

تشخيص متلازمة فنكوني في مستشفى الأطفال الجامعي

محمد علي عجلوني*

الملخص

خلفية البحث: تعد متلازمة فنكوني من أكثر متلازمات نقص عناصر الدم الشاملة الموروثة شيوعاً، وفيها تغير جيني heterogeneity وتعبيرية expressivity مرتفعة؛ مما يعيق (في كثير من الحالات) تأكيد التشخيص. هدف البحث: تقديم خبرة مستشفى الأطفال الجامعي في تشخيص المتلازمة، وإدخال اختبار التكررات الصبغية أول مرة إلى مخبر الصبغيات في المستشفى الذي يعدُّ الاختبار التشخيصي الذهبي للمتلازمة، كاختبار تشخيصي للحالات النموذجية وغير النموذجية لمساعدة أطباء أمراض الدم والأورام في التدبير، والمتابعة، وفي تشخيص الحالات اللاعراضية عند أشقاء المرضى.

مواد البحث وطرائقه: أجريت دراسة استعادية من عام 2000، واستباقية من عام 2007 حتى منتصف العام 2015، إذ كان حجم العينة 52 مريضاً؛ راجعوا المستشفى، طبق اختبار التكررات الصبغية على 26 مريضاً في الدراسة الاستباقية. النتائج: كان العمر الوسطي عند التشخيص 6,6 سنة، وكانت نسبة الذكور إلى الإناث 2: 1. شكى معظمهم (99%) من فشل نمو، تلا ذلك البقع المصبغة في الجلد (89%)، ثم التشوهات الكلوية (36%)، وتشوهات الطرف العلوي (32%)، وعانى 15% من خباثات كان أكثر شيوعاً الأبيضاخ النقي الحاد.

نجح اختبار تحري التكررات الصبغية بتطبيق مادة الـ DEB عند 5 مرضى، وظهرت تكسرات عفوية عند 7 مرضى، وكان سلبياً عند مريضين، فيما فشل الزرع نهائياً، عند إضافة المادة في 12 مريضاً.

الاستنتاج: كان العمر الوسطي لظهور الأعراض وتشخيص المرض قريباً من الدراسات الأخرى (6,6 سنة)، لوحظ اختلاف في تواتر أعراض المتلازمة بالمقارنة بدراسات أخرى، كما لوحظ في هذه الدراسة سيطرة الذكور على الإناث، ولم يُذكر ذلك في دراسات أخرى، ولوحظ أيضاً اختلاف التظاهرات والتشوهات بين المرضى بين العائلات وضمن العائلة الواحدة، كما شكلت الخباثات 15% من الحالات، ولم تصادف السرطانة حشوية الخلايا. نجح اختبار التكررات الصبغية في 20% من الحالات، وقد أكد تشخيص المرض ونفاه في حالات مشتبهة، كما أسهم في تحري الإصابة بالمرض عند أشقاء المرضى اللاأعراضيين.

كلمات مفتاحية: تكسرات صبغية، فقر دم لاتنسجي، مادة الـ DEB.

* أستاذ مساعد- قسم الأطفال- كلية الطب البشري- جامعة دمشق.

Diagnosis of Fanconi Syndrome in University Children Hospital

Mohammad Ali Ajlouni*

Abstract

Background: Fanconi anemia is the most commonly inherited pancytopenia. It has high locus heterogeneity and variable expression which impedes, in many cases, the confirmation of diagnosis.

Objective: presentating the experience of Damascus University Children Hospital in diagnosing Fanconi syndrome in addition to introducing the chromosomal breakage test by DEB (cross linker), for the first time, as a diagnostic golden test to this disorder in typical and non-typical cases in order to aid the hematologists and oncologists in diagnosis, management, following up their patients, and in diagnosing the disease in the sibilings of the patients.

Materials and methodology: A retrospective study was conducted from the year 2000 to 2007, and a prospective study from 2007 to the half of 2015. Fifty two patients were included in the two studies, and the DEB test was applied during the prospective study to 26 patients.

Results: The mean age in diagnosis was 6.6 year, the ratio of the males to females was 2:1. 99% had a failure of thrive, 89% had skin pigmentation, 36% had renal malformations, 32% with upper limb malformations, and 15% had malignancies specially AML.

DEB test was applied to 26 patients. It was positive in 5, negative in 2. However it failed in 12. Spontaneous chromosomal breakages were apparent in 7.

Conclusion: the mean age of diagnosis was 6.6 year, in line of other studies. The frequency of symptoms in our study was different comparing to other studies. The predominance of male to female was also clear.

The variable expression inter and interfamilial was also obvious. Among the malignancies, the squamous cell carcinoma was not depicted. The introduction of the DEB test has contributed in confirming and ruling out the disease in the suspected cases and in the asymptomatic sibilings of the patients.

Key words: chromosomal breakages, aplastic anemia, DEB

* Assistant Professor in Pediatrics Service- Researcher in laboratory of researches and genetic consultations.

مقدمة:

لا يوجد قلة كريات شاملة pancytopenia موروثية تترافق مع فرط حساسية بارزة في الزجاج تجاه الـ DEB تتضح من خلال التكرس الصبغي إلا متلازمة فنكوني. ومع أن الموجودات الدموية الشاذة والتشوهات الفيزيائية المميزة للمرض توحى بالتشخيص، لكن يجب إثباته بدراسة التكرسات الصبغية. يعدُّ الاختبار المخبري التشخيصي الذهبي لمتلازمة فنكوني التكرس الصبغي باستخدام محضرات صبغية من الدم المحيطي في الطور التالي metaphase, إذ تُشاهد في نسبة كبيرة من خلايا المريض كسور، فجوات، مُرتببات rearrangements، تبادلات، أو ترفيلات ثنائية داخلية endoreduplications بعد إضافة المادة المكسرة خاصة (DEB) (diepoxybutane) أو الـ mitomycin C (MMC)¹ رغم ازدياد معدل التكرس الصبغي في الزراعات الأساسية قبل إضافة المادة المُكسرة clastgen.

في الواقع، تشكل متلازمة فنكوني المرض الوراثي الأكثر شيوعاً من بين أمراض قلة الكريات الشاملة، إذ يشكل نحو 30% منها، وينتشر في الأعراق والإثنيات كلها، وتورث غالبية حالاته بطراز صبغي جسدي متنح autosomal recessive (هناك شكل غير شائع متنح مرتبط بالإكس). عند التظاهر قد يكون لدى مرضى فقر دم فنكوني تشوهات فيزيائية واضطرابات دموية مميزة، كما هي حال غالبية المرضى، أو ملامح فيزيائية طبيعية مع موجودات دموية غير طبيعية (نحو ثلث الحالات)، أو تشوهات فيزيائية دون موجودات دموية مرضية، كما حال نسبة غير محددة من الحالات².

أمَّا التشوهات الفيزيائية التي توحى بفقر دم فنكوني فهي حسب التواتر من الأكثر إلى الأقل:

تبدل لون الجلد مع بقع قهوة بالحليب أو من دونها، قصر القامة، تشوهات الطرف العلوي (الإبهام، اليد، الكعبرة،

الزند)، تبدلات متعلقة بقصور الغدد التناسلية وفي الأعضاء التناسلية (غالباً عند الذكر)، موجودات هيكلية أخرى في الرأس الوجه أو العنق أو السيساء، تشوهات في العين، الجفن، عناية الموق epicanthus، تشوهات كلوية، تشوهات هضمية وقلبية رئوية، تشوهات الورك، الساق، القدم، تشوهات أذنية (باطنة وظاهرة)، صمم²، ملامح دقيقة، نقص وزن، بطء تطور، فرط منعكسات، شلل بل، تشوه شرايين الجهاز العصبي المركزي، تضيق الشريان السباتي الباطن، غدة نخامية صغيرة، غياب جسم ثقي¹.

أمَّا التظاهرات الدموية التي تعدُّ علامة مميزة للمرض (تُشاهد عند < 90% من الحالات) فهي تتظاهر عادة في العقد الأول من الحياة، إذ يترقى الفشل النقوي (بسبب فقد الخلايا الجذعية المكونة للدم). بشكل نموذجي يسبق نقص الصفائح أو قلة البيض وكبر الكريات macrocytosis فقر الدم فتكون التظاهرات السريرية البدئية الشحوب والنزف والعداوى المتكررة recurrent infections^{1, 2, 3}. وتتطور الخباثة (الملح البارز الثاني) خاصة الابيضاض النقوي الحاد وبدرجة أقل الأورام الصلبة⁴.

في الممارسة الطبية، ونظراً إلى أن فقر دم فنكوني مرض وراثي متغاير النمط الجيني (15 جين)² والنمط الظاهري بسبب كثرة عدد جيناته المسؤولة وتنوع أعراضه وتفاوت وخامتها فإنه ينبغي الاشتباه بمتلازمة فنكوني عند كل طفل أو كاهل شاب لديه قلة كريات غير مفسرة، وفي حال وجود تشوهات جهازية أو تظاهرات دموية توحى بالمرض يجب إثبات تشخيصه عبر التكرسات الصبغية باختبار DEB، وهو اختبار عالي الحساسية والنوعية، كما يمكن استخدامه في التشخيص قبل الولادي³.

هَدَفَ هذا البحث إلى دراسة تجربة مستشفى الأطفال الجامعي بدمشق في تشخيص متلازمة فنكوني وتمييزها عن بقية حالات فقر الدم اللاتسجي من غير فنكوني، وإلى إدخال اختبار تحري التكرسات الصبغية باستخدام مادة

ليس لديه شبيهة بفقر دم فنكوني، أو لطفل تدرس صبغياته لسبب آخر كشاهد، إذ أُضيفت مادة deb بالتركيز المعياري. تم الحصاد بعد 72 ساعة من بدء الزرع حيث أُضيف في آخر نصف ساعة 80 مكرولتراً من محلول الكالسيوم. أُجري الاستشراف banding بطريقة G. درست 20 خلية لكل أنبوب من المريض ولأنبوب الشاهد. درست التكرسات والالتحافات في الخلايا المدروسة وعدت الخلايا التي كانت إيجابية التكرسات، بحيث تُعد الخلية إيجابية في حال ظهور تكسر واضح وصريح، كما عُدت الخلية ذات التشعع الصبغي إيجابية. وقورنت النتيجة بالشاهد. دُرست 20 خلية عند المريض لكل أنبوب من أنبوبي العينة وكذلك للشاهد. عدّ الاختبار إيجابياً في حال ظهور تكسرات (شكل رقم 3)، أو تشععات صبغية (شكل رقم 4) في خليتين على الأقل (10%)، ولم تظهر أي تكسرات أو تشععات عند الشاهد مع مادة أو من دونها.

النتائج:

راوحت أعمار المرضى عند التشخيص بين 1.4-12 سنة وكان العمر الوسطي 6.6 سنوات. أما توزع الجنس في العينة فكانت النسبة المئوية للذكور 67% وللإناث 33%. أما الأعراض السريرية فكان فشل النمو على رأس الأعراض إذ شكى منه معظم مرضى العينة المدروسة (99%) تلتها التبدلات اللونية للجلد (86%) خاصة بقع القهوة بالحليب (شكل رقم 1)، يليها اللون البني الشامل للجسم، ثم وجود بقع ناقصة الصباغ يلي الأعراض بالتواتر التشوهات الكلوية، وتوزعت التشوهات الكلوية على الشكل الآتي: 6 مرضى لديهم كلية منتبذة ectopic، 3 مرضى لديهم ضمور كلوي أحادي أو ثنائي الجانب، 3 مرضى لديهم غياب كلية أحادي الجانب، مريضان لديهما كلية حذوية horseshoe، حالة واحدة لكل من توسع حالب أحادي الجانب، موه كلوي hydronephrosis مع جزر مثاني حالي، تضيق الموصل الحويضي الحالي، المتلازمة الكلوية nephrose، ثم

الـ DEB لإثبات تشخيص متلازمة فنكوني، ومن هنا تأتي أهمية هذا البحث، فبعد أن كان يكتفى بالشك السريري والمختبري، ومن ثمّ تُشخص الحالات النموذجية من المرض وتُغفل الحالات غير النموذجية ولما يترتب على ذلك من عواقب وخيمة، مثل ظهور الخباثات أضف إلى ذلك عدم إمكانية تحري الإصابة عند أشقاء المريض قبل تظاهر الأعراض التي قد تتأخر، ممّا يجعل الأهل في قلق مستمر على أبنائهم. كما تتبع أهمية هذا البحث من كونه يجرى أول مرة في مستشفى الأطفال وفي سورية.

المواد والمنهجيات:

تمت مراجعة سجلات مستشفى الأطفال الجامعي لحصر حالات متلازمة فنكوني منذ العام 2000 حتى منتصف العام 2015. أُحصي 52 مريضاً. وُضِعَ استبيان خاص بالبحث لبيان عمر المريض عند التشخيص، والأصل والسكن، والقصة العائلية، والقربى، والمظاهر السريرية، والمخبريات، وطبق اختبار الـ DEB في عدد من الحالات لتأكيد التشخيص إذ تجرى استشارة مختص الأمراض الوراثية في حال الشك بفقر دم فنكوني من أجل إثبات التشخيص بتحري التكرسات الصبغية.

طبق اختبار الـ DEB حسب الطريقة المعيارية⁵ مع بعض التعديلات حسب ظروف العمل الخاص بالمستشفى ومخبر الوراثة الخلوية. حصل على مادة الـ DEB من شركة Wiscot-Aldrich

اختبار الـ diepoxybutane أو الـ DEB:

زُرِعَ أنبوبان لكل مريض حسب الطريقة المتعارف عليها في مخابر الوراثة الخلوية وبعد 48 ساعة من الحضان. أُضيفت مادة الـ DEB إلى أنبوب واحد بعد تمديد 10 ميكروليتر من المحلول الأم سلسلة من التمديدات بمحلول الـ PBS بحيث يكون التركيز النهائي للمادة في الأنبوب 0.1 مكروليترامل، وترك الأنبوب الثاني دون مادة لدراسة التكرسات العفوية. وفي الوقت نفسه زُرِعَ أنبوب لدم طفل

شكل رقم 1: يبين السحنة الناعمة و بقع مفرطة الصباغ عند المريض رقم 43



شكل رقم 2 : يبين لون البشرة البني و نقص تنسج إبهام اليد اليمنى عند المريض نفسه

أجري للمرضى الذين كان لديهم شحوب أو نزوف أو كدمات لطاخة دم محيطية ويزل نقي وخزعة نقي في حال كانت عناصر النقي ناقصة لإثبات قصور نقوي عند مرضى المتلازمة.

أمّا النتائج المخبرية فيمكن تلخيصها بالجدول رقم 2:

الجدول رقم 2: يعرض النتائج المخبرية لمرضى العينة:

نقص شامل في عناصر الدم	%67
فقر دم كبير الكريات وارتفاع MCV	%23
نقص غير شامل في عناصر الدم	%15
عناصر الدم طبيعية	%13
ارتفاع الخضاب F	%5
الفا فيتو بروتين	%3

أمّا فيما يتعلق بتطبيق اختبار التكرسات الصبغية باستخدام مادة الـ DEB فقد طبق على 26 حالة، ويلخص الجدول رقم 3 نتائج تطبيق هذا الاختبار:

الجدول رقم 3: يبين نتائج تطبيق اختبار التكرسات الصبغية على مرضى يشتبه إصابتهم بفقر دم فنكوني.

الجدول رقم 3: يبين نتائج تطبيق اختبار التكرسات الصبغية على مرضى يشتبه إصابتهم بفقر دم فنكوني.

إيجابي التكرسات معادون المادة	%20
تكرسات عفوية (دون مادة)	%28
فشل في الاختبار معادون مادة	%44
سلي مع ادون مادة	%8

تشوهات الطرف العلوي خاصة الإبهامين، وتراوح تشوّهاته من غياب كامل إلى نقص تنسج (شكل رقم 2)، وهناك حالة كان لديها تضاعف إبهام مع حالة من نقص تنسج الكعبرة يلي ذلك تشوهات الطرف السفلي، شوك مشقوق، وهناك حالة تشوّه أضلاع. وشكلت التشوهات العينية 7%، أمّا التشوهات القلبية فشكلت ما نسبته 5% من العينة، ثم التشوهات الدماغية والأذنية التي وُجِدَتْ أيضاً عند 5% من المرضى. ويوضّح الجدول رقم 1 توزع التشوهات الجهازية عند مرضى العينة:

الجدول رقم 1: توزع التشوهات الجهازية في مرضى الدراسة.

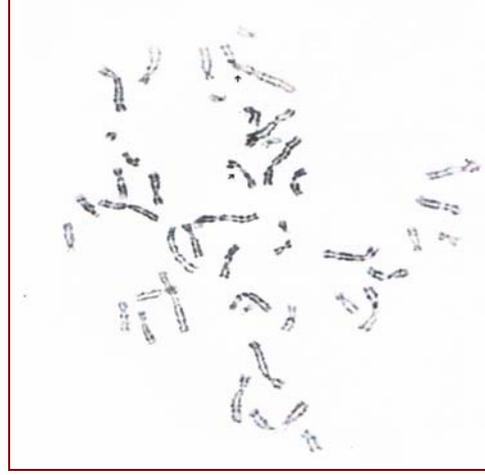
التشوّه malformation	النسبة المئوية للمرضى
فشل النمو	%99
التبدلات اللونية للجلد	%86
تشوهات كلوية	%36
تشوهات الطرف العلوي	%32
خبائثات	%15
تبدلات تناسلية وقصور غدد تناسلية (عند الذكور)	%9
تشوهات عينية	%7
تشوهات هيكلية أخرى	%5
تشوهات قلبية	%5
تشوهات الورك، الساق، القدم، إبهام القدم	%5
تشوهات الأذن، الصمم	%5
تشوهات عصبية	%5
ضخامة كبدية طحالية	%5
لا تشوهات	%30



مراجع أخرى فكانت 51%² و31%⁴ وجاء في المرتبة الثانية من حيث تواتر الأعراض الموحية بفقر دم فنكوني التبدلات اللونية في الجلد التي لوحظت في دراستنا عند 86% من أفراد العينة، في حين كانت في مراجع أخرى 55%² و64%⁴.

وجاء في المرتبة الثالثة والرابعة بفارق بسيط بينهما كل من التشوهات الكلوية (36%)، وتشوهات الطرف العلوي (32%)، إذ كان أقل مما هو منشور في الأدب الطبي فكان 43%² و49%⁴. حلت الخباثات في المرتبة الخامسة بنسبة 15% من مرضى العينة من حيث تواتر الأعراض، وفي معظم الحالات كانت الخباثة العرض الأول عند المرضى، وشكل الابيضاض النسبة العظمى خاصة النقوي الحاد، تلتها الأورام الصلبة (لمفوما، نوروبلاستوما، نوروبلاستوما)، ولم تصادف السرطانة حرشفية الخلايا squamous cell carcinoma عند المرضى المشمولين بدراستنا ربما لكون الدراسة أجريت على الأطفال ولم تتابع الحالات حتى الكهولة التي تكون على رأس قائمة الأورام الصلبة بعد الابيضاض النقوي الحاد⁴، أو على رأس قائمة الخباثات بالإجمال^{5,2} ولم أجد إحصائيات عن نسبة تواتر الخباثات في دراسات أخرى عند مرضى فقر دم فنكوني. لم تكن هناك تشوهات جهازية في ثلث حالات الدراسة؛ وهذا يتوافق مع ما ذكره أورباخ في دراسته ومراجعته للسجل الدولي لمتلازمة فنكوني⁵.

أمّا فيما يتعلق بتحري التكررات الصبغية عند مرضى العينة فقد سيطر الفشل على النتائج، إذ شكل ما يقارب نصف الحالات، ونعتقد أن السبب في ذلك هو نقص الخبرة إذ أول مرة يطبق في مستشفى الأطفال، فكان هناك خطأ في تمديد المادة أضف إلى احتمال أن يكون هناك خطأ في ظروف حفظ المادة واستخدامها لشدة حساسيتها وكونها مادة طيارة، وتتخرب بعد حلها بمدة وجيزة، أمّا السبب الآخر الذي أسهم في ارتفاع نسبة الفشل في تحري التكررات فهو كون



شكل رقم 3: يبين كسر صبغي و التحامات صبغية عند المريض رقم 44 بعد إضافة DEB .



شكل رقم 4: يعرض مثال عن التشعب الصبغي عند المريض نفسه. المناقشة:

يمكن مناقشة نتائج هذه الدراسة على مستويين: التظاهرات السريرية والمخبرية من جهة، ونتائج البحث عن التكررات الصبغية سواء كانت عفوية أم بعد إضافة الـ DEB. كان وسطي سن التشخيص 6,6 سنة، وكان 86% من المرضى بين 3-14 سنة، في حين كانت هذه النسبة 76% في². كانت نسبة الذكور إلى الإناث 2: 1، وكانت 1: 1 حسب الدراسة في¹.

نلاحظ في دراستنا سيطرة فشل النمو على مرضى العينة إذ لوحظ عند 99% من المرضى بالمقارنة بدراسات مثبتة في

الاستنتاجات:

متلازمة فنكوني ذات طيف أعراض ومخبريات واسع ولابد من التفكير فيه عند كل فقر دم أو نقص صفائح مع فشل النمو، والبحث عن التصبغات الجلدية والقصة العائلية والخبثات العائلية، كما أن إدخال اختبار التكررات الصبغية إلى مخبر الوراثة الخلوية cytogenetics أمر حيوي في كشف الحالات غير النموذجية أو المقلدة لفقر دم فنكوني. وقد استطعنا في نهاية المطاف تأسيس هذا الاختبار بعد تجاوز الصعوبات التي ذكرناها في المناقشة إذ يمكن البناء على هذه البداية لتطوير التقنية، وتطوير قراءة النتائج، وتجريب مواد أخرى كـ MMC والمقارنة مع الـ DEB .

شكر:

أشكر في نهاية هذا البحث كل من الفتيات في مخبر الوراثة الخلوية في مستشفى الأطفال، وقسم أمراض الدم والأورام والدكتور سامر الزعبي من مخبر البحوث، والاستشارات الوراثية في كلية الطب- جامعة دمشق على مساعدته في تطبيق اختبار التكررات الصبغية.

المرضى بحالة نقص شامل بعناصر الدم، وخاصة النقص الشديد في الكريات البيض، وتناول الكثير منهم الستيرويدات كعلاج لفقر الدم اللاتسجي مما يعيق تكاثر الخلايا خلال الزرع، يضاف إلى ذلك التأثير المثبط للنمو لمادة الـ DEB إذ اكتشف خلال دراسة أسباب الفشل الخطأ في تمديد مادة الـ DEB بالـ PBS، ومع ذلك كان تطبيق المادة إيجابياً لدى 20% من المرضى، وهي تقارب النسبة المذكورة في دراسة هندية إذ كانت 13%⁶. وكان سلبياً في 8% من الحالات إذ لم تظهر أي تكررات صبغية سواء عفوية، أو مع مادة، كما هي الحال مع الشاهد غير فنكوني، وبذلك تم نفي مرض متلازمة فنكوني ولم يكن هناك ما يبرر بشكل كافٍ لا سريرياً ولا مخبرياً الاشتباه بفقر دم فنكوني بعد مراجعة الحالتين السلبيتين. أمّا نسبة ظهور التكررات العفوية فكانت 28%، وأعتقد أن هذه النسبة غير كافية للاعتماد عليها في إثبات التشخيص ويفضل استخدام المادة، وأخذت هذه النسبة من المرضى الذين طبق لهم المادة ففشلت الخلايا بالنمو في الأنبوب الذي يحوي المادة، ونمت في الأنبوب الخالي من المادة إذ ظهرت التكررات في بعض الخلايا، ولم تشاهد في الأنبوب الشاهد عند غير فنكوني.

References

- 1-David G. Natanan, Stuart H. Orkin, David Ginsburg, A. Thomas Look, Haematology of infancy and childhood, inherited bone marrow failure syndromes,281-293, , Saunders, 2003, Philadelphia, Pennsylvania
- 2-Kliegman Stanton, St Geme, Schor ,Nelson Textbook of Pediatrics, the inherited pancytopenias,2363-2365, Elsevier, edition 20, 2016, Philadelphia
- 3-Harlod Chen, atlas of genetic, diagnosis and counseling, Springer, second edition, 2012, New York, USA
- 4-Kennth Lyons Jones, Marilyn Crandall Jones, Miguel Del Campo Casanelles, Smith`s, Recognizable patterns of human malformation, Elsevier,Saunders, edition 7, 2013, Philadelphia
- 5-Arleen D. Auerbach, Fanconi Anemia and its Diagnosis, Mutat Res. Jul 31, 2009; 668(1-2): 4–10.
- 6-Chowdhry M1, Makroo RN1, Srivastava P1, Clinicohematological correlation and chromosomal breakage analysis in suspected Fanconi anemia patients of India. Indian J Med Paediatr Oncol. 2014 Jan;35(1):21-5

تاريخ ورود البحث إلى مجلة جامعة دمشق 2015/11/15.

تاريخ قبوله للنشر 2016/02/02.