

Síndrome de Pearson. Reporte de un caso.

*Francisco Cammarata-Scalisi¹, Ester López-Gallardo², Sonia Emperador²,
Eduardo Ruiz-Pesini³, Gloria Da Silva¹, Nolis Camacho⁴, Julio Montoya².*

¹Unidad de Genética Médica. Departamento de Puericultura y Pediatría,
Universidad de Los Andes.

²Departamento de Bioquímica y Biología Molecular y Celular, Universidad de Zaragoza.
Centro de Investigación Biomédica En Red de Enfermedades Raras (CIBERER).
Zaragoza, España.

³Fundación Agencia Aragonesa para la Investigación y Desarrollo (ARAID).
Zaragoza, España.

⁴Unidad de Crecimiento y Nutrición, Departamento de Puericultura y Pediatría,
Universidad de Los Andes. Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes.
Mérida, Venezuela.

Palabras clave: síndrome de Pearson, anemia sideroblástica, disfunción de
páncreas exocrino, delección, ADN mitocondrial.

Resumen. Entre las etiologías de anemias en la infancia, las citopatías mitocondriales son poco frecuentes. El síndrome de Pearson se diagnostica principalmente durante etapas iniciales de la vida y es caracterizado por anemia sideroblástica refractaria con vacuolización de células progenitoras en la médula ósea, disfunción del páncreas exocrino y variables alteraciones neurológicas, hepáticas, renales y endocrinas. En el siguiente informe reportamos un nuevo caso de lactante mayor femenino de 14 meses de edad, evaluada de forma multicéntrica con diagnóstico clínico y molecular de síndrome de Pearson, con la delección común de 4.977 pares de bases del ADN mitocondrial. Esta entidad ha sido asociada a diversos fenotipos dentro del amplio espectro clínico de las enfermedades mitocondriales.

Pearson syndrome. Case report.*Invest Clin 2011; 52(3):261 - 267*

Key words: Pearson syndrome, sideroblastic anemia, exocrine pancreatic dysfunction, deletion, mitochondrial DNA.

Abstract. Among the etiologies of anemia in the infancy, the mitochondrial cytopathies are infrequent. Pearson syndrome is diagnosed principally during the initial stages of life and it is characterized by refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow progenitor cells, exocrine pancreatic dysfunction and variable neurologic, hepatic, renal and endocrine failures. We report the case of a 14 month-old girl evaluated by a multicentric study, with clinic and molecular diagnosis of Pearson syndrome, with the 4,977-base pair common deletion of mitochondrial DNA. This entity has been associated to diverse phenotypes within the broad clinical spectrum of mitochondrial disease.

Recibido: 03-01-2011. Aceptado: 05-05-2011

INTRODUCCIÓN

El síndrome de Pearson (SP, OMIM 557000), es una citopatía mitocondrial multiorgánica infrecuente, resultante de un defecto en la fosforilación oxidativa debido a deleción (1, 2), o duplicación del ADN mitocondrial (ADNmt) (2). Presenta mal pronóstico y la muerte ocurre con frecuencia en la infancia (3). Se caracteriza por anemia sideroblástica, deficiencia de páncreas exocrino, enfermedad hepática y tubulopatía renal (4). Además, fallo en el crecimiento, pancitopenia, marcado incremento de lactato sérico y en líquido cefalorraquídeo, oftalmoplejía externa progresiva, miopatía proximal con debilidad y alteraciones neurológicas (5). Fue descrito inicialmente por Pearson y col. (6), en 1979, y veinte años después Rötig y col. (7), reportan una deleción de 4.977 pb en el ADNmt como la causa más común de esta entidad. Hasta el momento menos de setenta casos se han publicado en la literatura internacional. En el siguiente informe presentamos un caso de lactante mayor fe-

menina quien fue valorada de forma multidisciplinaria y multicéntrica con el diagnóstico clínico y molecular de SP.

CASO CLÍNICO

Lactante mayor femenina de 14 meses de edad referida a la Unidad de Genética Médica-Universidad de Los Andes, por anemia sideroblástica recurrente y malaabsorción intestinal.

Antecedentes familiares

Producto de unión no consanguínea, presentó isonimia. Padre 53 años de edad, con espondilitis anquilosante; madre 44 años de edad, sana. La propósito es la menor de una prole de cuatro hermanos. Se niega clínica similar en ambas familias.

Antecedentes perinatales

Producto de VI gèsta (III Para, I cesàrea, I aborto, I embarazo ectòpico), embarazo simple controlado, sin complicaciones aparentes. Obtenida por cesàrea segmentaria a tèrmino por distocia de dilataciòn.

Peso al nacer: 3.450 gramos, talla al nacer: 49 centímetros. No ameritó hospitalización durante período neonatal.

Antecedentes personales

Piel marmórea a los 15 días de vida e irritabilidad. Sostén cefálico y sedestación sin apoyo adecuados, no realizó marcha. Inició de enfermedad actual a los 4 meses de edad, caracterizado por fiebre y palidez cutánea mucosa presentando anemia sideroblástica severa, requiriendo múltiples hospitalizaciones.

Estudios realizados

Hematología completa: a los cuatro meses de edad se encontró hemoglobina de 5 g/dL; leucocitos: $6.000 \times \text{mm}^3$, recuento diferencial: linfocitos 92%, segmentados 4%, monocitos 1%, mielocitos 1%, eosinófilos 2%; plaquetas $150.000 \times \text{mm}^3$. Estudios de hematología posteriores reportaron anemia sideroblástica severa recurrente a pesar de transfusiones de concentrado globular con tendencia a la pancitopenia. A pesar que le se realizó biopsia de médula ósea no se presentó resultado por coagulación de la muestra. Electrolitos en sudor sin alteración.

Prueba de absorción intestinal realizada a los cuatros meses de edad mostró: heces líquidas, moco positivo, heterogéneo, color mostaza, pH 5.5, se observaron levaduras gemantes y sin gemar 1-3 por campo, gotas de grasas pequeñas 7-9 por campo, gotas de grasas diminutas mayores de 20 por campo. Azúcares reductores negativo, test de sacarosa 125. Estudio repetido a los siete meses de edad reportó: heces líquidas, homogénea, color marrón, pH 5. Gotas de grasas medianas 2-3 por campo, gotas de grasas pequeñas mayores de 20 por campo. Azúcares reductores 750, test de sacarosa 1500.

Hospitalizada al año de edad con impresión diagnóstica de anemia sideroblástica severa recurrente dependiente de transfusiones con componentes en falla de pro-

ducción. Se descartó anemia hemolítica y enfermedad celíaca. Los perfiles de hemoglobiopatías y talasemias fueron negativos. Se descartaron bacterias y parásitos, ante síndrome diarreico crónico. Ecografía abdominal, videogastroscoopia y videorectosigmoidoscopia normales. Fue valorada por los Servicios de Endocrinología presentando hipotiroidismo, a su vez fue valorada por el Servicio de Nefrología Pediátrica por hipopotasemia recurrente y acidosis metabólica severa. A pesar de recibir tratamiento de sostén multidisciplinario, presentó evolución clínica desfavorable falleciendo a los 21 meses de edad. La anemia sideroblástica severa recurrente, acidosis metabólica y signos sugestivos de insuficiencia pancreática, llevó a la sospecha de SP, solicitándose el estudio molecular.

Análisis genético-molecular del ADN mitocondrial

Se realizó sobre ADN total aislado de células sanguíneas de la paciente mediante los métodos convencionales. Para ello, la sangre periférica (5 mL) se diluyó en cuatro volúmenes de tampón TE (20 mM Tris-HCl, 5 mM EDTA pH 8). Se mezcló suavemente y los tubos se mantuvieron en hielo durante 15 min. A continuación se centrifugaron a $6.000 \times g$ a 4°C por 15 min. El sedimento celular obtenido se lavó con 20 mL de tampón TE y, finalmente, se volvieron a centrifugar a $6.000 \times g$. El sedimento final, compuesto fundamentalmente por células blancas, se resuspendió en 1,5 ml de 0,4% SDS, se le añadió $200 \mu\text{g}/\text{mL}$ proteinasa K disuelta en tampón TE y se incubó a 37°C durante toda la noche. Transcurrido este tiempo, se realizaron dos extracciones con igual cantidad de fenol. alcohol isoamílico. cloroformo (25:25:1), se recogió la fase acuosa y el ADN se precipitó mediante la adición de 2 volúmenes de etanol frío al 99%. El ADN total así obtenido se resuspendió en agua estéril.

El estudio de deleciones en el ADN mitocondrial (ADNm_t) se realizó mediante amplificación de este ADN por PCR-largo utilizando los siguientes oligonucleótidos cebadores específicos: Directo (posición 4471 a 4502) 5' TTAATCCCCTGGCCCAAC CCGTCATCTACTC-3', e inverso (posición 16496 a 16464) 5'CGGATACAGTTCACCTT AGCTACCCCAAGTG-3', que amplificarían un fragmento de 12.026 pb con la molécula normal de ADNm_t. De este modo se detectó una deleción de aproximadamente 5 kb (fragmento de 7 kb, Fig. 1A). Ésta se mapeó mediante la comparación de los productos de digestión obtenidos al cortar con diferentes enzimas de restricción el ADNm_t normal y el delecionado. Este mapeado, permitió poder escoger los oligonucleótidos cebadores correctos: Directo (posición 8278 a 8297) 5'CTACCCCTCTAGAGCCC

AC-3', e inverso (posición 13582 a 13560) 5'TAGCGATGAGAGTAATAGATAGG-3', para amplificar el área del ADNm_t que contenía las secuencias donde se encontraba la deleción y obtener de este modo, por secuenciación automática, los límites exactos de la deleción, Fig. 1B. Así, se identificó una deleción del ADNm_t de 4.977 pb que está localizada entre las posiciones 8.482 a 13.460, que corresponde a la así llamada "deleción común", Figs. 1C y D.

DISCUSIÓN

El síndrome medula/páncreas de Pearson se encuentra asociado con deleciones a gran escala del ADNm_t, rearrreglos o duplicaciones. La presentación clínica incluye anemia sideroblástica, acidosis metabólica e insuficiencia pancreática exocrina en los

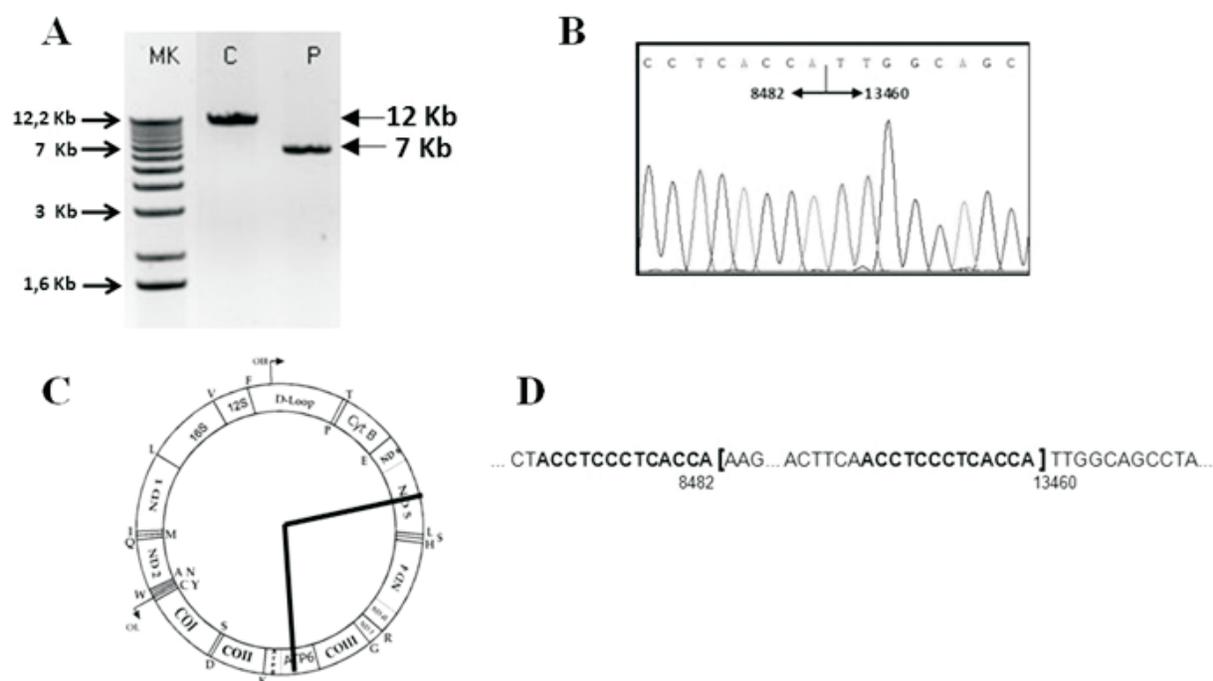


Fig. 1. Análisis de deleciones en el ADNm_t. (A) Amplificación por PCR largo del ADNm_t del paciente. (B) Determinación de los límites de la deleción mediante secuenciación automática. (C). Representación esquemática de la zona delecionada en la molécula de ADNm_t. (D) Análisis de la secuencia del ADNm_t que flanquea los puntos de corte de la deleción. C: ADNm_t control, P: ADNm_t del paciente, M: MK marcador de peso molecular (DNA Molecular Weight Marker X (0.07-12.2 kbp)) de Roche.

primeros seis meses de edad. La anemia con frecuencia es el hallazgo más prominente, la medula ósea se caracteriza por maduración no megaloblástica con vacuolización de precursores eritroides, mieloides y anillos sideroblásticos (8). La presentación clínica es variable, Por lo que es necesario un adecuado seguimiento de la evolución del paciente y un detallado estudio bioquímico-molecular para establecer el diagnóstico (9). La mayor serie de casos estudiados del SP, se realizó en Francia, el cual, abarcó a 30 pacientes. Los autores resaltan en dos de ellos la ausencia de disfunción del páncreas exocrino; lo que produce retardo del diagnóstico (10), por ello, las mitocondriopatías deben ser consideradas en niños con anemia refractaria no explicable, sin síntomas neuromusculares (11).

Aunque no es frecuente encontrar anomalías cardíacas, se ha encontrado empeoramiento de su función afectando principalmente el ventrículo izquierdo, aunque sea un hallazgo final y no principal, por ende, el SP puede ser considerado diagnóstico diferencial en paciente con disfunción ventricular izquierda de origen incierto con otros hallazgos clínicos sugestivos de enfermedad mitocondrial (12). El bloqueo cardíaco completo de aparición temprana igualmente, ha sido reportado en un paciente con SP (13). Además, a nivel gastrointestinal se ha asociado con enfermedad celíaca (14).

La encefalopatía mitocondrial ha sido descrita desde el período neonatal (2). Lee y col. (15), revisaron el total de 55 casos publicados hasta el 2007, reportando los hallazgos neurológicos de 11 pacientes, de los cuales se disponía descripción detallada y se destacó: hipotonía, retardo del desarrollo y ataxia. Los hallazgos de neuroimagen en el SP fueron diversos en la sustancia blanca cerebral, cerebelo, ganglios basales y médula espinal. Los hallazgos neurológicos

en el SP, presentan una evolución potencial de cambios de normal a leve déficits hasta síndromes mitocondriales como los Kearns-Sayre y Leigh. A nivel oftalmológico se ha observado la presencia de cataratas zonular bilateral y posterior desarrollo de estrabismo, por lo que su valoración es necesaria ante posible ambliopía. Las citopatías mitocondriales deben incluirse como diagnóstico diferencial de la catarata congénita y la de aparición juvenil (16).

La mayoría de los pacientes con patologías mitocondriales son diagnosticados por defectos en las enzimas de la cadena respiratoria o mutación en el ADNmt. El adecuado consejo genético y opciones reproductivas a estas familias es compleja por las características genéticas únicas de la herencia mitocondrial, que la distingue de los patrones clásicos de herencia Mendeliana. Estos incluyen: herencia materna, heteroplasmia, efecto umbral, embotellamiento mitocondrial, variación y selección de tejidos. Aunque aún hay mucho que aprender sobre la genética mitocondrial, actualmente es posible proveer una guía útil a las familias con estos tipos de alteraciones genéticas (17). En una serie de 21 casos con SP, nueve pacientes presentaron la delección de 4.9 kilobases, mientras que los otros pacientes presentaron delecciones diferentes con un rango de tamaño de 9 a 14 kb (18). La mutación común de delección de 4977 pares de bases del ADNmt ha sido identificado en asociación con un número distintivo de fenotipos clínicos, entre los cuales, incluyen el síndrome de Kearns-Sayre, oftalmoplejía externa progresiva crónica y el estudiado en este informe. Los hallazgos clínicos y patológicos en dos hermanos con este tipo de mutación fue neuropatía sensoriomotor periférica prominente y fallo hepático y renal de aparición temprana. La no asociación previa de estos hallazgos y tipo de alteración, expanden el espectro de la enfermedad mitocondrial (19).

En el análisis genético-molecular del ADNmt se identificó una delección de 4977 pares de bases, que elimina un fragmento de ADN que va desde el nucleótido 8.482 hasta 13.460. No se pudo determinar el porcentaje de heteroplasmia en la que se encuentra esta delección, por no haber sido posible estudiarla por Southern Blot. La delección elimina parcial o totalmente cuatro polipéptidos del complejo I (subunidades ND3, ND4, ND4L y ND5), una subunidad del complejo IV (COIII), dos de la ATPasa (subunidades 6 y 8) y cinco genes de los ARN de transferencia (ARNt) para glicina, arginina, histidina, serina y leucina. La presencia de esta delección del ADNmt producirá cantidades menores de los productos de transcripción de los genes que se encuentran en el fragmento deleccionado, una proteína de fusión y un defecto general en la síntesis de proteínas causado por la falta de varios ARNt. La delección común conserva, sin embargo, los orígenes de replicación y promotores de la transcripción de ambas cadenas del ADNmt, como es habitual en la mayor parte de las delecciones descritas.

Se han descrito numerosas delecciones diferentes en el ADNmt en pacientes con diversas enfermedades mitocondriales, muchas de estas se han mapeado y se ha observado que están flanqueadas por repeticiones directas, indirectas o por secuencias palindrómicas. La delección común detectada en nuestra paciente está rodeada por una repetición directa perfecta de 13 pares de bases. Estos datos sugieren que la delección puede haberse originado por mecanismos de recombinación homóloga o de replicación errónea.

El SP es una entidad infrecuente y este representa el primer caso reportado en Venezuela. Precisar la alteración molecular es necesario para el diagnóstico y ofrecer un oportuno consejo genético. Este informe destaca la no correlación de genotipo-fenotipo, en la delección de 4.977 pares de bases

del ADNmt, Otros factores genéticos y fenómenos epigenéticos pueden intervenir en esta diversidad fenotípica.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo ha sido subvencionado por el Instituto de Salud Carlos III (FIS-PI10/00662; PI08-0264), Diputación General de Aragón (Grupo Consolidado B33). CIBERER es una iniciativa del Instituto de Salud Carlos III.

REFERENCIAS

1. Manea EM, Leverger G, Bellmann F, Stanescu PA, Mircea A, Lèbre AS, Rötig A, Munnich A. Pearson syndrome in the neonatal period: two case reports and review of the literature. *J Pediatr Hematol Oncol* 2009; 31:947-951.
2. Morel AS, Joris N, Meuli R, Jacquemont S, Ballhausen D, Bonafé L, Fattet S, Tolsa JF. Early neurological impairment and severe anemia in a newborn with Pearson syndrome. *Eur J Pediatr* 2009; 168:311-315.
3. Lohi O, Kuusela AL, Arola M. A novel deletion in a Pearson syndrome infant with hypospadias and cleft lip and palate. *J Inher Metab Dis* 2005; 28:1165-1166.
4. Kefala-Agoropoulou K, Roilides E, Lazaridou A, Karatza E, Farmaki E, Tsantali H, Augoustides-Savvopoulou P, Tsiouris J. Pearson syndrome in an infant heterozygous for C282Y allele of HFE gene. *Hematology* 2007; 12:549-553.
5. Taghi M, Eghbali A, Karimzade P, Ahmadi M, Houshmand M, Rezaei N. mtDNA Deletion in an iranian infant with Pearson marrow syndrome. *Iran J Pediatr* 2010; 20:107-112.
6. Pearson HA, Lobel JS, Kocoshis SA, Naiman JL, Windmiller J, Lammi AT, Hoffman R, Marsh JC. A new syndrome of refractory sideroblastic anemia with vacuolization of marrow precursors and exocrine pancreatic dysfunction. *J Pediatr* 1979; 95:976-984.

7. **Rötig A, Collonna M, Bonnefont JP, Blanche S, Fischer A, Saudubray JM, Munnich A.** Mitochondrial DNA deletion in Pearson's marrow/pancreas syndrome. *Lancet* 1989; 22:902-903.
8. **Bergmann AK, Campagna DR, McLoughlin EM, Agarwal S, Fleming MD, Bottomley SS, Neufeld EJ.** Systematic molecular genetic analysis of congenital sideroblastic anemia: evidence for genetic heterogeneity and identification of novel mutations. *Pediatr Blood Cancer* 2010; 54:273-278.
9. **Topaloğlu R, Lebre AS, Demirkaya E, Kuşkonmaz B, Coşkun T, Orhan D, Gürgey A, Gümrük F.** Two new cases with Pearson syndrome and review of Hacettepe experience. *Turk J Pediatr* 2008; 50:572-576.
10. **Atale A, Bonneau-Amati P, Rötig A, Fischer A, Perez-Martin S, de Lonlay P, Niaudet P, De Parseau L, Mousson C, Thauvin-Robinet C, Munnich A, Huet F, Faivre L.** Tubulopathy and pancytopenia with normal pancreatic function: a variant of Pearson syndrome. *Eur J Med Genet* 2009; 52:23-26.
11. **Knerr I, Metzler M, Niemeyer CM, Holter W, Gerecke A, Baumann I, Trollmann R, Repp R.** Hematologic features and clinical course of an infant with Pearson syndrome caused by a novel deletion of mitochondrial DNA. *J Pediatr Hematol Oncol* 2003; 25:948-951.
12. **Krauch G, Wilichowski E, Schmidt KG, Mayatepek E.** Pearson marrow-pancreas syndrome with worsening cardiac function caused by pleiotropic rearrangement of mitochondrial DNA. *Am J Med Genet* 2002; 110:57-61.
13. **Rahman S, Leonard JV.** Early onset of complete heart block in Pearson syndrome. *J Inher Metab Dis* 2000; 23:753-754.
14. **Köklü S, Alioğlu B, Akbal E, Koçak E.** Celiac disease in siblings with Pearson syndrome. *Am J Med Sci* 2010; 339:392-394.
15. **Lee HF, Lee HJ, Chi CS, Tsai CR, Chang TK, Wang CJ.** The neurological evolution of Pearson syndrome: case report and literature review. *Eur J Paediatr Neurol* 2007; 11:208-214.
16. **Cursiefen C, Kühle M, Scheurlen W, Naumann GO.** Bilateral zonular cataract associated with the mitochondrial cytopathy of Pearson syndrome. *Am J Ophthalmol* 1998; 125:260-261.
17. **Thorburn DR, Dahl HH.** Mitochondrial disorders: genetics, counseling, prenatal diagnosis and reproductive options. *Am J Med Genet* 2001; 106:102-114.
18. **Rötig A, Bourgeron T, Chretien D, Rustin P, Munnich A.** Spectrum of mitochondrial DNA rearrangements in the Pearson marrow-pancreas syndrome. *Hum Mol Genet* 1995; 4:1327-1330.
19. **McDonald DG, McMenamin JB, Farrell MA, Droogan O, Green AJ.** Familial childhood onset neuropathy and cirrhosis with the 4977bp mitochondrial DNA deletion. *Am J Med Genet* 2002; 111:191-194.