

GEMELAS MONOZIGÓTICAS PORTADORAS DE HEMOFILIA A CON DISCORDANCIA FENOTÍPICA

C. Silva Pinto, T. Fidalgo, T. Sevivas, M. Benedito, E. Gonçalves, D. Marques, P. Martinho, R. Salvado, N. Martins, M.L. Ribeiro

Departamento de Hematologia. Centro Hospitalar de Coimbra (Portugal)

Introducción: Hemofilia A (HA), coagulopatía hemorrágica recesiva ligada al cromosoma X (CrX), es resultante de mutaciones en el gen del FVIII (F8). Las mujeres son generalmente portadoras asintomáticas, con niveles de FVIII:C dependientes del patrón de inactivación del CrX. Aparte de casos raros de homocigotía o heterocigotía compuesta para mutaciones en el F8, fueron descritos casos esporádicos de niñas con hemofilia por desvío extremo de lionización del CrX o en asociación con Síndrome de Turner (ST) (45,X). La isodisomía uniparental, ambas copias de todo o de parte del cromosoma son heredadas del mismo progenitor, fueron descritas en varias patologías, pero no en mujeres con HA.

Objetivo: Elucidar el mecanismo genético que condiciona niveles de FVIII:C de 29% y 94% en 2 gemelas monocigóticas monocoriónicas, con 5 años de edad. Hermano con HA ligera (FVIII:C 34%), madre y abuela materna portadoras con FVIII:C de 68 e 59%, respectivamente; padre FVIII: C 97%.

Metodología: DNA aislado de sangre periférica y cabello. Por secuenciación fue identificada la mutación en el F8, y en el DNA de la gemela con FVIII:C 29% fue hecha la secuenciación de todo el F8 y exones 18-27 del gen del FvW (dominio de unión al FVIII). Fueron evaluados 15 micro-satélites de varios cromosomas (AmpF[®]STR[®] Identifier[®] Plus PCR Amplification Kit, Applied Biosystems) y los marcadores (AC)n y (CTT)n localizados 4.28 kb y 18.6 kb, respectivamente, a 3' del gen G6PD. El grado de inactivación del CrX fue evaluado por ensayo HUMARA; fueron buscadas mutaciones en el gen XIST por secuenciación.

Resultados: El estudio del F8 reveló que ambas gemelas son apenas portadoras de la mutación identificada en la familia: c.5738 A>G, p.Asn1913Ser (exón 17), con un patrón de secuenciación con picos de intensidad semejante para los alelos normal y mutado, en el DNA extraído de sangre periférica y cabello. En la gemela III.2 fue excluida Enfermedad de von Willebrand tipo 2N. La monocigotía fué establecida con 99% de probabilidad a través de la evaluación de 15 marcadores polimórficos; el ensayo HUMARA mostró en ambas un desvío de lionización semejante, en el sentido del CrX materno - alelo mutado (30:70); en el gen XIST no fueron detectadas mutaciones. Los marcadores (AC)n e (CTT)n presentan un patrón de homocigotía en las dos gemelas.

Discusión: Los datos presentados demuestran que los diferentes niveles de FVIII:C en estas dos gemelas monocigóticas no es resultado de un desvío de la lionización del CrX, y soportan la hipótesis del evento de separación haber ocurrido después de la inactivación del CrX. El ST fue excluido por estar presentes los dos alelos. La hipótesis de mosaicismo somático fue excluida por el análisis del patrón de secuenciación que es semejante en el DNA de los dos tejidos analizados. Los padres, hermano y niñas presentan el mismo patrón para los diferentes SNP's del F8 y marcadores (AC)n e (CTT)n, o que no ha permitido excluir de todo la isodisomía uniparental. Está en curso un estudio mas detallado del CrX por microsatélites y por técnicas de FISH.

Conclusión: Con base en estos datos, la hipótesis más probable es la existencia de mosaicismo a nivel hepático, donde el FVIII es mayoritariamente sintetizado.