

Anemia sideroblástica por una variante en el gen *ALAS2*

Sideroblastic anemia with a mutation in *ALAS2* gen

Aguirre F^{ORCID}, Albero A^{ORCID}, Pepe C^{ORCID}, Ávalos V^{ORCID}, Chaves A^{ORCID},
Fernández D^{ORCID}, González M^{ORCID}, Nieto L^{ORCID}, Milanesio B^{ORCID}, Rossetti E^{ORCID},
Masegosa E^{ORCID}, Escobar R^{ORCID}, Eandi Eberle S^{ORCID}.

Servicio de Hematología - Oncología, Hospital de Pediatría "Profesor Doctor Juan Pedro Garrahan". Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina..

feraguirreu@yahoo.com.ar

Fecha recepción: 22/5/2024
Fecha aprobación: 17/7/2024



ARTÍCULO
ORIGINAL
PEDIATRÍA

HEMATOLOGÍA
Volumen 28 n° 2: 6-10
Mayo - Agosto 2024

Palabras claves: anemia sideroblástica,
ALAS2,
microcitosis.

Keywords: sideroblastic anemia,
ALAS2,
microcytosis

Resumen

Las anemias sideroblásticas (AS) son un grupo heterogéneo de patologías raras en las que se ve afectada la biosíntesis del hemo y la utilización del hierro durante la síntesis de la hemoglobina. Se caracterizan por la presencia en médula ósea de precursores eritroides con depósitos patológicos de hierro en las mitocondrias. Pueden ser congénitas o adquiridas. La forma hereditaria más común es la ligada al cromosoma X (ASLX), debido a variantes genéticas en el gen *ALAS2* que codifica para la primera enzima en la biosíntesis del hemo, la delta aminolevulinato sintetasa 2 (*ALAS2*). Afecta predominantemente a varones hemizigotas, que se presentan con anemia microcítica hipocrómica. En algunos pacientes es efectivo el tratamiento con fosfato de piridoxal. Presentamos tres casos relacionados de ASLX por alteración del gen *ALAS2*.

Abstract

Sideroblastic anemias (SAs) are a heterogeneous group of rare pathologies in which heme biosynthesis and iron utilization during hemoglobin synthesis is affected. They are characterized by the presence in the bone marrow of erythroid precursors with pathological iron deposits in the mitochondria. They can be congenital or acquired. The most common hereditary form is X-linked (XLSA), caused by genetic variants in the *ALAS2* gene, which encodes for the first enzyme in heme biosynthesis, the delta-aminolevulinic acid synthetase 2 (*ALAS2*). It predominantly affects hemizygous males, who present with microcytic hypochromic anemia. In some patients, treatment with pyridoxal phosphate is effective. We present three related cases of XLSA due to alteration in the *ALAS2* gene.

Introducción

Las anemias sideroblásticas (AS) son un grupo heterogéneo de patologías raras en las que se ve afectada la biosíntesis del hemo y la utilización del hierro durante la síntesis de la hemoglobina. Se caracterizan por la presencia en médula ósea de precursores eritroides con depósito patológico perinuclear de hierro a nivel de la matriz mitocondrial (sideroblastos en anillo), que son evidenciados por medio de la tinción de Perls⁽¹⁾.

Pueden ser congénitas o adquiridas. Éstas últimas resultan de la exposición a ciertas drogas o alcohol o pueden ser secundarias a deficiencia de cobre o sobredosis de zinc. Las AS congénitas, mucho menos frecuentes que las adquiridas, pueden deberse a la alteración de los genes involucrados en la biosíntesis del hemo, de los complejos Fe/S o de proteínas mitocondriales.

La herencia puede ser recesiva ligada al cromosoma X (ASLX), autosómica recesiva (ASAR), autosómica dominante (ASD) o mitocondrial (ASM), lo que explica su gran abanico de manifestaciones clínicas. La ASLX causada por variantes con pérdida de función en el gen *ALAS2* (Xp11.21) es la más frecuente de las AS congénitas. Este gen está compuesto por 11 exones, 10 de los cuales codifican para la proteína delta aminolevulinatosintetasa 2 (*ALAS2*) de 587 aminoácidos (el exón 1 es no codificante y actúa como regulador de la traducción de la proteína dependiente de hierro). *ALAS2* participa en el primer paso de la biosíntesis del hemo, condensando la glicina con la succinilcoenzima A para formar el ácido delta-aminolevulínico, utilizando piridoxal fosfato como cofactor.

Se han documentado más de 100 variantes genéticas diferentes en *ALAS2* asociadas a ASLX. La mayoría de las variantes son de tipo *missense* y ocurren entre los exones 5 y 11, que codifican para el dominio catalítico de la enzima (aminoácidos 143-544), donde se encuentran el sitio activo, el sitio de unión a piridoxal fosfato (Lisina 391) y el sitio de unión al homodímero. Se han descrito también, en menor medida, variantes genéticas en la región reguladora del gen, como el promotor y el intrón 1. En general, las alteraciones descritas producen una disminución en la expresión de *ALAS2*, en su estabilidad o en la afinidad por el cofactor piridoxal fosfato, lo que explicaría la respuesta clínica a piridoxina en algunos casos⁽²⁾. Algunas mujeres clínicamente afectadas

pueden presentar también variantes heterocigotas nulas⁽³⁾.

La prevalencia de ASLX no está determinada, pero en la literatura se describen aproximadamente 200 casos⁽⁴⁾.

Los pacientes varones con ASLX se presentan con anemia microcítica, que puede ser severa requiriendo soporte transfusional. Los hallazgos de laboratorio incluyen anemia microcítica, con elevada amplitud de distribución eritrocitaria (ADE), evidencia en el frotis de sangre periférica de anisocitosis con microcitosis, hipocromía marcada, poiquilocitosis, dianocitos y ocasionalmente siderocitos. El aspirado de médula ósea evidencia, mediante la tinción de Perls, abundantes sideroblastos en anillo en los precursores eritroides.

Las mujeres portadoras en general son asintomáticas o presentan una anemia leve⁽⁵⁾. No obstante, se han reportado varios casos de mujeres heterocigotas sintomáticas, de severidad variable, debido a la inactivación sesgada del cromosoma X. Pueden presentarse con macrocitosis o microcitosis, respuesta diferente a la piridoxina y edad de presentación⁽⁶⁾.

Presentamos tres casos relacionados pertenecientes a una familia de ASLX por alteración del gen *ALAS2*.

Caso clínico

Paciente de sexo masculino de 13 años, oriundo de la ciudad de La Plata, que consulta en el Servicio de Hematología y Oncología por presentar anemia microcítica hipocrómica tratada con fosfato de piridoxal. Su tío materno, estudiado en otra institución por anemia microcítica y sobrecarga severa de hierro, fue inicialmente diagnosticado y tratado como una anemia de Blackfan-Diamond a pesar de la microcitosis. Ante la falta de respuesta al tratamiento, se llevó a cabo una punción de médula ósea que evidenció una franca hiperplasia eritroide, y mediante la tinción de Perls, numerosos sideroblastos en anillo. Con este dato y la presencia de una anemia microcítica leve en su hermana (madre del propósito) se planteó la posibilidad diagnóstica de ASLX y se inició prueba terapéutica con fosfato de piridoxal, obteniéndose mejoría clínica y de laboratorio.

Se realiza estudio de patología eritrocitaria al propósito, su madre (40 años), su padre (53 años), sus dos hermanos (10 y 15 años) y su tío materno (43 años). Para su diagnóstico fueron utilizadas técnicas convencionales de estudio [hemograma automatizado,

frotis de sangre periférica, curva de fragilidad osmótica (CFO), electroforesis capilar a pH alcalino (EC), parámetros de hemólisis, metabolismo del hierro)], y secuenciación por el método de Sanger de los exones y regiones intrónicas flanqueantes del gen *ALAS2*.

Tanto el propósito como su madre presentaron microcitosis e hipocromía con reticulocitos dentro del rango de referencia y alteraciones severas de la morfología eritroide. Sólo en el primer caso se demostró descenso de la Hb. En ambos, la CFO fue normal. La EC mostró bandas de Hb A y Hb A2 sin particularidades cuantitativas. Los parámetros de hemólisis y el metabolismo del hierro no presentaron modificaciones con respecto a los valores normales. Su padre y sus hermanos no presentaron particularidades en los exámenes de laboratorio. Su tío materno, sin anemia actual, pero con índices hematimétricos alterados, presentó franca microcitosis e hipocromía con perfil férrico en el límite superior. En el propósito, su tío y su madre el estudio molecular permitió la identificación de una variante c.1354C>T (NM_00032.5) hemicigota y heterocigota respectivamente, en el gen *ALAS2* (p.Arg452Cys) clasificada como patogénica (PS3, PP1_strong, PS4_moderate, PM1, PM5, PM2_supporting, PP2, PP3) según las guías del Colegio Americano de Genética y Genómica Médica (ACMG)⁽⁷⁾ y las recomendaciones de ClinGen⁽⁸⁾. La tabla 1 muestra los datos de laboratorio.

Discusión

La ASLX, debida a la presencia de variantes con pérdida de función en el gen *ALAS2* (Xp11.21), que codifica para la enzima delta aminolevulinato-sintetasa

2, es la causa más común de anemias sideroblásticas hereditarias.

La variante c.1354C>T (NM_00032.5) identificada en el propósito, tío materno y madre, es una variante de tipo *missense*, que se presume que causaría la sustitución de una arginina por una cisteína en el aminoácido 452 de la proteína *ALAS2*. La posición Arg452 es una zona *hot spot* donde se han reportado a su vez, otros cambios patogénicos en ese mismo residuo aminoacídico (p.Arg452His, p.Arg452Leu, p.Arg452Gly y p.Arg452Ser). Los ensayos funcionales demostraron que, si bien la actividad de la enzima no disminuye con respecto a la *wild type*, el cambio aminoacídico provocaría una alteración en la cinética de unión a piridoxal fosfato y una disminución de la afinidad por el sustrato succinil-CoA)⁽⁹⁾. Esta variante fue ampliamente reportada en la literatura asociada a ASLX donde se ha descrito una gran variabilidad en cuanto a la severidad de la anemia y a la respuesta a la piridoxina, incluso entre pacientes con la misma variante en *ALAS2*, por lo que se cree que existirían factores adicionales in vivo que contribuirían a esas diferencias⁽⁹⁻¹²⁾.

Los antecedentes familiares, clínica, estudios de patología eritrocitaria y de biología molecular permitieron la caracterización de la expresión fenotípica asociada a esta variante patogénica en el gen *ALAS2*, en el propósito, su mamá y su tío materno, ya reportada en la bibliografía. La expresión clínica de los tres integrantes de la familia fue diferente, en parte, debido al tipo de herencia y edades de los mismos. Pudo arribarse al diagnóstico de certeza y establecer un adecuado asesoramiento genético y manejo terapéutico.

Tabla 1.

Estudios efectuados		Propósito (13 años)	Madre (40 años)	Tío materno (43 años)
Eritrocitos (10 ¹² /L)		5,58	4,73	7,07
Hemoglobina (g/dL)		11,7	12,3	15,0
Hematocrito (%)		37,0	37,3	46,8
VCM (fL)		66,3	78,9	66,2
HCM (pg)		21,0	26,0	21,2
CHCM (g/dL)		26,6	33,0	32,1
ADE (%)		24,2	28,9	26,6
Morfología eritrocitaria	Anisocitosis	++++	++++	+++
	Microcitosis	++++	++++	++++
	Hipocromía	+++	++++	+++
	Poiquilocitosis	++++	+++	+++
	Esferocitos	+	-	+
	Ovalocitos	+++	++	++
	Eliptocitos	++	+	+
	Esquizocitos	+	+	+
	Dacriocitos	-	-	+
	Dianocitos	+	+	+
	Punteado basófilo	+	+	+
	Distribución anómala de la Hb	+	+	+
	Leptocitos	+	++	-
	Estomatocitos	+	+	+
	Cuerpos de Pappenheimer	++	-	-
	Hematíes irregularmente contraídos	+	+	+
Doble población		+	+	+
Reticulocitos (%)		0,76	1,10	1,03
IPR		0,33	0,50	0,51
Ferritina (ng/mL)		69,50	66,58	479,59
Ferremia (µg/dL)		128,52	167,42	296,30
TIBC (µg/dL) /		352	344	413
Saturación (%)		37	49	72
Bilirrubina total (mg/dL) /		<0,35	0,39	NR
Bilirrubina directa (mg/dL)		< 0,12	0,15	NR
LDH (UI/L)		153	150	116
Haptoglobina (70-372 mg/dL)		134	152	71
CFO (0,53-0,61 g NaCl/100mL sol)		0,54	0,54	0,54
Cuerpos de inclusión		Dudosos	No se observan	No se observan
Electroforesis de Hb a pH alcalino (%)	Hb A	97,6	97,4	97,4
	Hb F	<0,3	<0,3	<0,3
	Hb A2	2,4	2,6	2,6
Secuenciación del gen ALAS2		c.1354C>T (p.Arg452Cys): Hemicigota	c.1354C>T (p.Arg452Cys): Heterocigota	c.1354C>T (p.Arg452Cys): Hemicigota

Conflictos de interés: los autores declaran no poseer conflictos de interés.

Agradecimiento: los autores agradecen al Méd. Gustavo Chiappe por su aporte en este trabajo.

References

1. Camaschella C. Recent advances in the understanding of inherited sideroblastic anaemia. *Br. J Haematol.* 2008 Oct;143(1):27-38.
2. Fujiwara T, Harigae H. Molecular pathophysiology and genetic mutations in congenital sideroblastic anemia. *Free Radic Biol Med.* 2019 Mar;133:179-185. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2018.08.008.
3. Cortesão E, Vidan J, Pereira J y col. Onset of X-linked sideroblastic anemia in the fourth decade. *Haematologica.* 2004 Oct;89(10):1261-3.
4. Abu-Zeinah G, De Sancho MT. Understanding Sideroblastic Anemia: An Overview of Genetics, Epidemiology, Pathophysiology and Current Therapeutic Options. *J Blood Med.* 2020 Sep 25;11:305-318.
5. Ding Y, Yang K, Liu X y col. A Novel ALAS2 Mutation Causes Congenital Sideroblastic Anemia. *Mediterr J Hematol Infect Dis.* 2023 Nov 1;15(1):e2023062.
6. Nzelu D, Shangaris P, Story L y col. X-linked sideroblastic anaemia in a female fetus: a case report and a literature review. *BMC Med Genomics.* 2021 Dec 20;14(1):296. doi: 10.1186/s12920-021-01146-z.
7. Richards S, Aziz N, Bale S y col. ACMG Laboratory Quality Assurance Committee. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015 May;17(5):405-24. doi: 10.1038/gim.2015.30.
8. <https://clinicalgenome.org/working-groups/sequence-variant-interpretation/>
9. Furuyama K, Harigae H, Heller T y col. Arg452 substitution of the erythroid-specific 5-aminolaevulinate synthase, a hot spot mutation in X-linked sideroblastic anaemia, does not itself affect enzyme activity. *Eur J Haematol.* 2006 Jan;76(1):33-41. doi: 10.1111/j.1600-0609.2005.00541.x.
10. Bishop DF, Tchaikovskii V, Hoffbrand AV y col. X-linked sideroblastic anemia due to carboxyl-terminal ALAS2 mutations that cause loss of binding to the β -subunit of succinyl-CoA synthetase (SUCLA2). *J Biol Chem.* 2012 Aug 17;287(34):28943-55. doi: 10.1074/jbc.M111.306423.
11. Ducamp S, Kannengiesser C, Touati M y col. Sideroblastic anemia: molecular analysis of the ALAS2 gene in a series of 29 probands and functional studies of 10 missense mutations. *Hum Mutat.* 2011 Jun;32(6):590-7. doi: 10.1002/humu.21455.
12. Kucerova J, Horvathova M, Mojzickova R y col. New mutation in erythroid-specific delta-aminolevulinic synthase as the cause of X-linked sideroblastic anemia responsive to pyridoxine. *Acta Haematol.* 2011;125(4):193-7. doi: 10.1159/000322870.



Atribución – No Comercial – Compartir Igual (by-nc-sa): No se permite un uso comercial de la obra original ni de las posibles obras derivadas, la distribución de las cuales se debe hacer con una licencia igual a la que regula la obra original. Esta licencia no es una licencia libre.