

Vzácné anémie ze skupiny vrozených syndromů selhání kostní dřeně

Dagmar Pospíšilová

Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

Souhrn

Přehledný článek přibližuje patofyziologii, molekulárně-genetickou podstatu a klinické projevy anémií ze skupiny vrozeného selhání kostní dřeně s postižením erytroidní linie. Zahrnuje nejnovější poznatky o třech onemocněních, jejichž podstata byla odhalena až v posledních letech díky pokrokům v oblasti molekulární genetiky: Diamondově-Blackfanově anémii, kongenitální dyserythropoetické anémii a Fanconiho anémii. Fanconiho anémie je do přehledu zařazena pro častou přítomnost makrocytózy nebo anémie při manifestaci onemocnění, u většiny pacientů se však postupně vyvíjí selhání všech hematopoetických linií. Cílem přehledu je upozornit současně na méně nápadné příznaky uvedených nemocí, které vedou k jejich přehlédnutí a pozdní diagnostice. V řadě případů je správná diagnóza stanovena až v dospělém věku nebo dokonce až při rozvoji maligního onemocnění. Včasná diagnóza je nezbytná ke stanovení správného léčebného postupu, diagnostice nemoci u členů rodiny, především při vyhledávání dárců kostní dřeně, a ke genetickému poradenství. Cílem práce je rovněž přispět ke včasné diagnostice anémií doprovázených typickými somatickými anomáliemi.

Klíčová slova: Diamondova-Blackfanova anémie – dyserythropoéza – Fanconiho anémie – kongenitální dyserythropoetická anémie – ribosomopatie – syndromy selhání kostní dřeně – systém oprav DNA – zvýšené riziko vzniku maligního onemocnění

Rare anemias from the group of congenital bone marrow failure syndromes

Summary

This review summarizes the pathophysiology, genetic background and clinical symptoms of anemias belonging to the group of inherited bone marrow failure syndromes with unilineage failure of erythropoiesis. It sums up the current knowledge of three diseases: Diamond-Blackfan anemia, congenital dyserythropoietic anemia and Fanconi anemia whose pathophysiology was elucidated in detail during the last decade, owing to the rapid development of new molecular-genetic techniques, especially next-generation sequencing. Fanconi anemia is included in this overview because of macrocytosis and/or anemia detected in the majority of the patients before they develop bone marrow failure. The paper also aims at pointing out typical associated anomalies in these diseases which might be overlooked and which can lead to early diagnosis. Unfortunately, the correct diagnosis is often established later in adulthood and, in some cases, as late as at the time of manifestation of malignant disease. Accurate and timely diagnosis of these conditions is extremely important for the determination of appropriate treatment approach, diagnosis of affected family members (especially in the process of bone marrow donor search), and genetic counselling, which can substantially influence the prognosis of these diseases.

Key words: congenital dyserythropoietic anemia – Diamond-Blackfan anemia – DNA repair – dyserythropoiesis – Fanconi anemia – inherited bone marrow failure – ribosomopathies

Úvod

Do skupiny **vrozených syndromů selhání kostní dřeně** (Inherited Bone Marrow Failure Syndromes – IBMFS) jsou řazeny vzácné poruchy krvetvorby charakterizované:

- geneticky podmíněným **selháním funkce** jedné nebo více hematopoetických linií (erytrocytární, granulocytární nebo trombocytární)
- **vrozenými anomáliemi nebo funkčními poruchami** postihujícími různé tkáně a orgány: kůže, skelet, srdce,

plicce, ledviny, centrální nervový systém, často doprovázené i malým vzrůstem

- **zvýšeným rizikem vzniku maligních onemocnění:** nejčastěji akutní myeloidní leukemie (AML), myelodysplastického syndromu (MDS) nebo některých typů solidních nádorů

Společným rysem těchto onemocnění je výrazná fenotypová variabilita jak hematologických, tak i somatic-

kých změn. Závažnější formy onemocnění se zřetelnými vrozenými anomáliemi, časnou manifestací cytopenií a rozvojem selhání kostní dřeně jsou obvykle diagnostikovány již v časném dětství v kojeneckém, batolecím nebo předškolním věku. Lehčí formy s nenápadnými anomáliemi a pozdní manifestací cytopenií mohou na druhé straně dlouho unikat pozornosti a jsou potom diagnostikovány až v dospělosti, nebo dokonce až při vypuknutí maligního onemocnění. Tuto skupinu onemocnění dělíme obvykle podle **nejvýrazněji postižené linie krvetvorby** a rozsahu jejich postižení na izolované cytopenie a pancytopenie.

U **izolovaných cytopenií** (Diamondova-Blackfanova anémie, kongenitální dyserythropoetická anémie, těžká vrozená neutropenie, trombocytopenie s chyběním radia) nedochází obvykle k rozvoji pancytopenie, u ostatních onemocnění se postupně rozvíjí pancytopenie s aplazií kostní dřeně (Fanconiho anémie, dyskeratosis congenita, Shwachmanův-Diamondův syndrom, kongenitální amegakaryocytární trombocytopenie).

Do skupiny **vrozených syndromů setkání kostní dřeně** jsou dnes řazena následující onemocnění:

- Fanconiho anémie (FA)
- dyskeratosis congenita (DC)
- syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů (Cartilage-Hair Hypoplasia – CHH)
- Diamondova-Blackfanova anémie (DBA)
- Shwachmanův-Diamondův syndrom (SDS)
- těžká vrozená neutropenie (Severe Congenital Neutropenia – SCN)
- retikulární dysgeneze (RD)
- amegakaryocytární trombocytopenie (Congenital Amegakaryocytic Thrombocytopenia – CAMT)
- trombocytopenie s chyběním radia (thrombocytopenia with absent radius – TAR)
- Pearsonův syndrom (PS)
- kongenitální dyserythropoetická anémie (Congenital Dyserythropoietic Anemia – CDA) – tato byla zařazena do skupiny IBMFS teprve v posledních letech

Epidemiologie

Všechna tato onemocnění jsou vzácná, incidence některých z nich není přesně známa. V řadě případů je regionálně odlišná a závislá na lokální frekvenci nosičství mutací příslušných genů. V některých uzavřených populačních skupinách je vyšší frekvence výskytu v důsledku tzv. efektu zakladatele (founder effect), což znamená ztrátu genetické variability, která nastává při vytvoření uzavřené nové populace s malým počtem jedinců. Typ dědičnosti je u jednotlivých chorob variabilní a závisí na charakteru vyvolávajícího genetického defektu. Při významném zlepšení diagnostických možností se v posledním desetiletí zvyšuje i počet diagnostikovaných případů. Předpokládá se tedy, že tato onemocnění jsou nedostatečně diagnostikována, a to především jejich mírnější formy. Včasné stanovení diagnózy a určení genetického defektu je přitom velmi důležité pro stanovení adekvátního plánu dlouhodobého sledování pacienta, léčebného postupu a prognózy onemocnění. Má velký význam i pro genetické poradenství a vyhledávání dalších postižených členů rodiny [1].

Vrozené syndromy kostní dřeně s postižením erytroidní linie Diamondova-Blackfanova anémie

Charakteristika

Diamondova-Blackfanova anémie (DBA) je vzácná vrozená hypoplazie erytropoézy, charakterizovaná normochromní makrocytární anémií, těžkou retikulocytopenií, normocelulární kostní dřeví se selektivním nedostatkem erytroidních prekurzorových buněk, normálním počtem leukocytů a normálním nebo lehce vyšším počtem trombocytů [2]. U 40–50 % pacientů jsou přítomny přídatné anomálie (tab. 1), asi u 30 % pacientů růstová retardace. Riziko rozvoje hematologických maligních onemocnění (MDS a AML) a solidních nádorů je 5–6krát vyšší než u zdravé populace [3].

DBA patří mezi nejčastěji se vyskytující onemocnění ve skupině syndromů selhání kostní dřeně. Poprvé byla

Tab. 1. Přehled somatických anomálií asociovaných s Diamondovou-Blackfanovou anémií

orgánový systém	spektrum anomálií	%
skelet	malý vzrůst	30–33
hlava	mikrocefalie, mikrognacie, mikrocie, nízce posazené uši, nízká vlasová hranice,	21–36
obličej	hypertelorismus, ptóza, epikantus, plochý široký kořen nosu	
patro	rozštěp patra, vysoké patro	
horní končetiny	trifalangeální palec, zdvojení nebo rozštěp palce, hypoplastický palec, syndaktylie, chybění radiální arterie	9–21
urogenitální trakt	aplazie ledvin, podkovovitá ledvina, hypospadie	7–19
kardiopulmonální	VSD, ASD, koarktace aorty, komplexní anomálie srdce	7–15
oči	kongenitální glaukom, katarakta, strabismus	12
krk	krátký krk, Klippelův-Feilův syndrom	
mozek	poruchy učení	7

ASD – vrozené srdeční vady postihující septum síní/atrial septal defects VSD – srdeční vady postihující komorové septum/ventricular septal defect

popsána jako klinická jednotka v roce 1938 americkými pediatry Louisem K. Diamondem, považovaným za zakladatele pediatrické hematologie, a Kennethem Blackfanem.

Diagnóza je v 90 % stanovena v novorozeneckém nebo kojeneckém věku. Méně často bývá onemocnění zjištěno později, v posledních letech není výjimkou stanovení diagnózy u pacientů s mírnější formou onemocnění až v dospělosti [2]. Výjimečně může být nemoc odhalena až při diagnostice maligního onemocnění v dospělém věku [2], což potvrzuje i vlastní zkušenost autorky. Rozvoj selhání kostní dřeně je vzácný.

Epidemiologie a dědičnost

Incidence je udávána v rozmezí 5–8 případů na 1 milion živě narozených. DBA se vyskytuje u mužského a ženského pohlaví v poměru 1,1 : 1. Většinu pacientů tvoří příslušníci indoevropské populace, nemoc však byla popsána i u africké negroidní populace, Japonců a Arabů.

Ve 20–40 % případů se jedná o hereditární onemocnění s autosomálně dominantním typem dědičnosti. U nově popsaných mutací v extraribosomálních genech kódujících GATA1 transkripční faktor a TSR2 protein je dědičnost vázaná na chromosom X. Ve zbývajících případech se jedná o sporadicky se vyskytující onemocnění, v jejichž etiologii se uplatňují mutace vznikající de novo.

Klinické a laboratorní nálezy

U většiny pacientů je diagnóza stanovena v 1. roce života, u části pacientů je anémie vyžadující podání transfuze diagnostikována již v novorozeneckém věku. Prvními klinickými příznaky DBA jsou bledost, dušnost, u kojenců je často popisováno neprosívání. Vzácně byl popsán

i fetální hydrops. U 30–50 % pacientů s DBA jsou přítomny vrozené anomálie, postihující převážně oblast lbi a obličeje (kraniofaciální dysmorfie, mikrocefalie, rozštěp patra, hypertelorismus a gotické patro). K dalším anomáliím patří vývojové vady palce, horní končetiny (tříčlankový palec, duplikace článku palce nebo hypoplazie palcového valu (thenar), srdce, ledvin, urogenitálního traktu a kostí (tab. 1, obr. 1, obr. 2).

U 30–40 % pacientů je popisován malý vzrůst. Na růstové retardaci u starších pacientů se může podílet dlouhodobá léčba kortikosteroidy i přetížení organismu železem.

Při laboratorním vyšetření je dominujícím nálezem makrocytární anémie s retikulocytopenií. Může být zvýšená hladina fetálního hemoglobinu (HbF) jako známka stresové erythropoézy. Důležitým znakem je zvýšení hladiny erytrocytární adenosindeaminázy (e-ADA), které může být jedním z prvních diagnostických vodítek. I přes specifitu tohoto nálezu pro DBA nebyla dosud příčina zvýšení e-ADA vysvětlena. V kostní dřeni je v typických případech výrazně snížen počet erytroidních prekurzorových buněk, často na 1–5 %.

Podle analýzy údajů z registru DBA v USA (DBAR) je riziko rozvoje solidních nádorů nebo leukemie u DBA 5,4krát vyšší než v populaci [3]. Zvýšená incidence byla popsána specificky pro některé typy maligních onemocnění: MDS, AML, karcinom plic, tlustého střeva, bazaliom, osteosarkom, nádory prsu a gynekologické karcinomy u žen. Dle DBAR je incidence solidních nádorů vyšší než výskyt leukemií. Kumulativní incidence solidních nádorů a AML u DBA byla průměrně 20 % ve 4. decéniu ve srovnání se 30 % u FA a DC kdykoliv ve stejné věkové kategorii; riziko solidních nádorů u netransplantovaných pacientů začíná narůstat po 30. roce věku, tedy později než

Obr. 1. Tříčlankový palec u kojence s Diamondovou-Blackfanovou anémií. Kromě tříčlankového palce je patrný i jeho atypický odstup. Anomálie si vyžádala plastickou operaci.



u FA a DC. Malý počet popsaných případů a značná diverzita typů maligních onemocnění však zatím nedovoluje definitivní závěry.

Molekulární podstata onemocnění

Po desetiletích snahy o nalezení příčiny DBA byla teprve v roce 1999 poprvé odhalena její genetická podstata: překvapivý nález heterozygotní mutace genu kódujícího ribosomální protein (RP) RPS19, součásti malé ribosomální podjednotky u švédského pacienta. Mutace genu kódujícího RPS19 byly postupně prokázány u 25 % pacientů s DBA. RPS19 je komponentou malé 40S ribosomální podjednotky a je lokalizován v nukleolu, hlavním buněčném místě transkripce při biogenezi ribosomů. Role některých RP není dosud u vyšších eukaryont přesně známa. Delece jedné alely RP vede k poruše růstu a snížené tvorbě 40S ribosomální podjednotky, tedy k tzv. „ribosomálnímu stresu“. Buňka reaguje **aktivací p53 proteinu a indukci apoptózy**. Dalším důsledkem je snížení translace [5], a tím i proteosyntézy, což může ovlivnit procesy s velkým nárokem na přísun proteinů – tedy s rychlým obratem produkce buněk, jako je hematopoéza, obnova kožních buněk a buněk GIT.

V dalších letech byly postupně nalezeny mutace genů kódujících dalších 20 RP: RPS7, RPS10, RPS15A, RPS17, RPS19, RPS24, RPS26, RPS27, RPS28, RPS29; RPL5, RPL9, RPL11, RPL15, RPL18, RPL26, RPL27, RPL31, RPL35, and RPL35A [5]. Ojedinele byly nalezeny mutace dvou dalších genů, které nekódují RP: GATA1, důležitého transkripčního faktoru pro erythropoézu a TSR2, který kóduje protein ovlivňující apoptózu a maturaci ribosomů. DBA tedy vzniká v důsledku haploinsuficience ri-

bosomálních proteinů. Aktivace p53 proteinu i snížení translace bylo prokázáno na buněčných [5] i zvířecích modelech DBA. Jsou dále intenzivně studovány extraribosomální funkce RP a jejich možná úloha při vzniku somatických anomálií.

Odhalení poruchy biogeneze ribosomů jako příčiny hematologického onemocnění patří mezi nejzajímavější objevy moderní hematologie a otevřelo mnoho otázek týkajících se souvislosti poruch ribosomální biogeneze, somatických anomálií a zvýšené incidence vzniku maligního onemocnění. Diamondova-Blackfanova anémie tak dala vznik nové skupině onemocnění nazvaných **ribosomopatie**.

Diagnostika

Pro diagnózu DBA svědčí makrocytární anémie s retikulocytopenií při normálním počtu trombocytů a leukocytů. V době stanovování diagnózy se výjimečně může objevit trombocytóza a/nebo neutropenie. Pro diagnostiku je stěžejní vyšetření kostní dřeně, v níž je klasickým nálezem nízký počet erytroidních prekurzorových buněk v jinak normocelulární kostní dřeni. U pacientů, kteří nejsou závislí na transfuzní terapii ovlivňující výsledky vyšetření, je přínosné vyšetření erytrocytární adenosindeaminázy (eADA), jejíž hodnota je zvýšena. Normální hladina e-ADA nevylučuje onemocnění. Jedinou metodou, která jednoznačně potvrzuje diagnózu, je nález mutací genů pro ribosomální proteiny, případně genu kódujícího TSR2 protein a GATA1 transkripční faktor.

Při diagnostice je vždy nutné vyloučit některá jiná onemocnění, o kterých lze diferenciatně diagnosticky uvažovat. Především se jedná o: Fanconioho anémii, de-

Obr. 2. Typické anomálie palce u dvou pacientek s Diamondovou-Blackfanovou anémií. Typický obraz hypoplazie palcového valu (thenar), abnormálního odstupu, délky a tvaru palce u dvou pacientek s pozdně stanovenou diagnózou DBA. Obě pacientky mají mutaci stejného RPL, obě byly vedeny pod jinými diagnózami, správná diagnóza byla stanovena až po 50 letech věku.



ficit G-6PD, erythroblastopenii vzniklou po infekci parvovirem B19, tranzitní erythroblastopenii dětského věku (Transient Erythroblastopenia of Childhood – TEC) a další získané erythroblastopenie, u pacientů s DBA v remisi s normálním počtem erytroidních prekurzorů, vzácně i kongenitální dyserythropoetickou anémií vzhledem k dysplastickým změnám erythropoézy.

Léčba

Léčebně je v 1. roce života obvykle nezbytné podávání transfuzí erytrocytů. Po 1. roce je indikováno podání kortikoidů, na které až 60–80 % pacientů odpoví akcelerací erythropoézy. Kortikoidy se podávají nejprve po dobu 4 týdnů v dávce 2 mg/kg/den, při dobré odpovědi je potom dávka prednisonu postupně pomalu snižována s cílem dosažení obdenní dávky nepřesahující 0,5 mg/kg. Dlouhodobé podávání denních dávek vyšších než 0,5 mg/kg se nedoporučuje vzhledem k riziku významných vedlejších účinků v dětském věku: rozvoj osteoporózy, přírůstek na váze, cushingoidní vzhled, rozvoj hypertenze a diabetu, růstová retardace, patologické fraktury, vznik žaludečních vředů, katarakty nebo glaukomu a zvýšenou náchylnost k infekcím.

U pacientů, kteří neodpovídají příznivě na léčbu kortikoidy, je nutno podávat dlouhodobě transfuze erytrocytární masy. Cílem transfuzního programu je udržení koncentrace hemoglobinu mezi 80–100 g/l, což je hladina adekvátní pro udržení normálního růstu a vývoje dítěte [2].

Z celkového počtu DBA pacientů je přibližně 40 % pacientů steroid-dependentních, asi 40 % je závislých na transfuzích a 20 % dosáhne remise.

U pacientů, kterým jsou podávány pravidelně transfuze erytrocytární masy, je nezbytné podávání chelátorů železa (desferioxamin, deferasirox) k prevenci orgánového poškození při přetížení železem. Léčbu chelátory je vhodné zahájit již po podání prvních 12 transfuzí, po nichž dosáhne sérový feritin obvykle hladin 1 000–1 500 µg/l, nebo když koncentrace železa v jaterní tkáni dosáhne 6–7 mg/g sušiny jaterní tkáně. Podávání deferasiroxu je vhodné až od 2 let věku. Deferipron běžně používaný k léčbě přetížení železem u pacientů s talasemií major není pro dlouhodobou léčbu u DBA doporučován pro zvýšené riziko vzniku agranulocytózy [6]. Je nutno sledovat pečlivě růst pacienta a monitorovat možné nežádoucí účinky přetížení železem i chelatační léčby. Nedílnou součástí týmu pečujícího o pacienty s DBA je proto i endokrinolog, jehož úkolem je včas podchytit a léčit poruchy růstu, kostní denzity, fertility, onemocnění štítné žlázy a hypofýzy vznikající v důsledku léčby kortikoidy a/nebo přetížení železem. U části pacientů (asi 20–30 %) může nastat remise onemocnění (spontánně nebo při opakované léčbě kortikoidy), která nastupuje obvykle do 8.–10. roku věku, velmi vzácně i později.

Zkoumá se i efekt nových látek s pozitivním efektem na erythropoézu s výhledem léčebného využití: aminokyseliny leucinu [7,8] a sotaterceptu [9].

Pokud lze nalézt v rodině pacienta příbuzenského dárce, případně shodného dárce v rámci registrů, je u pacientů trvale závislých na podávání transfuzí indikována transplantace kmenových buněk (Hematopoietic Stem Cell Transplantation – HSCT), která je zatím jedinou kurativní léčbou pro DBA. Pacienti trvale závislí na transfuzích nebo ti, u kterých se vyvinuly další cytopenie, jsou indikováni k HSCT. Otázka vhodných režimů a optimálního věku transplantace je předmětem diskusí, zatím se její provedení doporučuje do 10 let věku. HSCT od nepříbuzenských dárců má horší výsledky, i když v posledních letech došlo k jejich významnému zlepšení.

V průběhu těhotenství žen s Diamondovou-Blackfanovou anémií byly popsány četné komplikace preeklampsie, intrauterinní růstová retardace a úmrtí plodu, zhoršení anémie, předčasné porody [10].

Kongenitální dyserythropoetické anémie Charakteristika

Kongenitální dyserythropoetické anémie (Congenital Dyserythropoietic Anemias – CDA) zahrnují skupinu vzácných vrozených poruch erythropoézy charakterizovaných chronickou hyporegenerativní anémií s neefektivní erythropoézou, relativní retikulocytopenií, hemolytickou složkou s mírnou hyperbilirubinemií a splenomegalií, typickými morfologickými změnami erythroblastů v kostní dřeni a v některých případech i přetížením železem. Většinou se jedná o poruchy vyžrávání erytroidních buněk v **pozdních stadiích erythropoézy**. V dnešní době je CDA řazena většinou hematologů do skupiny syndromů selhání kostní dřeně vzhledem k poruše diferenciaci a proliferaci buněk erytroidní linie [11].

Termín dyserythropoéza označuje kvalitativní defekt erytroidních prekurzorů nebo erytrocytů vedoucí k abnormální (neefektivní) erythropoéze s poškozením diferenciaci a proliferaci erytroidních buněk, které v kostní dřeni nevyžrávají nebo částečně zanikají před vyplavením do periferní krve. V některých případech je doprovázena i zkráceným přežíváním erytrocytů. **Dyserythropoéza provází řadu jak vrozených** (talasemie a jiné hemoglobinopatie, hereditární sférocytóza, sideroblastická anémie, DBA, FA), tak **získaných hematologických onemocnění** (deficit železa, vitaminů, MDS), což může být zdrojem diferenciálně diagnostických rozpaků a obtížné diagnostiky.

Epidemiologie a dědičnost

CDA patří mezi vzácné anémie. Prevalence a geografická distribuce se liší mezi jednotlivými oblastmi. Nejnížší výskyt je popisován v severovýchodních zemích (0,04 případů na 1 milion obyvatel), nejvyšší výskyt v Itálii (2,4 případů na 1 milion obyvatel) [12]. Některé mutace se vyskytují s vysokou frekvencí v určitých populacích (u beduínské populace R1042W v genu pro codanin – *CDAN1*, v populaci zemí kolem Středozemního moře – Maroko, Izrael, Itálie – R14W v genu *SEC23B*). Výskyt jednotlivých alel však svědčí o vlivu mnohočetného efektu

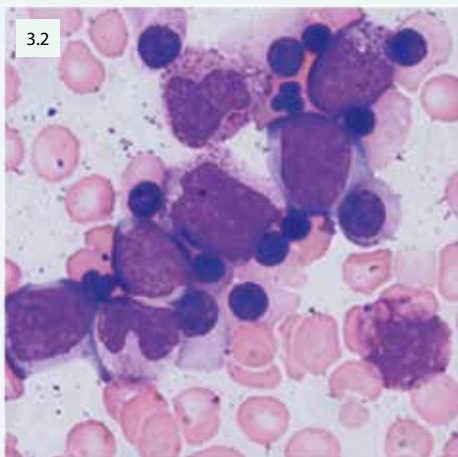
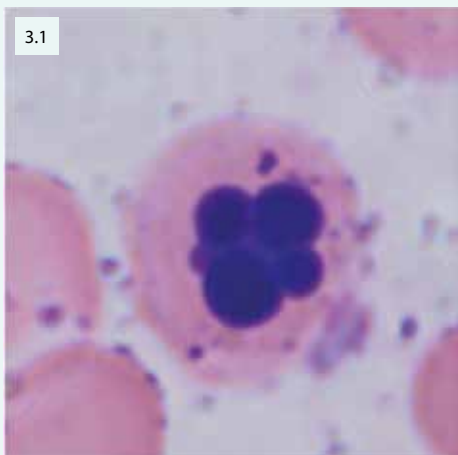
zakladatele (founder effect) v jednotlivých geografických oblastech.

Dědičnost jednotlivých typů CDA je většinou autosomálně recesivní, v některých případech dominantní.

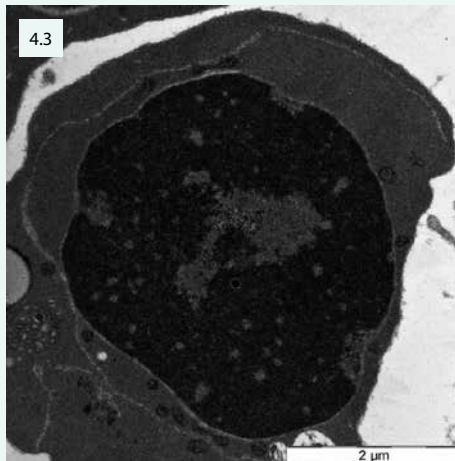
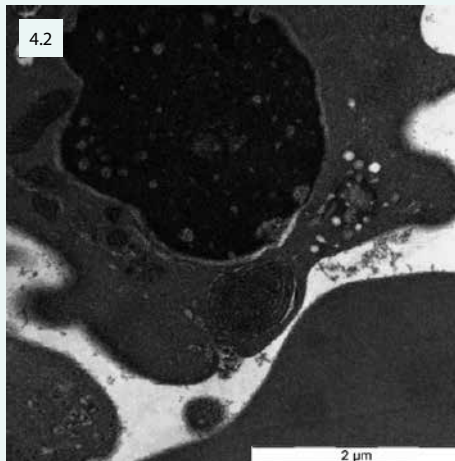
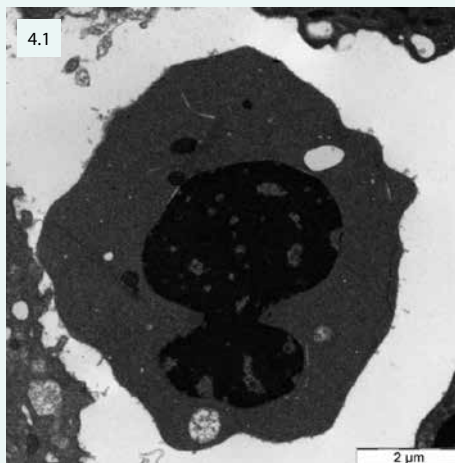
Klinické a laboratorní nálezy

Klinicky se CDA projevují celoživotní středně těžkou až těžkou makrocytární nebo normocytární anémií s časně vznikajícím ikterem, splenomegalií a hepatomegalií. Často se u pacientů tvoří žlučové kameny. V některých případech může být prvním projevem onemocnění fetální hydrops nebo intrauterinní růstová retardace. U 4–14 % pacientů jsou přítomny vrozené anomálie, především v oblasti skeletu končetin. V důsledku opakovaných transfuzí a zvýšené resorpce železa se u polytransfundovaných pacientů, ale i části pacientů bez nutnosti transfuzí se rozvíjí přetížení železem se sekundární hemochromatózou. Jednou z příčin je i nízká hladina hepcidinu.

Obr. 3. Mnohojaderný erytroblast u pacientky s CDA
(3.1) Patologické multinukleární erytroblasty typické u pacientů s CDA IV (3.2)



Obr. 4. Změny typické pro CDA v elektronovém mikroskopu – pacientka s CDA IV: 4.1 – jaderný můstek v erytroblastu a defekty chromatinu („spongichromatin“) 4.2 – „spongichromatin“, atypické lamelární tělísko, siderosom 4.3 – intermediární atypická cisterna v erytroblastu



Při laboratorním vyšetření nacházíme v krevním obrazu normocytární nebo makrocytární anémii spojenou s anizocytózou, poikilocytózou, nálezem bazofilního tečkování erytrocytů, Howellových-Jollyových tělísek a relativní retikulocytopenií. V kostní dřeni je typická hyperplazie erytropoézy s výraznými dysplastickými změnami: dvoujaderné a mnohoaderné erytoblasty, internukleární můstky, vakuolizace cytoplazmy, nepravidelná kontura jader (obr. 3).

Typické změny jsou popisovány při vyšetření elektronovou mikroskopií (obr. 4).

Podezření na CDA tedy vychází z klinického obrazu a hematologických nálezů v periferní krvi. Vždy je nutno provést vyšetření kostní dřeně se zhodnocením morfologie erytoblastů. Významnou roli v diagnostice hraje i elektronová mikroskopie. Diagnóza je definitivně potvrzena nálezem patogenních variant pomocí molekulárně-genetického vyšetření, které jsou typické pro jednotlivé subtypy onemocnění (tab. 2).

Diagnóza

Pracovní klasifikace navržená poprvé Heimpelem a Wendtem (CDA I, II, a III) je stále v klinické praxi používána [13]. V některých případech anémie splňuje obecnou definici CDA, nelze ji však zařadit do žádného ze základních 3 subtypů, proto byly tyto označeny jako tzv. CDA varianty. Molekulárně genetický podklad obou nejčastějších typů: CDA Ia a II je znám již delší dobu, kauzální genetické změny u typu III, IV a u ostatních CDA variant však byly popsány teprve v posledních letech [6,7,9], což výrazně zpřesnilo diagnostiku této skupiny anemií.

Molekulární podstata onemocnění

Vzhledem k významným pokrokům v oblasti molekulární biologie, které přináší především sekvenování nové generace, byly dnes již u jednotlivých typů CDA identifikovány kauzální molekulárně-genetické změny, což významně přispělo k upřesnění klasifikace u této skupiny nemocí, a především k postupnému porozumění jejich

patogenezi. Podle genetických změn je dnes rozlišováno 5 základních podtypů CDA (Ia, Ib, II, III a IV), tab. 3.

Některé další varianty dyserytroetické anémie jsou součástí komplexních onemocnění či syndromů a jsou některými autory označovány jako typ V a VI. S objevem kauzálních genetických variant se otevřela nová éra genetického a klinického výzkumu s cílem detailního odhalení funkce proteinů, v jejichž kódujících genech jsou popisovány mutace. Stanovení molekulární podstaty dnes umožňuje diagnostiku nosičství genu i prenatalní diagnostiku, může být vodítkem při hledání nových alternativ léčby. Molekulárně-genetické charakteristiky jsou uvedeny u jednotlivých podtypů CDA.

Kongenitální dyserytroetická anémie typu I

Kongenitální dyserytroetická anémie typu I (CDA I) je autosomálně recesivně dědičná anémie charakterizovaná makrocytární anémií MCV (100–120 fL) a u některých pacientů i anomáliemi distálních částí končetin. Při vyšetření kostní dřeně je přítomna erytroidní hyperplazie s přítomností méně než 10 % dvojaderných erytoblastů. Typickou změnou jsou internukleární můstky přítomné v 5–8 % erytoblastů. Elektronová mikroskopie ukazuje houbovitý vzhled heterochromatin označovaný jako „vzhled švýcarského syra“ („Swiss cheese appearance“).

Většina pacientů s CDA I má makrocytární anémii s variabilní hladinou hemoglobinu, výjimečně může být anémie v dětském věku normocytární. Relativní retikulocytopenie je doprovázena zvýšeným rozpadem erytrocytů se zvýšenou hladinou nepřímého bilirubinu, vysokou hladinou laktátdehydrogenázy (LDH), snížením hladiny haptoglobinu a hyperbilirubinemií. Všichni pacienti mají od adolescentního věku splenomegalii, 20 % dětí má vrozené anomálie, nejčastěji syndaktylie na ruku nebo nohu, chybění nehtů nebo nadpočetné palce, deformity hrudníku a malý vzrůst. Byly popsány i deformity lebky v důsledku výrazné expanze kostní dřeně. Výjimečně byl popsán fetální hydrops a anémie

Tab. 2. Charakteristiky podtypů kongenitální dyserytroetické anémie

typ CDA	Ia	Ib	II	III	IV
dědičnost	AR	AR	AR	AD	AD
počet publikovaných případů	< 100	< 10	> 450	< 10	5
morfologie EB v kostní dřeni	abnormální struktura chromatinu můstky	stejná jako u typu Ia	bi-/multinuklearita EB	obrovské multinukleární EB	CDA I-like, CDA II-like
elektronová mikroskopie	spongiózní chromatin, invaginace cytoplazmy do jádra	stejná jako u typu Ia	periferní cisterny pod plazmatickou membránou	štěrbiny v heterochromatinu autofagické vakuoly mitochondrie s obsahem železa	invaginace nukleární membrány precipitáty v jádře
kauzální gen	<i>CDAN1</i>	<i>C15ORF41</i>	<i>SEC23B</i>	<i>KIF23</i>	<i>KLF1</i>
dysmorfologie/maligní onemocnění	skelet končetin	stejná jako u typu Ia	variabilní/vzácné	monoklonální gamapatie/ myelom	CNS

AR – autosomálně recesivní typ dědičnosti AD – autosomálně dominantní typ dědičnosti EB – erytoblast

vyžadující intrauterinní transfuzi. Asi 1 ze 3 plodů je menší než odpovídá jeho gestačnímu věku. Po porodu může být přítomna hepatomegalie a ikterus, v některých případech je nutná i transfuze erytrocytů.

Příčinou vzniku jsou mutace *CDAN1* genu kódujícího codanin, které byly popsány v roce 2003 [14]. Dle dosavadních poznatků hraje tento protein důležitou roli v organizaci jaderného heterochromatinu v průběhu replikace DNA. Codanin 1 je rovněž součástí cytosolického Asf1-H3-H4-importin-4 komplexu, který má důležitou funkci při sestavování a degradaci nukleosomu. Pravděpodobně hraje roli i v časně fázi vývoje embrya.

Nález kauzálních mutací dalšího genu, *C15ORF41*, u pacientů s CDA I vedl k rozdělení CDA I na 2 podtypy: CDA 1a a 1b (tab. 2). Tento gen kóduje restriční endo-

nukleázu s dosud neznámou funkcí. Bylo však prokázáno, že *C15ORF41* kooperuje s *Asf1b*, což podporu hypotézu, že primárním defektem u CDA 1b je rovněž patologie DNA replikace a sestavování chromatinu [15].

Kongenitální dyserythropoetická anémie typu II

CDA II je **nejčastější variantou CDA**. V kostní dřevě je více než 10 % binukleárních erytroblastů, elektronová mikroskopie ukazuje vezikuly s obsahem proteinů endoplazmatického retikula lokalizované pod plazmatickou membránou. U CDA II je pozitivní Hamův test (lýza erytrocytů s acidifikovaným alogenním sérem), který byl dříve používán k diagnostickým účelům. Vzhledem k potřebě několika kontrolních vzorků se dnes již běžně nepoužívá.

Tab. 3. Vrozené vývojové anomálie u pacientů s Fanconiho anémií. Upraveno podle [31]

orgánový systém	spektrum anomálií	postížení (%)	
kůže	změny pigmentace: hyperpigmentace, „cafe au lait“ skvrny, hypopigmentované okrsky	55–64	
hlava	mikrocefalie, hydrocefalus, mikrognacie, ptačí obličej, skafocefalie, ustupující čelo, atřezie choan, anomálie zubů	26	
CNS	pituitární hypoplazie, Chiariho malformace, Dandyova-Walkerova anomálie, cerebelární atrofie, morfologické a strukturální variace corpus callosum – celkem asi 10 %	10	
uši	hluchota (obvykle převodní), abnormální tvar boltců, dysplazie, níže posazené boltce, velké nebo malé boltce, atřezie zvukovodu, anomálie středního ucha, chybění bubínku, rotace, stenózy zvukovodu	9–11	
oči	mikroftalmie, strabismus, epikantý, hypertelorismus, ptóza víček, katarakta, astigmatismus, slepota, epifora, nystagmus, proptóza, malá duhovka	23–38	
horní končetiny	palce	hypoplastické, zdvojené, trifalangeální, rudimentární, krátké, níže nasedající, napojené pouze kožním můstkem, neflexibilní, hyperextenzibilní	43–49
	radius	chybění, hypoplazie (pouze s abnormálními palci), nehmatný nebo slabý pulz	
	ruce	klinodaktylie, hypoplastický palcový val (thenar), 6 prstů, chybění 1. metakarpu, dlouhé abnormální prsty, krátké prsty, příčné rýhy	
	ulna	dysplazie	
dolní končetiny	syndaktylie palců, abnormální palce, krátké prsty, plochá noha, 6 prstů, nadpočetný palec vrozená dysplazie kyčlí, Perthesova choroba, coxa vara, abnormální femur, osteomy	11	
jiné anomálie skeletu	krk	Sprengelova deformita, nízká vlasová hranice	11–16
	páteř	spina bifida, skolióza, abnormální žebra, sakrokokcygeální sinusy, Klippelův-Feilův syndrom, anomálie obratlů, nadpočetné obratle	
gonády	muži	hypogenitálie, kryptorchismus, hypospadiie, chybění varlat, atrofická varlata, azoospermie, fimóza, abnormality uretry, mikropenis, opoždění puberty	20–32
	ženy	hypogenitálie, uterus bicornis, aplazie uteru a vaginy, atřezie uteru, vaginy a ovaria	
ledviny	ektomie ledvin, abnormální tvar, hypoplastické, dysplastické nebo chybějící ledviny, hydronefróza nebo megaureter, duplikace, rotace ledvin, VUR, hyperplazie, afunkce, abnormální arteriální řečiště	21–34	
růst	nízká porodní hmotnost, neprospívání, malý vzrůst	51–63	
srdce a plíce	PDA, VSD, ASD, periferní pulmonální stenóza, SA, COA, vaskulární malformace, Fallotova tetralogie, pseudotruncus, hypoplastická aorta, abnormální plicní drenáž, zdvojený aortální oblouk	6–13	
gastrointestinální trakt	vysoké patro, atřezie (jícen, duodenum, jejunum), atřezie anu, tracheoefageální píštěle, Meckelův divertikl, pupeční kýla, hypoplastická uvula, abnormality žlučových cest, megakolon, diastáza břišních svalů, Buddův-Chiariův syndrom	5–14	

ASD – vrozené srdeční vady postihující septum síní/atrial septal defects COA – koarktace aorty PDA – ductus arteriosus persistens/paten ductus arteriosus VSD – srdeční vady postihující komorové septum/ventricular septal defect VUR – vezikoureterální reflux

Analýza proteinů erytrocytární membrány SDS PAGE elektroforézou na polyakrylamidovém gelu, která identifikuje abnormality glykosylace rychle migrujícího pruhu 3 (the anion exchanger 1) a pruhu 4,5, je vysoce senzitivní a specifická. K potvrzení diagnózy je používána molekulárně-genetická analýza. V roce 2012 byla poprvé popsána molekulární příčina onemocnění: mutace genu *SEC23B* kódujícího protein COPII, jenž je součástí proteinového komplexu podílejícího se na tvorbě a transportu vezikul v buňce [16]. Teprve po několika letech však byl objasněn patogenetický mechanismus vzniku patologických změn erytroblastů u CDA II.

Fenotyp multinuklearity vzniká při aberantní glykosylaci specifických proteinů nezbytných pro dělení buněk, což vede k defektům v tomto procesu. Specifická efektu na erytropoézu u takto ubikvitního genu je pravděpodobně způsobena tkáňově specifickou expresí *SEC23B* během erytroidní diferenciaci.

Kongenitální dyserythropoetická anémie typu III

CDA III je **nejvzácnějším typem CDA**. Poprvé byla popsána v rodině z USA, většina pacientů jsou členové jedné velké rodiny ze Švédska. Dědičnost je v obou rodinách dominantní. Bylo však popsáno i několik případů s autosomálně recesivní dědičností. Splenomegalie většinou není přítomna. Nález v kostní dřeni je charakterizován erytroidní hyperplazií a velkými typickými multinukleárními erytroblasty. U mnoha členů švédské rodiny byla diagnostikována monoklonální gamapatie a u některých došlo k rozvoji mnohočetného myelomu.

Příčinou onemocnění je mutace genu *KIF23* kódujícího MKLP1 protein, což je mitotický protein důležitý pro cytokinezi [17,18]. Porucha funkce tohoto proteinu vede ke vzniku multinuklearity erytroblastů.

Kongenitální dyserythropoetická anémie typu IV

CDA IV je **velmi vzácným typem** této skupiny. Kauzální jsou mutace genu *KLF1* kódujícího transkripční faktor [19,20]. V roce 2010 byla u pacienta s CDA poprvé popsána mutace genu *KLF1* lokalizovaná v exonu 3 (jedná se o mutaci měnící smysl: c.973 G>A, p.E325K). Dosud byly popsány pouze 4 případy onemocnění, 5. dosud nepublikovaný případ stejné mutace byl popsán v České republice.

Krüppel-like factor 1 (KLF1) je důležitý transkripční faktor v procesu erytropoézy. Účastní se regulace vyzrání multipotentních kmenových buněk do erytroidní linie, hemoglobinového přepínání z fetálního na adultní hemoglobin a pozdní diferenciaci erytroidních buněk. Je důležitý pro udržování buněčné stěny v klidovém období života erytrocytů. Poslední studie ukázaly, že mutace v některých lokusech *KLF1* genu se vyskytují poměrně často a jsou většinou asymptomatické, vedou však ke zvýšení hladin fetálního hemoglobinu ($\alpha_2\gamma_2$) a adultního HbA₂ ($\alpha_2\delta_2$).

Kongenitální dyserythropoetická anémie variantní

Do dnešního dne bylo popsáno několik dalších CDA variant. Tato onemocnění mají buďto izolovaný CDA fe-

notyp nebo se jedná o definované syndromy, u kterých je přítomen různý rozsah dyserythropoézy. Do této skupiny jsou řazeny následující jednotky:

1. Makrocytární dyserythropoetická anémie s dominantní dědičností vázanou na chromosom X: charakterizovaná zvýšenou hladinou feritinu (800 ng/ml) – byla popsána u několika osob ženského pohlaví v jedné rodině – v kostní dřeni je výrazná dyserythropoéza, bez známek kumulace železa nebo sideroblastů; příčinou je překvapivě mutace genu pro *ALAS2* (Y365C), která se podílí na syntéze hemu, recesivní mutace *ALAS2* byly doposud asociovány se sideroblastickou anémií s dědičností vázanou na X chromosom (tzv. XLSA)
2. Trombocytopenie s, nebo bez dyserythropoetické anémie s recesivní dědičností vázanou na chromosom X (XLTA), charakterizovaná anémií různé závažnosti od hypopsytémie a závislosti na transfuzích k projevům dyserythropoézy bez anémie, makrotrombocytopenií s hypogranulovanými trombocyty a tendencí ke krvácení, až absenci demarkace trombocytární membrány – příčinou jsou mutace genu kódujícího transkripční faktor *GATA1* lokalizovaného na chromosomu X. *GATA1* transkripční faktor hraje důležitou roli ve vývoji a udržování buněk erytroidní a megakaryocytární linie, o rozdílném efektu různých typů mutací svědčí různé fenotypy onemocnění, které dosud byly popsány podobně jako např. v případě *KLF1* transkripčního faktoru – různé typy popsáných mutací *GATA1* se přitom vyznačují různými fenotypy onemocnění, což je způsobeno rozdílným efektem jednotlivých mutací na funkci *GATA1* transkripčního faktoru
3. Kongenitální dyserythropoetická anémie byla popsána i jako součást klinického obrazu Majeed syndromu, vzácného autosomálně recesivního onemocnění charakterizovaného časným rozvojem chronické rekurentní multifokální osteomyelitidy, dermatitidami a hypochromní mikrocytární anémií s dyserythropoézou, erytroidní hyperplazií s binukleárními a trinukleárními erytroblasty – onemocnění je způsobené mutacemi genu *LPIN2*, kódujícího lipin 2, fosfatázu důležitou pro metabolismus lipidů
4. Dyserythropoetická anémie spojené s exokrinní pankreatickou dysfunkcí a hyperostózami lebky, způsobené mutacemi genu *COX4I2* kódujícího podjednotku cytochrom C oxidázy (COX) podílející se na dýchacím řetězci v mitochondriích
5. Těžká dyserythropoetická anémie spojená s recesivně dědičným deficitem mevalonát kinázy (MVK) v důsledku mutace genu pro MVK

Diferenciální diagnóza

Dyserythropoéza je často přítomna u anémií při deficitu železa, folátu, vitamínu B₆ a E v podmínkách s relativní hypoxií jako je neonatální období, vrozené srdeční vady, chronická onemocnění bronchů, kdy se může objevit sekundární dyserythropoéza. Dyserytro-

poetické změny jsou přítomny i v kostní dřeni pacientů s vrozenými syndromy selhání kostní dřeně, především u DBA a Fanconioho anémie. Jsou jedním z diagnostických znaků u myelodysplastického syndromu. Všechna tato onemocnění musí být před stanovením diagnózy vyloučena.

Léčba

Při těžké anémii je nutné pravidelné podávání transfuzí, intramuskulární nebo subkutánní podání interferonu (IFN), a to INFa2a nebo INFa2b podávaného 2–4krát týdně. To vede u většiny pacientů s CDA I. typu ke zvýšení hladiny Hb a snížení přetížení železem [21,22]. U několika pacientů s těžkou formou CDA byla provedena úspěšná alogenní transplantace kmenových buněk, která by však měla být zvažována pouze u dětí závislých na transfuzích, které nereagovaly na podávání interferonu [23,24].

U pacientů v pravidelném transfuzním programu je nutná prevence sekundárních komplikací, především důsledné monitorování přetížení železem (každé 3 měsíce) včetně ročního vyšetření myokardiálního T2* MRI a jaterního R2* MRI od 10 let věku. Nezbytná je důsledná medikamentózní léčba přetížení železem za použití dostupných chelátorů železa (desferioxamin, deferipron, deferasirox). Pravidelné flebotomie jsou vzhledem k anémii nevhodné.

Závěr

Vzhledem k obrovskému pokroku v odhalování genetické příčiny CDA byly analyzovány kauzální mutace vedoucí ke vzniku CDA a vysvětlena jejich patogenetická role při vzniku tohoto onemocnění. To s sebou přináší i možnosti genetického poradenství, a to jak vyhledávání patologických mutací u členů rodiny, tak možnost prenatalní diagnostiky a částečně i některé možnosti léčby jako je použití interferonu a u CDA.

V České republice bylo diagnostikováno dosud okolo 15 pacientů s CDA.

Fanconioho anémie

Charakteristika

Fanconioho anémie (FA) je klinicky i geneticky výrazně heterogenní onemocnění charakterizované postupně progredujícím selháním kostní dřeně, přítomností různých kombinací somatických anomálií a zvýšeným výskytem maligních onemocnění: MDS, AML a solidních nádorů rezistentních na léčbu. Prvním příznakem bývá trombocytopenie nebo anémie.

Poprvé byla popsána v roce 1927 švýcarským pediatrem Guidem Fanconim [25], molekulární podstata onemocnění byla postupně odhalena v 90. letech minulého století.

Epidemiologie a dědičnost

Incidence onemocnění je 1–5 na 1 milion živě narozených, přičemž jsou popsány výrazné regionální rozdíly. Frekvence nosičů genu je v populaci USA odhadována na 1 : 181, vyšší je popisována např. v populaci aškenázkých (středo- a východoevropských) Židů (1 : 93) [26]

a u černošské populace v malarických oblastech subsaharské Afriky, v nichž je incidence FA udávána asi u 1 na 40 000 živě narozených, což je významně vyšší než se původně předpokládalo [27]. Kauzální delece FANCG je zde zřejmě „founder mutation“ u populace kmene Bantu.

Onemocnění je autosomálně recesivně dědičné kromě jednoho z genetických defektů (FANCB) u kterého je dědičnost gonosomální vázaná na chromosom X.

Klinické a laboratorní nálezy

Na onemocnění může již v útlém věku upozornit přítomnost pestré palety vrozených anomálií. Jsou popisovány u 80 % pacientů, patří k nim: malý vzrůst spojený často s intrauterinní růstovou retardací, hyperpigmentace kůže, malformace palce, skeletu, ledvin, srdce, poruchy sluchu, a hypogonadismus (tab. 3).

Selhání KD se klinicky manifestuje obvykle kolem 7. roku věku trombocytopenií, anémií, postupně se rozvíjí pancytopenie. Asi ve 4 % případů se aplazie kostní dřeně rozvíjí již během kojeneckého věku. Vzácně se naopak může cytopenie objevit až v dospělosti, někdy až současně s rozvojem maligního onemocnění. U 50 % pacientů, kteří se prezentují trombocytopenií, dochází k rozvoji pancytopenie v průběhu následujících 4 let, kumulativní incidence rozvoje selhání kostní dřeně je 50–90 % ve věku 40 let.

Některé literární zdroje uvádějí, že u 25–40 % jedinců s FA jsou vrozené anomálie nenápadné, nebo dokonce nejsou přítomny vůbec. Totéž platí pro známky selhání kostní dřeně, které mohou být pouze diskretní – mírná anémie nebo trombocytopenie, a mohou tak dlouho unikat pozornosti [28,29].

U pacientů s FA je 50krát vyšší riziko vzniku maligních onemocnění ve srovnání se zdravou populací: kumulativní incidence MDS, AML a solidních nádorů ve věku 40 let je 30,10 a 30 % [7]. Nejčastějšími solidními tumory jsou spinocelulární karcinomy hlavy, krku, jazyka, jícnu a vulvy.

Molekulární podstata onemocnění

Charakteristickou vlastností buněk pacientů s FA je chromosomální nestabilita, kterou je možno in vitro dále akcentovat přidáním látek navozujících klastogenní stres (mitomycin C, diepoxybutan). Působení těchto látek indukuje vznik chromosomálních zlomů a fúzí s charakteristickými radiálními formami. Popisuje se i zvýšená tendence k apoptóze a zvýšená náchylnost k toxickému působení volných kyslíkových radikálů. Pestrému a variabilnímu klinickému obrazu odpovídá i výrazná heterogenita vyvolávajících genetických defektů, z nichž většina byla postupně analyzována až v posledních letech. Jednotlivé geny kódují proteiny, které jsou složkami systému **reparace DNA**. Geny, jejichž mutace byly popsány u pacientů s FA, se nazývají FANCG geny – tzv. FANCG komplementární skupiny. Jejich genové produkty regulují 3 důležité procesy v průběhu oprav meziřetězcových křížových vazeb DNA: nukleolytické incize, translézní opravu

DNA a homologní rekombinaci. Buňky pacientů s FA mají v důsledku poruchy funkce uvedených genů nízkou toleranci vůči poškození DNA jak in vitro, tak in vivo.

Od prvního popisu molekulárně-genetického defektu u FA v roce 1992 bylo dodnes identifikováno přes 1 000 různých mutací 21 genů (FANCA, FANCB, FANCC, FANCD2, FANCE, FANCF, FANCG, FANCI, FANCM, PALB2 (FANCN), RAD51C (FANCO), BRCA2, BRIP1, a SLX4 (FANCP), FANCO, FANCV, FANCD1, FANCI, FANCR, FANCS, FANCU. Největší skupinu mutací tvoří FANCA mutace, z ostatních jsou nejčastější FANCB a FANCC [30]. Asi 84 % pacientů je řazeno do subtypu A, C nebo G [5].

Z FA proteinů se jich 8 sdružuje v tzv. jaderný komplex a společně s FAN1 proteinem jsou nezbytné pro monoubikvitinaci FANCD2 proteinu. Porucha funkce každého z proteinů tohoto komplexu přerušují FANCD2 monoubikvitinaci, klíčový krok, který ovlivňuje translokaci jaderného komplexu k chromatinu a jeho asociaci s ostatními jadernými proteiny účastnící se buněčné odpovědi na poškození DNA (schéma).

FANCD1 gen je BCRA2 supresorový gen, poruchy jeho funkce vedou k narušení systému reparace DNA. FANCI

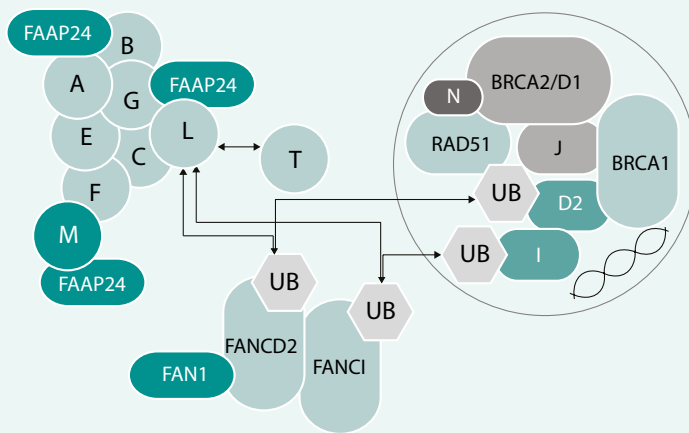
gen kóduje helikázu, enzym který odvíjí DNA. FANCM gen ovlivňuje DNA translokaci, FANCL gen sdílí homologii s E3 ubikvitinovými ligázami.

FANCD2 gen je rovněž fosforylován ATM kinázou (ataxia-teleangiectasia protein) a ovlivňuje pak S-fázi buněčného cyklu se zástavou DNA syntézy při radiaci. Všechny tyto procesy hrají tedy důležitou roli v buněčné odpovědi na poškození DNA. Gen BRCA2 má souvislost s predispozicí ke vzniku karcinomu prsu a ovaria.

Diagnostika a léčba

U všech pacientů s anémií nebo trombocytopenií a typickými somatickými anomáliemi, u kterých vyslovíme podezření na FA, je indikováno provedení testů chromosomální fragility z lymfocytů periferní krve s použitím diepoxybutanu (DEB) nebo mitomycinu C (MMC). V případech chromosomálního mozaicismu však tyto testy mohou prokázat pouze malé procento buněk s chromosomálními zlomy, průměrný počet zlomů potom může být normální. Proto u pacientů s podezřením na FA a negativním DEB testem se doporučuje doplnit vyšetření chromosomální nestability z fibroblastů periferní

Schéma. Struktura jaderného komplexu a nových mutací u Fanconiho anémie. Při poškození DNA aktivuje ATM a RAD3 kináza proteiny tzv. FA jaderného komplexu (FANCA/B/C/E/F/G/L/M). Aktivovaný komplex působí jako ubikvitinová ligáza a spouští monoubikvitinaci FANCD2 a FANCI. Tento monoubikvitinovaný komplex se přemísťuje k chromatinu a lokalizuje se s ostatními FA proteiny a dalšími proteiny účastnícími se oprav poškozené DNA. Opravy DNA probíhají různým mechanismem. FANCD2/1 je poté deubikvitinován a uvolněn z chromatinu. Mutace kteréhokoliv z FANCA proteinů může vést k defektním DNA opravám. U většiny pacientů se jedná o mutace genů jaderného komplexu, monoubikvitinace FANCI/D2 je narušena u více než 90 % pacientů s FA. Ostatní genetické varianty jsou vzácné. Monoalelické mutace 6 z výše uvedených genů FANCD1, J, M, N, O, S jsou asociovány s familiárním výskytem karcinomu prsu a ovaria, což částečně objasňuje souvislost mezi FA a predispozicí k maligním onemocněním. V dolní části schématu jsou uvedeny nové kauzální geny prokazané u pacientů s FA



- ovlivnění meziřetězcových vazeb FANCP FANCO
- funkce polymerázy FANCV
- homologní rekombinace FANCD1 FANCI FANCN FANCO
FANCR FANCS FANCU

krve. Vzhledem ke znalosti kauzálních genů a k možnostem sekvenování nové generace je v dnešní době molekulárně-genetická diagnostika k jednoznačnému průkazu diagnózy lépe přístupná a snáze proveditelná.

Při plánování léčebné strategie je nezbytný komplexní multidisciplinární přístup, na kterém se kromě hematologů podílejí specialisté z oboru genetiky, onkologie, neurologie, kožního lékařství. Nedílnou součástí týmu by měl být i endokrinolog, protože u pacientů s FA se setkáváme s poruchami růstu, glukózového a lipidového metabolismu, funkcí štítné žlázy, gonadálních funkcí a kostní denzity. Pacienti jsou hypersenzitivní k radiaci, kyslíkovým radikálům, a zejména k vlivu chemických mutagenů, proto musí být důsledně chráněni před jejich vlivem v běžném životě a zejména pak v případě nutnosti léčby maligních onemocnění.

Zcela nezbytné je pečlivé monitorování hematologických nálezů a periodické vyšetření kostní dřeně k vyloučení rozvoje MDS. K nepříznivému vývoji hematologického onemocnění může dojít velmi rychle. Proto je vhodné připravit rámcový plán transplantace kostní dřeně (HSCT). Vzhledem k radiosenzitivitě a chemosenzitivitě je nezbytné použít přípravné režimy s redukovanou intenzitou. Na funkci kostní dřeně, může mít u některých pacientů příznivý efekt léčba androgeny, na druhé straně však může mít nežádoucí účinky včetně zvýšeného rizika hepatocelulárního karcinomu.

K časnému odhalení karcinomů v oblasti hlavy, krku a genitálu je nezbytné periodické sledování ve specializovaných ambulancích, většinou 1krát za půl roku.

Lepším porozuměním genetické a molekulární podstatě onemocnění a zlepšením výsledků léčby se Fanconiho anémie v současné době mění na vzácné chronické onemocnění, které již zdaleka není doménou dětské hematologie, ale je diagnostikováno častěji i u dospělých a vyžaduje sofistikovaný multidisciplinární přístup. Je jedním z příkladů umožňujících hlubší porozumění interakci genetické informace s prostředím v etiologii vrozených anomálií, hematopoézy a rozvoje maligního onemocnění.

Jsou vyvíjeny nové techniky prevence a léčby FA, např. HSCT od sourozence po výběru geneticky zdravého embrya, genová léčba, genomové editování s použitím genetické rekombinace nebo konstruovaných nukleáz. Tyto přístupy však jsou zatím v experimentální fázi.

Literatura

1. Pospíšilová D. Vrozené syndromy selhání kostní dřeně. *Postgraduální medicína* 2015; 17(6): 589–601.
2. Vlachos A, Ball S, Dahl N et al. Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol* 2008; 142(6): 859–876. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2141.2008.07269.x>>.
3. Vlachos A, Rosenberg PS, Atsidaftos E et al. Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Blood* 2012; 119(16): 3815–3819. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-08-375972>>.
4. Da Costa L, O'Donoghue MF, van Dooijeweert B et al. Molecular approaches to diagnose Diamond-Blackfan anemia: The EuroDBA ex-

perience. *Eur J Med Genet* 2017; pii: S1769-7212(17)30505-0. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejmg.2017.10.017>>.

5. Cmejlova J, Dolezalova L, Pospisilova D et al. Translational efficiency in patients with Diamond-Blackfan anemia. *Haematologica* 2006; 91(11): 1456–1464.
6. Henter JI, Karlen J. Fatal agranulocytosis after deferiprone therapy in a child with Diamond-Blackfan anemia. *Blood* 2007; 109(12): 5157–5159. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2007-02-065805>>.
7. Pospisilova D, Cmejlova J, Hak J et al. Successful treatment of a Diamond-Blackfan anemia patient with amino acid leucine. *Haematologica* 2007; 92(5): e66–e67.
8. Narla A, Payne EM, Abayasekara N et al. L-Leucine improves the anaemia in models of Diamond Blackfan anaemia and the 5q- syndrome in a TP53-independent way. *Br J Haematol* 2014; 167(4): 524–528. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/bjh.13069>>.
9. Ear J, Huang H, Wilson T et al. RAP-011 improves erythropoiesis in zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia through antagonizing lefty1. *Blood* 2015; 126(7): 880–890. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2015-01-622522>>.
10. Faivre L, Meerpohl J, Da Costa L et al. High-risk pregnancies in Diamond-Blackfan anemia: a survey of 64 pregnancies from the French and German registries. *Haematologica* 2006; 91(4): 530–533.
11. Gambale A, Iolascon A, Andolfo I et al. Diagnosis and management of congenital dyserythropoietic anemias. *Expert Rev Hematol* 2016; 9(3): 283–296. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1586/17474086.2016.1131608>>.
12. Russo R, Gambale A, Langella C et al. Retrospective cohort study of 205 cases with congenital dyserythropoietic anemia type II: definition of clinical and molecular spectrum and identification of new diagnostic scores. *Am J Hematol* 2014; 89(14): E169–E175. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1002/ajh.23800>>.
13. Heimpel H, Kellermann K, Neuschwander N et al. The morphological diagnosis of congenital dyserythropoietic anemia: results of a quantitative analysis of peripheral blood and bone marrow cells. *Haematologica* 2010; 95(6): 1034–1036. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2009.014563>>.
14. Dgany O, Avidan N, Delaunay J et al. Congenital dyserythropoietic anemia type I is caused by mutations in codanin-1. *Am J Hum Genet* 2002; 71(6): 1467–1474. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1086/344781>>.
15. Babbs C, Roberts NA, Sanchez-Pulido L et al. Homozygous mutations in a predicted endonuclease are a novel cause of congenital dyserythropoietic anemia type I. *Haematologica* 2013; 98(9): 1383–1387. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.3324/haematol.2013.089490>>.
16. Schwarz K, Iolascon A, Verissimo F et al. Mutations affecting the secretory COPII coat component SEC23B cause congenital dyserythropoietic anemia type II. *Nat Genet* 2009; 41(8): 936–940. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/ng.405>>.
17. Irvine AF, Vikberg AL et al. Congenital dyserythropoietic anemia type III (CDA III) is caused by a mutation in kinesin family member, KIF23. *Blood* 2013; 121(23): 4791–4799. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2012-10-461392>>.
18. Sandström H, Wahlin B, Eriksson M et al. Intravascular haemolysis and increased prevalence of myeloma and monoclonal gammopathy in congenital dyserythropoietic anaemia, type III. *Eur J Haematol* 1994; 52(1): 42–46.
19. Arnaud L, Saison C, Helias V et al. A dominant mutation in the gene encoding the erythroid transcription factor KLF1 causes a congenital dyserythropoietic anemia. *Am J Hum Genet* 2010; 87(5): 721–727. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajhg.2010.10.010>>.
20. Jaffray JA, Mitchell WB, Gnanapragasam MN et al. Erythroid transcription factor EKLF/KLF1 mutation causing congenital dyserythropoietic anemia type IV in a patient of Taiwanese origin: review of all reported cases and development of a clinical diagnostic paradigm. *Blood Cells Mol Dis* 2013; 51(2): 71–75. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.bcmd.2013.02.006>>.
21. Perez N, Dommergues M, Zupan V et al. Severe congenital dyserythropoietic anaemia type I: prenatal management, transfusion

support and alpha-interferon therapy. *Br J Haematol* 2000; 110(2): 420–423.

22. Lavabre-Bertrand T, Ramos J, Delfour C et al. Long-term alpha-interferon treatment is effective on anaemia and significantly reduces iron overload in congenital dyserythropoiesis type I. *Eur J Haematol* 2004; 73(5): 380–383. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0609.2004.00310.x>>.

23. Unal S, Russo R, Gumruk F et al. Successful hematopoietic stem cell transplantation in a patient with congenital dyserythropoietic anemia type II. *Pediatr Transplant* 2014; 18(4): E130-E133. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1111/petr.12254>>.

24. Ayas M, Al-Jefri A, Baothman A et al. Transfusion-dependent congenital dyserythropoietic anemia type I successfully treated with allogeneic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002; 29(8): 681–682. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1038/sj.bmt.1703526>>.

25. Fanconi G. Familiäre, infantile, perniziosaartige Anämie (perniziöses Blutbild und Konstitution). *Jahrb Kinderheilk* 1927; 117(2): 257–280.

26. Verlander PC, Kaporis A, Liu Q et al. Carrier frequency of the IVS4 + 4 A->T mutation of the Fanconi anemia gene FAC in the Ashkenazi Jewish population. *Blood* 1995; 86(11): 4034–4038.

27. Neil VM, Fahmida E, Demuth I et al. A common Fanconi anemia mutation in black populations of sub-Saharan Africa. *Blood* 2005; 105(9): 3542–3544. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2004-10-3968>>.

28. Giampietro PF, Verlander PC, Davis JG et al. Diagnosis of Fanconi anemia in patients without congenital malformations: an international Fanconi Anemia Registry Study. *Am J Med Genet* 1997; 68(1): 58–61.

29. Bogliolo M, Surrallés J. Fanconi anemia: a model disease for studies on human genetics and advanced therapeutics. *Curr Opin Genet Dev* 2015; 33: 32–40. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.gde.2015.07.002>>.

30. Cheung RS, Taniguchi T. Recent insights into the molecular basis of Fanconi anemia: genes, modifiers, and drivers. *Int J Hematol* 2017; 106(3): 335–344. Dostupné z DOI: <<http://dx.doi.org/10.1007/s12185-017-2283-4>>.

31. Alter BP. Inherited bone marrow failure syndromes. In: Nathan DG, Orkin SH, Ginsburg D, Look AT (eds). *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. Vol 1, 6th ed. WB Saunders Philadelphia 2003: 281–365. ISBN 978-1-4160-3430-8.

prof. MUDr. Dagmar Pospíšilová, Ph.D.

✉ dagmar.pospisilova@fnol.cz

Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

www.fnol.cz

Doručeno do redakce 12. 1. 2018

Přijato po recenzi 17. 3. 2018