

1 JORNADA.
MIÉRCOLES 19 DE ABRIL 2023

SESIÓN I

Moderadores: Dra. Nancy E. Aguilar Gómez y
Dr. Luis Fernando Valenzuela Moreno



Detección de daño cromosómico y mutacional en pacientes con anemia de Fanconi

Detection of chromosomal and mutational damage in patients with Fanconi Anemia

Silvia Sánchez-Sandoval,¹ Marco A. Mejía-Barrera,¹ Antonio Paz-Martínez,¹ Pedro Reyes-Jiménez,¹ Bertha Molina,¹ Benilde García-de Teresa,¹ Moisés Fiesco-Roa,¹ Angélica Monsiváis-Orozco,² Sara Frías,^{1,3}

ANTECEDENTES. La anemia de Fanconi (AF) es una enfermedad hereditaria, con inestabilidad cromosómica y predisposición a desarrollar síndrome mielodisplásico (SMD) y leucemia mieloide aguda (LMA). La médula ósea (MO) de algunos pacientes presenta aberraciones cromosómicas clonales (CCA) en los cromosomas 1, 3 y 7, asociadas a SMD/LMA; se desconoce si las aberraciones no clonales (NCCA) aumentan con la edad, al tiempo que aparecen las clonas de 1, 3 y 7. La inestabilidad cromosómica es característica común a cáncer y envejecimiento, por lo que se propone que estos pacientes presentan envejecimiento prematuro.

OBJETIVO. Identificar si las NCCA y CCA incrementan con la edad en pacientes AF y determinar si presentan firmas mutacionales de envejecimiento.

MATERIALES Y MÉTODOS. Muestras de MO y sangre periférica (SP) de 26 pacientes AF. Análisis de cariotipo y FISH en linfocitos en interfase con sondas LSI para 1q25, 3q27, 7q31 y CEP7; DNAg para secuenciación de exoma y determinación del perfil mutacional.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. Encontramos que las NCCA en todos los pacientes tienden a incrementar con la edad (Figura 1). Las CCA se encontraron en 7/26 pacientes >8años de edad, >67% de éstas en los cromosomas 1, 3 y/o 7. Otras CCA fueron monosomía 9, del (3p13) y dup (2p25). El FISH en SP sólo detectó una clona presente en MO de un paciente AF. Se encontraron las firmas mutacionales: ID83, DBS78A y SBS96A/SBS96B éstas formadas por las firmas SBS46, SBS5, SBS29, SBS41, SBS1, de las cuales 1 y 5 están asociadas a envejecimiento.

CONCLUSIONES. El estudio de SP no refleja los hallazgos en MO. En todos los pacientes AF hubo NCCA y su frecuencia tiende a aumentar con la edad. Las CCA incluyen cromosomas 1, 3 y 7, lo que indica evolución clonal hacia cáncer. En todos encontramos firmas asociadas a envejecimiento. Los resultados apoyan la hipótesis de envejecimiento prematuro en AF.

PALABRAS CLAVE. anemia de Fanconi, inestabilidad cromosómica, envejecimiento.

Abstract

BACKGROUND. Fanconi anemia (FA) is a hereditary disease with chromosomal instability and a predisposition to developing myelodysplastic syndrome (MDS) and acute myeloid leukemia (AML). The bone marrow (BM) of some FA patients presents clonal chromosome aberrations (CCA) in chromosomes 1, 3, and 7, associated with MDS/AML; however, it is not known whether non-clonal aberrations (NCCA) increase with age, at the same time that clones 1, 3, and 7 appear. Chromosomal instability is a common hallmark of cancer and aging, so it has been proposed that FA patients present premature aging.

OBJECTIVE. To identify if the NCCA and CCA increase with the age of FA patients and to determine if they present mutational signatures of aging.

¹ Laboratorio de Citogenética, Instituto Nacional de Pediatría

² Servicio de Hematología, Instituto Nacional de Pediatría

³ Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

Campo de conocimiento:
Clínica

Correspondencia:

sanchezsilvia2000@yahoo.com.mx
ssanchezs@pediatria.gob.mx

MATERIALS AND METHODS. BM and peripheral blood (PB) samples from 26 AF patients. Karyotype analysis and FISH in interphase lymphocytes, with LSI probes for 1q25, 3q27, 7q31, and CEP 7; gDNA extraction for exome sequencing and mutational profiling.

RESULTS AND DISCUSSION. We found NCCA in all FA patients; the frequency of NCCA seems to increase with the age of the patients (Figure 1). CCA was found in 7/26 patients >7 years old. >67% of the ACCs were on chromosomes 1, 3, and/or 7. Other CCAs were monosomy 9, del(3p13) and dup(2p25). FISH in PB only detected one clone present in MO from an AF patient. We found the mutational signatures: ID83, DBS78A and SBS96A/SBS96B, these formed by the signatures SBS46, SBS5, SBS29, SBS41, SBS1, of which 1 and 5 are associated with aging.

CONCLUSIONS. The PB study does not reflect the findings in MO. In all FA patients, there was NCCA, and its frequency increases with age. CCA include chromosomes 1, 3, and 7, indicating clonal evolution toward cancer. In all patients, we found signatures associated with aging, which supports the hypothesis of premature aging in FA.

KEYWORDS. Fanconi anemia, chromosomal instability, aging.

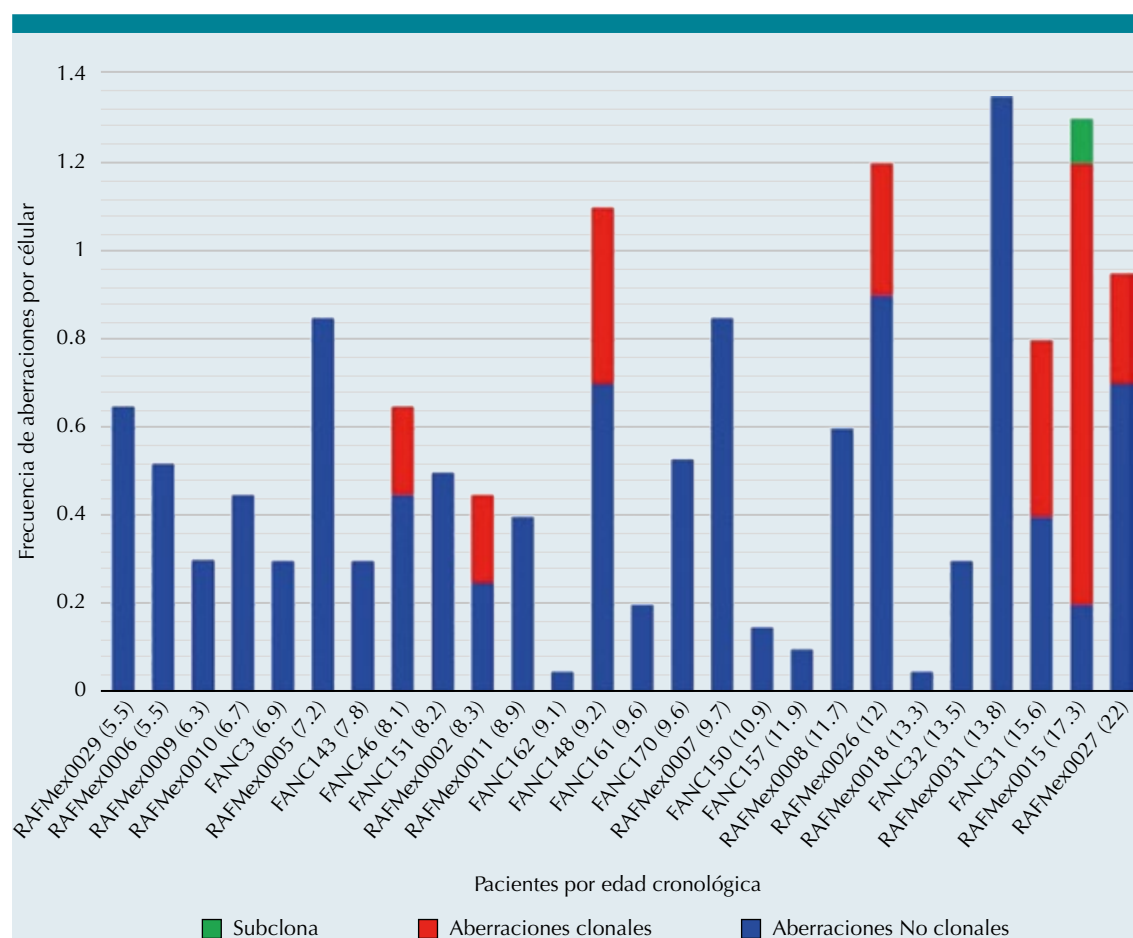


Figura 1. Detección de daño cromosómico y mutacional en pacientes con anemia de Fanconi.

Evidencia de nuevos alérgenos de manzana mediante inmunoproteómica

Evidence of novel apple allergens using an immunoproteomics approach

Angélica Torres-Arroyo,¹ Juan Martínez-Aguilar,² Aramiz López-Durán,³ Gerardo López-Pérez,⁴ Sandra Bautista-García,⁴ David Mendoza-Hernández,^{4(a)} Horacio Reyes-Vivas,^{1(b)}

ANTECEDENTES. Las alergias alimentarias se definen como una reacción adversa con causa inmunológica comprobada después de consumir un alimento particular. Se sabe que la familia de las Rosáceas (manzana, pera, durazno, ciruela, entre otras) promueve alergias mediadas por IgE. En México, existen pocos estudios de las principales proteínas alergénicas contenidas en estas frutas.

OBJETIVO. Identificar por inmunoproteómica nuevos posibles alérgenos presentes en la manzana.

MATERIAL Y MÉTODOS. Se extrajeron proteínas de manzana (*Malus domestica*) para determinar su perfil proteico por electroforesis 1D y 2D. Se obtuvieron muestras de suero de pacientes con diagnóstico de alergia a manzana. Se realizaron Western en 1D y 2D para identificar por espectrometría de masas proteínas inmunoreactivas.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN. Identificamos 10 proteínas inmunoreactivas, entre ellas, Mal d 1, reportada anteriormente como alérgeno principal de manzana. El resto de las proteínas no han sido reportadas en las bases de datos internacionales (allergen.org y allergome.org).

CONCLUSIONES. El perfil de proteínas causantes de alergia a manzana en población pediátrica mexicana parece ser diferentes a los reportados internacionalmente. Esto destaca la importancia de estudiar alérgenos regionales y obtener información necesaria para desarrollar nuevos kits diagnósticos, mejorando así la precisión del diagnóstico y el tratamiento con inmunoterapia.

PALABRAS CLAVE: Inmunoproteómica, Espectrometría de masas, alergia a manzana

Abstract

BACKGROUND. Food allergies are defined as adverse reactions with an immunologically proven cause after consuming a particular food. It is known that the Rosaceae family (apple, pear, peach, and plump, among others) promotes IgE-mediated allergies. In México, very few studies have been performed to identify the principal allergenic proteins contained in these fruits.

OBJECTIVE. To identify novel potential apple allergens using immunoproteomics.

MATERIAL AND METHODS. We extracted apple (*Malus domestica*) proteins, and their electrophoretic profile in 1D and 2D was done. We obtained serum samples of pediatric patients diagnosed with apple allergy. Finally, we performed 1D and 2D Western blots to identify antigenic proteins by mass spectrometry.

RESULTS AND DISCUSSION. We identified 10 immunoreactive proteins, among them, Mal d 1, which has been reported as the main apple allergen. The rest as not been described before as apple allergens in the international databases (allergen.org and allergome.org).

CONCLUSIONS. The profile of allergens causing apple allergy in our Mexican population seem to be different from those reported internationally, highlighting the importance of studying regional allergens to obtain the background to develop new diagnostic kits and improve both diagnostic accuracy and immunotherapy treatments.

KEYWORDS: Immunoproteomics, Mass spectrometry, apple allergy

¹ Laboratorio de Bioquímica Genética, Subdirección de Investigación, Instituto Nacional de Pediatría

² RAI, Coordinación de Investigación Científica, UNAM-Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

³ Servicio de Ortopedia, Subdirección Médica, Instituto Nacional de Pediatría

⁴ Servicio de Alergia, Subdirección Médica, Instituto Nacional de Pediatría

Campo de conocimiento:
Biomédica

Correspondencia:

drdmendoza@gmail.com

hreyesvivas@yahoo.com.mx

Aberraciones cromosómicas no clasificadas como indicador de inestabilidad genómica en muestras de sobrevivientes con linfoma de Hodgkin

Unclassified chromosomal aberrations as an indicator of genomic instability in samples from survivors with Hodgkin's lymphoma

Sandra Ramos,¹ Bertha Molina,¹ Sara Frías^{1,2}

ANTECEDENTES. El linfoma de Hodgkin (LH) afecta 2-4/100,000 individuos/año. El tratamiento incluye radio/quimioterapia con el esquema clásico ABVD (adriamicina, bleomicina, vinblastina, dacarbazina), con una tasa de supervivencia de hasta del 95%. En un trabajo previo, en linfocitos de LH antes, durante y después del tratamiento, se observó que la frecuencia de aberraciones cromosómicas fue significativamente menor durante, que después del tratamiento. Es posible que el daño genómico durante el tratamiento sea del tipo aberraciones cromosómicas no clasificadas (ACnC).

OBJETIVO. Identificar ACnC en linfocitos de pacientes con LH antes, durante y después del tratamiento ABVD.

MATERIAL Y MÉTODOS. La población de estudio se integró por 3 grupos de pacientes: I) 5 pacientes LH: antes, durante y después del tratamiento; II) 5 pacientes 2 años y 3 pacientes 10 años después de tratamiento; III) 5 individuos sanos. Todos firmaron consentimiento informado. Se analizaron los linfocitos de sangre periférica en los portaobjetos procesados previamente para M-FISH y se tiñeron con Giemsa. Se analizaron al microscopio y se registraron las ACnC de 3000 núcleos.

RESULTADOS. Todas las muestras analizadas mostraron ACnC. El tipo de ACnC más frecuente fue el micronúcleo cluster (Figura 1). Las frecuencias promedio de los grupos fueron: I) 13.7 ab/3000 nuc, antes; 9.3, durante y 22.5 después del tratamiento. Grupo II) 23.8 y 13.4 ab/3000 nuc; grupo III) 3.7 ab/3000 nuc. Estas frecuencias fueron diferentes ($P < 0.0001$) con respecto al grupo de individuos sanos.

DISCUSIÓN. Los altos niveles de ACnC indican daño genómico no detectado a nivel de mitosis. Estas ACnC abonan a la variación genómica y pueden conducir a caos genómico.

CONCLUSIÓN. La inestabilidad genómica es evidente con ACnC y se confirma que los niveles más altos de daño se presentan después de tratamiento. Las ACnC no identificaron una frecuencia mayor durante tratamiento, posiblemente por muerte celular.

PALABRAS CLAVE: Inestabilidad genómica, Linfoma de Hodgkin, Aberraciones cromosómicas no clasificadas, ABVD.

Abstract

BACKGROUND. Hodgkin's lymphoma (HL) affects 2-4/100,000 individuals/year. Treatment includes radio/chemotherapy, being the classic ABVD scheme (adriamycin, bleomycin, vinblastine, dacarbazine), with a survival rate up to 95%. In a previous work, in LH lymphocytes before, during, and after treatment, it was observed that the frequency of chromosomal aberrations was significantly lower during than after treatment. It is possible that the genomic damage during treatment is of the unclassified chromosomal aberrations (ACnC) type.

¹ Laboratorio de Citogenética, Instituto Nacional de Pediatría

² Departamento de Medicina Genómica y Toxicología Ambiental, Instituto de Investigaciones Biomédicas, Universidad Nacional Autónoma de México

Campo de conocimiento:
Biomédica

Correspondencia:

sera_ramos@yahoo.com.mx
sarafrías@iibiomedicas.unam.mx

OBJECTIVE. To identify ACnC in lymphocytes from patients with LH before, during, and after ABVD treatment.

MATERIAL AND METHODS. The study population consisted of 3 groups of patients: I) 5 HL patients: before, during and after treatment; II) 5 patients 2 years and 3 patients 10 years after treatment; III) 5 healthy individuals. All signed informed consent. Peripheral blood lymphocytes were analyzed on slides previously processed for M-FISH and stained with Giemsa. They were analyzed microscopically and the ACnC of 3000 nuclei were recorded.

RESULTS. All samples analyzed showed ACnC. The most frequent type of ACnC was the micronucleus cluster (Figure 1). The average frequencies of the groups were: I) 13.7 ab/3000 nuc, before; 9.3, during and 22.5 after treatment. Group II) 23.8 and 13.4 ab/3000 nuc; group III) 3.7 ab/3000 nuc. These frequencies were different ($P < 0.0001$) with respect to the group of healthy individuals.

DISCUSSION. High levels of ACnC indicate genomic damage not detected at the level of mitosis. These ACnCs contribute genomic variation and may lead to genomic chaos.

CONCLUSION. Genomic instability is evident with ACnC and it is confirmed that the highest levels of damage occur after treatment. ACnC did not identify a higher frequency during treatment, possibly due to cell death.

KEYWORDS: Genomic instability, Hodgkin's lymphoma, Unclassified chromosomal aberrations, ABVD.

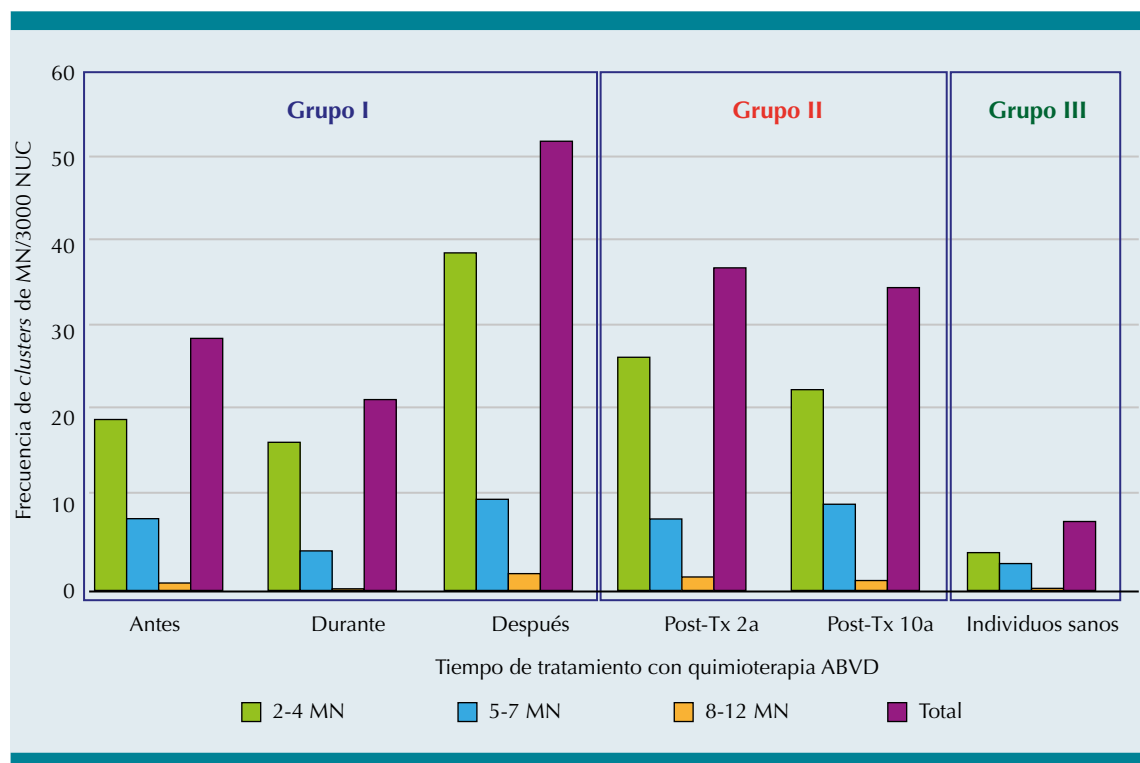


Figura 1. Frecuencia de *clusters* de micronúcleos en la población de estudio.