte globulin, cyclosporine, and danazol with or without human granulocyte colony-stimulating factor in children with acquired aplastic anemia. *Blood*, 96(6), 2049-2054.
81. Krausz, C., Riera-Escamilla, A., Chianese, C., Moreno-Mendoza, D., Ars, E., Rajmil, O., ... & Badell, I. (2019). From exome analysis in idiopathic azoospermia to the identification of a high-risk subgroup for occult Fanconi anemia. *Genetics in Medicine*, 21(1), 189.

82. Kutler, D. I., Singh, B., Satagopan, J., Batish, S. D., Berwick, M., Giampietro, P. F., ... & Auerbach, A. D. (2003). A 20-year perspective on the International Fanconi Anemia Registry (IFAR). *Blood*, 101(4), 1249-1256.
83. Li, N., Song, A., Ding, L., Zhu, H., Li, G., Miao, Y., ... & Chen, J. (2018). Novel Variations of FANCA Gene Provokes Fanconi Anemia: Molecular Diagnosis in a Special Chinese Family. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*.
84. Li, X., Wu, L., Zopp, M., Kopelov, S., & Du, W. (2019). p53-TIGAR axis-mediated glycolytic suppression attenuates DNA damage and genomic instability in Fanconi anemia hematopoietic stem cells. *STEM CELLS*
85. López, J. S., García, J. S., Gómez, A. T., & Castellano, J. M. G. (2004). Anemias arregenerativas. *Medicine: Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 9(20), 1251-1258.
86. López-Reyes EM. Los reticulocitos en la sangre humana (tesis). México, DF: Facultad de Ciencias Químicas y Físicas, Universidad Nacional Autónoma de México, 1939.
87. Lobitz, S., & Velleuer, E. (2006). Guido Fanconi (1892–1979): a jack of all trades. *Nature Reviews Cancer*, 6(11), 893.
88. Long, D. T., Räschle, M., Joukov, V., & Walter, J. C. (2011). Mechanism of RAD51-dependent DNA interstrand cross-link repair. *Science*, 333(6038), 84-87.
89. Longerich, S., Li, J., Xiong, Y., Sung, P., & Kupfer, G. M. (2014). Stress and DNA repair biology of the Fanconi anemia pathway. *Blood*, 124(18), 2812-2819.
90. MacMillan, M. L., Auerbach, A. D., Davies, S. M., Defor, T. E., Gillio, A., Giller, R., ... & Ramsay, N. K. C. (2000). Haematopoietic cell transplantation in patients with Fanconi anaemia using alternate donors: results of a total body irradiation dose escalation trial. *British journal of haematology*, 109(1), 121-129.
91. Marsh, J. C., Ball, S. E., Cavenagh, J., Darbyshire, P., Dokal, I., Gordon-Smith, E. C., ... & Killick, S. B. (2009). Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *British journal of haematology*, 147(1), 43-70.
92. Mamrak, N. E., Shimamura, A., & Howlett, N. G. (2017). Recent discoveries in the molecular pathogenesis of the inherited bone marrow failure syndrome Fanconi anemia. *Blood reviews*, 31(3), 93-99.
93. Martínez-Frías, M. L., Bermejo Sánchez, E., García García, A., Pérez Fernández, J. L., Cucalón Manzanos, F., Calvo Aguilar, M. J., & Ripalda Crespo, M. J. (1998).

- Estudio epidemiológico del síndrome de trombocitopenia con aplasia de radio (TAR) en España. *An Esp Pediatr*, 49, 619-623.
94. Mehta, P. A., Davies, S. M., Leemhuis, T., Myers, K., Kernan, N. A., Prockop, S. E., ... & Guinan, E. (2017). Radiation-free, alternative-donor HCT for Fanconi anemia patients: results from a prospective multi-institutional study. *Blood*, 129(16), 2308-2315.
95. Mouriquand, Pierre & Panait Nicoleta (2012); Renal fusions and ectopia. *Pediatric Surgery*. 122(7), 1405, 1410.
96. Myers, K. C., Sauter, S., Zhang, X., Bleesing, J. J., Davies, S. M., Wells, S. I., ... & Brown, D. (2017). Impaired immune function in children and adults with Fanconi anemia. *Pediatric Blood & Cancer*.
97. Nadeau, M., George, L., Yeager, A. M., Anwer, F., & McBride, A. (2015). Plerixafor as a salvage mobilization strategy for haploidentical peripheral blood allogeneic stem cell transplantation. *Clinical case reports*, 3(9), 728.
98. Näf, D., Kupfer, G. M., Suliman, A., Lambert, K., & D'Andrea, A. D. (1998). Functional activity of the Fanconi anemia protein FAA requires FAC binding and nuclear localization. *Molecular and Cellular Biology*, 18(10), 5952-5960.
99. Naim, V., & Rosselli, F. (2009). The FANCD1 pathway and BLM collaborate during mitosis to prevent micro-nucleation and chromosome abnormalities. *Nature Cell Biology*, 11(6), 761–768. xx
100. National Organization of Rare Diseases. Fanconi Anemia (2019) <https://rarediseases.org/rare-diseases/fanconi-anemia/>
101. Navarro, S., Meza, N. W., Quintana-Bustamante, O., Casado, J. A., Jacome, A., McAllister, K., ... & Bueren, J. A. (2006). Hematopoietic dysfunction in a mouse model for Fanconi anemia group D1. *Molecular Therapy*, 14(4), 525-535.
102. Neveling, K., Endt, D., Hoehn, H., & Schindler, D. (2009). Genotype–phenotype correlations in Fanconi anemia. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 668(1-2), 73-91.
103. Nicolaidis, K. H., Clewell, W. H., Mibashan, R. S., Soothill, P. W., Rodeck, C. H., & Campbell, S. (1988). Fetal haemoglobin measurement in the assessment of red cell isoimmunisation. *The Lancet*, 331(8594), 1073-1075.
104. Nie, Y., Li, Y., Li, X., Wilson, A. F., & Pang, Q. (2019). The non-homologous end-joining activity is required for Fanconi anemia fetal HSC maintenance. *Stem Cell Research & Therapy*, 10(1), 114

105. Norris, D., & Stone, J. (2008). WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Geneva: WHO.
106. Núñez, J., Mesones, B. G., Gaisán, C. M., & Insunza, A. (2012). Síndromes de fracaso medular: anemia aplásica, eritroblastopenias selectivas y anemias diseritropoyéticas. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada acreditado*, 11(20), 1229-1237.
107. O'Connor, C. M., Adams, J. U., & Fairman, J. (2010). *Essentials of cell biology*. Cambridge, MA: NPG Education, 1.
108. Pellegrini, L., David, S. Y., Lo, T., Anand, S., Lee, M., Blundell, T. L., & Venkitaraman, A. R. (2002). Insights into DNA recombination from the structure of a RAD51–BRCA2 complex. *Nature*, 420(6913), 287.
109. Petryk, A., Kanakatti Shankar, R., Giri, N., Hollenberg, A. N., Rutter, M. M., Nathan, B., ... & Rose, S. R. (2015). Endocrine disorders in Fanconi anemia: recommendations for screening and treatment. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 100(3), 803-811.
110. Pivovar, A., Furquim, C. P., Bonfim, C., & Torres-Pereira, C. C. (2017). Mouth examination performance by children's parents and by adolescents in Fanconi anemia. *Pediatric Blood & Cancer*.
111. Pulsipher, M., Kupfer, G. M., Naf, D., Suliman, A., Lee, J. S., Jakobs, P., ... & Mulligan, R. (1998). Subtyping analysis of Fanconi anemia by immunoblotting and retroviral gene transfer. *Molecular Medicine*, 4(7), 468-479.
112. P&T. (2019) NEW DRUG APPROVALS. 44(3), 102. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6385731/pdf/ptj4403095.pdf>
113. Richardson, C. D., Kazane, K. R., Feng, S. J., Zelin, E., Bray, N. L., Schäfer, A. J., ... & Corn, J. E. (2018). CRISPR–Cas9 genome editing in human cells occurs via the Fanconi anemia pathway. *Nature genetics*, 50(8), 1132.
114. Río, P., Navarro, S., & Bueren, J. A. (2018). Advances in gene therapy for fanconi anemia. *Human gene therapy*, 29(10), 1114-1123.
115. Río, P., Navarro, S., Guenechea, G., Sánchez-Domínguez, R., Lamana, M. L., Yañez, R., ... & Charrier, S. (2017). Engraftment and in vivo proliferation advantage of gene-corrected mobilized CD34+ cells from Fanconi anemia patients. *Blood*, 130(13), 1535-1542.
116. Rockefeller University (2015). "Fanconi Anemia at The Rockefeller University" Descargado de: <http://lab.rockefeller.edu/smogorzewska/ifar/>



117. Rose, S. R., Myers, K. C., Rutter, M. M., Mueller, R., Khoury, J. C., Mehta, P. A., ... & Davies, S. M. (2012). Endocrine phenotype of children and adults with Fanconi anemia. *Pediatric blood & cancer*, 59(4), 690-696.
118. Rosenberg, P. S., Greene, M. H., & Alter, B. P. (2003). Cancer incidence in persons with Fanconi anemia. *Blood*, 101(3), 822-826.
119. Rossbach, H.-C., Sutcliffe, M. J., Haag, M. M., Grana, N. H., Rossi, A. R., & Barbosa, J. L. (1996). Fanconi anemia in brothers initially diagnosed with VACTERL association with hydrocephalus, and subsequently with Baller-Gerold syndrome. *American Journal of Medical Genetics*, 61(1), 65–67.
120. Román, F. J. R. (2018). Gene editing mediated by non-homologous end-joining: a versatile approach for the gene therapy of hematopoietic stem cells from fanconi anemia patients (Doctoral dissertation, Universidad Autónoma de Madrid).
121. Sagaseta de Ilúrdoz, M., Molina, J., Lezáun, I., Valiente, A., & Durán, G. (2003, April). Anemia de Fanconi: Consideraciones actuales. In *Anales del Sistema Sanitario de Navarra* (Vol. 26, No. 1, pp. 63-78). Gobierno de Navarra. Departamento de Salud.
122. Sakai, W., & Sugasawa, K. (2019). Importance of finding the bona fide target of the Fanconi anemia pathway. *Genes and Environment*, 41(1), 6.
123. Sánchez, S. R. Efecto de la Cafeína y el Plasma Humano Normal en Líneas Linfoblastoides de Anemia de Fanconi (tesis). México, DF. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México.
124. Sánchez-Valle, M. E., & Navarro, F. H. (2004). Protocolo diagnóstico de la linfocitosis. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 9(21), 1365-1367.
125. Sawyer, S. L., Tian, L., Kähkönen, M., Schwartzenuber, J., Kircher, M., Majewski, J., ... & Moilanen, J. S. (2015). Biallelic mutations in BRCA1 cause a new Fanconi anemia subtype. *Cancer discovery*, 5(2), 135-142.
126. Shaw-Smith, C. (2006). Oesophageal atresia, tracheo-oesophageal fistula, and the VACTERL association: review of genetics and epidemiology. *Journal of medical genetics*, 43(7), 545-554.
127. Selvan, M. E., Klein, R. J., & Gümüş, Z. H. (2019). Rare, pathogenic germline variants in Fanconi Anemia genes increase risk for squamous lung cancer. *Clinical Cancer Research*, 25(5), 1517-1525.

128. Shalet, S. M., Brennan, B. M., & Reddingius, R. E. (1997). Growth hormone therapy and malignancy. *Hormone Research in Paediatrics*, 48(Suppl. 4), 29-32.
129. Shim, Y. J., Kim, H. S., Do, Y. R., Ha, J. S., & Yabe, H. (2017). Sequential strategy for umbilical cord blood transplantation in a Korean Fanconi anemia girl with refractory acute myelomonocytic leukemia and complex karyotype. *Pediatric transplantation*, 21(2).
130. Shimamura, A., de Oca, R. M., Svenson, J. L., Haining, N., Moreau, L. A., Nathan, D. G., & D'Andrea, A. D. (2002). A novel diagnostic screen for defects in the Fanconi anemia pathway. *Blood*, 100(13), 4649-4654.
131. Slovak, M. L., & Wolff, D. J. (2013). American College of Medical Genetics and Genomics technical standards and guidelines: microarray analysis for chromosome abnormalities in neoplastic disorders. *Genetics in Medicine*, 15(6), 484.
132. Solimini, R., Rotolo, M. C., Mastrobattista, L., Mortali, C., Minutillo, A., Pichini, S., ... & Palmi, I. (2017). Hepatotoxicity associated with illicit use of anabolic androgenic steroids in doping. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 21(1 Suppl), 7-16.
133. Solomon, B. D. (2011). Vacterl/Vater association. *Orphanet journal of rare diseases*, 6(1), 56.
134. Sondalle, S. B., Longerich, S., Ogawa, L. M., Sung, P., & Baserga, S. J. (2019). Fanconi anemia protein FANCI functions in ribosome biogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 201811557.
135. Strathdee, C. A., Gavish, H., Shannon, W. R., & Buchwald, M. (1992). Cloning of cDNAs for Fanconi's anaemia by functional complementation. *Nature*, 356(6372), 763.
136. Tan, W., & Deans, A. J. (2017). Perspective: A defined role for multiple Fanconi anemia gene products in DNA-damage-associated ubiquitination. *Experimental Hematology*
137. Takenaka, S., Kuroda, Y., Ohta, S., Mizuno, Y., Hiwatari, M., Miyatake, S., ... & Oka, A. (2019). A Japanese patient with RAD51-associated Fanconi anemia. *American journal of medical genetics. Part A*.
138. Titus, T. A., Selvig, D. R., Qin, B., Wilson, C., Starks, A. M., Roe, B. A., & Postlethwait, J. H. (2006). The Fanconi anemia gene network is conserved from zebrafish to human. *Gene*, 371(2), 211-223.

139. Torres, F. A. (2016). Características hematológicas y físicas de niños con diagnóstico de anemia de Fanconi del Hospital Infantil de México Federico Gómez (tesis). Ciudad de México: Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México.
140. Torres Gomez, A., Snchez Garca, J., Serrano Lpez, J., & Garca Castellano, J. M. (2004). Anemias arregenerativas. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 9(20)
141. Towe, C., Nelson, A., Lane, A., Feldstein, J. F., Koch, E., Goodridge, E., ... & Myers, K. (2018). Decreased Pulmonary Function Testing in Patients with Fanconi Anemia. In *B55. PEDIATRIC CLINICAL STUDIES* (pp. A3651-A3651). American Thoracic Society.
142. Tsuchiya, M. I. (2004) Perfil clínico y hematológico en niños con anemia de Fanconi diagnosticados en el servicio de hematología pediátrica de la unidad médica de alta especialidad "Dr Gaudencio Gonzalez Garza CMN La Raza". México, DF. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México
143. Tsui, V., & Crismani, W. (2019). The Fanconi Anemia Pathway and Fertility. *Trends in Genetics*.
144. Tryon, R., Zierhut, H., MacMillan, M. L., & Wagner, J. E. (2017). Phenotypic variability in patients with Fanconi anemia and biallelic FANCF mutations. *American Journal of Medical Genetics Part A*, 173(1), 260-263.
145. Verhagen, C. V., Vossen, D. M., Borgmann, K., Hageman, F., Grénman, R., Verwijs-Janssen, M.,... & Velds, A. (2018). Fanconi anemia and homologous recombination gene variants are associated with functional DNA repair defects in vitro and poor outcome in patients with advanced head and neck squamous cell carcinoma. *Oncotarget*, 9(26), 18198.
146. Verheij, E., Oomen, K. P., Smetsers, S. E., Zanten, G. A., & Speleman, L. (2017). Hearing loss and speech perception in noise difficulties in Fanconi anemia. *The Laryngoscope*.
147. Verlinsky, Y., Rechitsky, S., Schoolcraft, W., Strom, C., & Kuliev, A. (2001). Preimplantation diagnosis for Fanconi anemia combined with HLA matching. *Jama*, 285(24), 3130-3133.
148. Wajnrajch, M. P., Gertner, J. M., Huma, Z., Popovic, J., Lin, K., Verlander, P. C., ... & Auerbach, A. D. (2001). Evaluation of growth and hormonal status in

- patients referred to the International Fanconi Anemia Registry. *Pediatrics-English Edition*, 107(4), 744-754.
149. Wang, L. C., & Gautier, J. (2010). The Fanconi anemia pathway and ICL repair: implications for cancer therapy. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*, 45(5), 424-439.
150. Wu, W., Liu, Y., Zhou, Q., Wang, Q., Luo, F., Xu, Z., ... & Xie, J. (2017). Novel homozygous FANCL mutation and somatic heterozygous SETBP1 mutation in a Chinese girl with Fanconi Anemia. *European Journal of Medical Genetics*, 60(7), 369-373.
151. Young, N. S., Calado, R. T., & Scheinberg, P. (2006). Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood*, 108(8), 2509-2519.
152. Zhang, Q. S., Tang, W., Deater, M., Phan, N., Marcogliese, A. N., Li, H., ... & Grompe, M. (2016). Metformin improves defective hematopoiesis and delays tumor formation in Fanconi anemia mice. *Blood*, 128(24), 2774-2784.
153. Zhang, X., Sejas, D. P., Qiu, Y., Williams, D. A., & Pang, Q. (2007). Inflammatory ROS promote and cooperate with the Fanconi anemia mutation for hematopoietic senescence. *Journal of cell science*, 120(9), 1572-1583.
154. Zhao, X., Brusadelli, M. G., Sauter, S., Kovacic, M. B., Zhang, W., Romick-Rosendale, L. E., ... & Wells, S. I. (2018). Lipidomic profiling links the Fanconi anemia pathway to glycosphingolipid metabolism in head and neck cancer cells. *Clinical Cancer Research*, 24(11), 2700-2709.