

Wrodzona neutropenia — diagnostyka i leczenie

Congenital neutropenia — diagnostics and management

Aleksandra Jasińska, Wojciech Młynarski

I Katedra Pediatrii, Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny, Łódź

Streszczenie

Wrodzone neutropenie to grupa rzadkich pierwotnych niedoborów odporności, których wspólną cechą jest zazwyczaj trwałe zmniejszenie liczby granulocytów obojętnochłonnych we krwi obwodowej do wartości poniżej 0,5 G/l. Wrodzoną neutropenię podejrzewa się zwykle w pierwszym półroczu życia dziecka. Wśród objawów dominują zapalenia przyzębia i owrzodzenia śluzówki jamy ustnej oraz okolic odbytu, ale często obserwuje się także ciężkie zakażenia bakteryjne, w tym zagrażające życiu. Liczba zgonów z powodu powikłań infekcyjnych zmniejszyła się znacznie od chwili wprowadzenia do terapii rekombinowanych granulocytarnych czynników wzrostu (G-CSF), nadal jednak u niektórych pacjentów jedynym możliwym postępowaniem jest przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych. W ostatnich latach dokonał się ogromny postęp w zakresie diagnostyki molekularnej wrodzonych neutropenii. W zależności od podłoża genetycznego wyróżnia się obecnie 4 typy ciężkiej wrodzonej neutropenii, a także liczne zespoły, których elementem może być neutropenia o różnym nasileniu. Te jednostki nozologiczne dzieli się zazwyczaj na grupę zespołów łączących neutropenię z hipopigmentacją oraz grupę wrodzonych zespołów z neutropenią bez hipopigmentacji. W artykule omówiono możliwości ich diagnostyki i postępowania terapeutycznego.

Słowa kluczowe: wrodzona neutropenia, diagnostyka molekularna, G-CSF

Hematologia 2011; 2, 1: 63–70

Abstract

Congenital neutropenias are a group of rare primary immunodeficiency disorders, characterized by persistent decline in absolute neutrophil count below 0,5 G/l. Suspicion of congenital neutropenia is usually raised within the first 6 months of life, when an infant presents with recurrent gingivitis, mouth and rectal ulcerations, but also severe, often life-threatening bacterial infection. Mortality from sepsis has decreased considerably since the introduction of recombinant granulocyte colony stimulating factors (G-CSF); nevertheless, in some cases hematopoietic stem cell transplantation remains the only possible therapy. In the last decade remarkable progress in molecular diagnostics of congenital neutropenia has been made — depending on genetic background 4 different types of severe congenital neutropenia are now distinguished, as well as a number of syndromes associated with chronic neutropenia. The diseases are usually divided into a group of congenital neutropenia with or without hypopigmentation. This paper reviews the most common congenital neutropenia syndromes; including available diagnostic and management procedures.

Key words: congenital neutropenia, molecular diagnostics, G-CSF

Hematologia 2011; 2, 1: 63–70

Adres do korespondencji: Aleksandra Jasińska, I Katedra Pediatrii, Klinika Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii, Uniwersytet Medyczny, USK nr 4, ul. Sporna 36/50, 91–738 Łódź, tel.: 42 61 77 750, faks: 42 61 77 798, e-mail: zophija@gmail.com

Wprowadzenie

Wrodzone neutropenie stanowią heterogenną grupę pierwotnych niedoborów odporności, których wspólną cechą jest stałe, znaczne zmniejszenie liczby krążących granulocytów obojętnochłonnych ($< 0,5 \text{ G/l}$). Według danych pochodzących z Międzynarodowego Rejestru Ciężkiej Przewlekłej Neutropenii (SCNIR, *Severe Chronic Neutropenia International Registry*) częstość występowania wrodzonej neutropenii waha się od 1 do 6 przypadków na milion osób [1]. Wrodzoną neutropenię podejrzewa się zazwyczaj w okresie niemowlęcym na podstawie objawów klinicznych, wśród których dominują nawracające stany gorączkowe i infekcje; niejednokrotnie jednak choroba jest rozpoznawana w późniejszym okresie życia. Ze względu na kluczową rolę neutrofilów w ochronie błony śluzowej, wśród objawów przeważają zapalenia przyzębia i owrzodzenia śluzówki jamy ustnej oraz okolic odbytu. Częstość problemem są także ciężkie zapalenia płuc, ropnie i zakażenia tkanki podskórnej. Najczęściej dochodzi do infekcji endogenną florą pacjenta. Nie obserwuje się zwiększonej podatności na zakażenia wirusowe, pasożytnicze ani grzybicze, a zwiększona częstość grzybic jest związana przede wszystkim z prowadzoną u tych pacjentów antybiotykoterapią.

Podejrzewając wrodzoną neutropenię, należy w miarę możliwości wykluczyć stany związane z nabytą neutropenią. Najczęstsza przyczyna izolowanej granulocytopenii u noworodków i niemowląt to allo- lub autoimmunizacja, która zazwyczaj jest zjawiskiem samoograniczającym się i nie wymaga leczenia. Rozpoznanie można potwierdzić, dokumentując obecność przeciwciał przeciwneutrofilowych. Warto jednak podkreślić, że nie jest to badanie rozstrzygające; ujemny wynik badania w kierunku przeciwciał nie wyklucza immunizacji, a przeciwciała bywają także wykrywane u pacjentów z potwierdzoną molekularnie wrodzoną, genetycznie uwarunkowaną neutropenią [2].

Oprócz izolowanej ciężkiej wrodzonej neutropenii (SCN, *severe congenital neutropenia*) wyróżnia się liczne zespoły, których elementem może być neutropenia o różnym nasileniu. Te jednostki nozologiczne dzieli się zwykle na grupę zespołów łączących neutropenię z hipopigmentacją oraz grupę wrodzonych zespołów z neutropenią bez hipopigmentacji.

Ciężka wrodzona neutropenia i jej podłoże molekularne

W 1950 roku szwedzki lekarz Rolf Kostmann opisał rodzinę cierpiącą na dziedziczącą się autosomalnie recesywnie chorobę przebiegającą z ciężką

neutropenią i pojawiającymi się od wczesnego dzieciństwa nawrotowymi ciężkimi infekcjami bakteryjnymi. Podłoże genetyczne tej jednostki udało się ustalić dopiero w 2007 roku. Dziś wiadomo, że SCN to heterogenna grupa chorób o wspólnym fenotypie klinicznym i hematologicznym, charakteryzującym się zahamowaniem rozwoju prekursorów neutrofilów w szpiku na etapie promielocyta/mielocyta, z liczbą krążących neutrofilów mniejszą niż $0,5 \text{ G/l}$ i licznymi objawowymi infekcjami.

Oprócz pierwotnie opisanej jednostki dziedziczonej autosomalnie recesywnie — tradycyjnie zwanej zespołem Kostmanna — znane są obecnie formy dziedziczone autosomalnie dominująco, sprzężone z chromosomem X oraz sporadyczne. W obowiązującej nomenklaturze, zgodnie z kolejnością identyfikacji poszczególnych genów, wśród neutropenii dziedziczonych somatycznie wyróżnia się: SCN1, u której podłoża leżą mutacje genu *ELANE*; SCN2, wywołaną mutacjami genu dla czynnika transkrypcyjnego GFI1; SCN3, spowodowaną homozygotycznymi mutacjami genu *HAX1*; SCN4, za wystąpienie której jest odpowiedzialny gen kodujący podjednostkę katalityczną 3 glukozy-6-fosfatazy (*G6PC3*, *glucose-6-phosphatase, catalytic 3*), oraz XLN, czyli neutropenię dziedziczną w sposób sprzężony z chromosomem X, wynikającą z mutacji genu *WAS* [3]. W ostatnich latach badania molekularne znacznie poszerzyły wiedzę na temat patomechanizmów poszczególnych form SCN, nadal jednak w około 20% przypadków tło genetyczne choroby pozostaje nieznanne [4].

ELANE — jeden gen, dwa fenotypy

Za 50–60% przypadków SCN odpowiadają mutacje w genie *ELANE* (dawniej *ELA2*), kodującym elastazę neutrofilową [5, 6]. Jest to proteza serynowa, syntetyzowana w retikulum endoplazmatycznym (ER, *endoplasmic reticulum*) i magazynowana w pierwotnych ziarnistościach prekursorów granulocytów na etapie promielocyta [7]. W wiodącej obecnie teorii, wyjaśniającej obserwowaną klinicznie neutropenię, mutacje w genie elastazy neutrofilowej wiąże się ze stresem ER, czyli komórkowym mechanizmem odpowiedzi na niesfałdowane białka (UPR, *unfolded protein response*) [8]. W wyniku mutacji *ELANE* powstają nieprawidłowo sfaldowane białka elastazy neutrofilowej, których obecność wywołuje apoptozę poprzez UPR. W komórkach linii mieloidalnej zawierających zmutowany gen *ELANE* wykrywano zwiększoną ilość białka chaperonowego BiP [9] — klasycznego markera aktywacji UPR.

Do tej pory opisano ponad 50 różnych mutacji genu *ELANE*. Większość (ok. 80%) to mutacje typu

zmiany sensu (*missense*), najczęściej w 4. lub 5. eksonie. Obserwowano jednak także mutacje powodujące przedwczesną terminację białka (10%) i zaburzenia obróbki posttranskrypcyjnej (*splicing*) (10%) [10]. Wykazano, że obecność niektórych mutacji genu *ELANE* jest związana z cięższym przebiegiem klinicznym neutropenii i wyższym ryzykiem powikłań. Mutacją predysponującą do szczególnie ciężkiego przebiegu SCN jest mutacja Gly185Arg. Pacjenci ci wymagają znacząco większych dawek granulocytarnego czynnika wzrostu (G-CSF, *granulocyte colony stimulating factor*); zwiększone jest także u nich ryzyko rozwoju zespołu mielodysplastycznego (MDS, *myelodysplastic syndrome*) lub ostrej białaczki szpikowej (AML, *acute myeloid leukemia*). Nie obserwowano natomiast do tej pory powikłań mieloproliferacyjnych u pacjentów z mutacjami Pro110Leu i Ser97Leu, a przebieg kliniczny choroby jest we wszystkich tych przypadkach łagodny [11]. Wykazano także zależność między rodzajem mutacji a nasileniem aktywacji UPR, przy czym najbardziej wyrażoną aktywację UPR obserwowano w przypadku mutacji Gly185Arg [10].

U niektórych pacjentów mutacje genu *ELANE* dają z kolei fenotyp w postaci cyklicznej neutropenii (CN). Istotą choroby są regularne oscylacje liczby neutrofilów — powtarzające się klasycznie co 21 dni epizody granulocytopenii trwającej 3–5 dni, po których następuje wzrost liczby neutrofilów do normy. Neutropenia bywa klinicznie jawna szczególnie we wczesnym dzieciństwie, przy czym objawy infekcji zwykle ustępują wraz ze wzrostem liczby granulocytów, często bez konieczności włączenia antybiotykoterapii. W późniejszym okresie życia nasilenie objawów słabnie wraz ze spadkiem amplitudy oscylacji liczby neutrofilów. W porównaniu z pacjentami z SCN, chorzy z rozpoznaniem CN lepiej odpowiadają na leczenie, obserwuje się znacznie mniej zagrażających życiu powikłań infekcyjnych, a ryzyko powikłań mieloproliferacyjnych jest u nich równe populacyjnemu [12]. Najczęstszymi mutacjami *ELANE* wykrywanymi u pacjentów z CN są mutacje intronowe w konserwatywnych regionach składowania, powodujące powstawanie wariantów *splicingowych*. Niektóre mutacje są jednak wspólne dla SCN i CN, a mechanizmy odpowiedzialne za rodzaj fenotypu, choć intensywnie badane, nie zostały do tej pory poznane [13].

Opisywani są także pacjenci z dobrze udokumentowaną hematologicznie cykliczną hematopeozą, u których nie wykrywa się mutacji genu *ELANE*. U tych osób molekularne podłoże choroby jest nieznane, jednak niedawno pojawiło się doniesienie o mutacji genu *GFII* jako potencjalnym czynnikiem odpowiedzialnym za fenotyp CN [14].

HAX1, czyli zespół Kostmanna

Po 57 latach od pierwszego opisu rodziny obciążonej wrodzoną neutropenią wykazano, że u podłoża autosomalnie recesywnie dziedziczonej SCN leży mutacja genu *HAX1* — ulegającego powszechnej ekspresji białka mitochondrialnego o działaniu antyapoptotycznym zbliżonym do BCL-2 [15]. Odgrywa ono kluczową rolę w zachowaniu potencjału wewnętrznej błony mitochondrialnej [16, 17]. Wszystkie zidentyfikowane do tej pory mutacje genu *HAX1* skutkują utratą funkcjonalnego białka, ponieważ powodują przedwczesne pojawienie się stop-kodonu lub zmianę ramki odczytu. Neutrofile pozbawione białka *HAX1* nie utrzymują prawidłowego potencjału wewnętrznej błony mitochondrialnej i ulegają apoptozie [15–17].

U znacznej części pacjentów z mutacją *HAX1* neutropenii towarzyszą zaburzenia neurologiczne — od łagodnego opóźnienia psychoruchowego do ciężkiej padaczki. W intensywnych badaniach nad korelacją genotypu i fenotypu wykazano, że istnieją dwa warianty transkrypcyjne białka *HAX1* — izoformy A i B. Izoforma B powstaje poprzez pominięcie w *splicingu* fragmentu eksonu 2 i ulega preferencyjnej ekspresji w tkance nerwowej. Mutacje występujące w tym eliminowanym przez komórki nerwowe fragmencie eksonu 2, a więc dotyczące jedynie izoformy A, dają fenotyp ograniczony do ciężkiej neutropenii, natomiast mutacje we wszystkich innych fragmentach, wpływające na obie izoformy, dają fenotyp wrodzonej neutropenii z objawami neurologicznymi o różnym nasileniu. Dotąd jednak nie ma żadnego zadowalającego wyjaśnienia, dlaczego brak powszechnie występującego białka *HAX1* powoduje właśnie neutropenię [18].

Wrodzone neutropenie związane z hipopigmentacją

Badania nad wrodzonymi neutropeniami związanymi z hipopigmentacją dostarczyły nowych danych dotyczących złożonych interakcji między biologią lizosomów a układem immunologicznym. Do tej pory opisano 4 zespoły z albinizmem i neutropenią, w tym: zespół Chediaka-Higashiego, zespół Griscelli typu 2, zespół Hermanskiego-Pudlaka typu 2 oraz niedobór p14. Zespoły te są rozpoznawane na podstawie charakterystycznych objawów klinicznych (tab. 1) [19, 20].

W przeciwieństwie do SCN, której wspólną cechą mimo różnej patogenezы jest obserwowane w szpiku zahamowanie dojrzewania na etapie promielocyta, w zespołach neutropenii przebiegających

Tabela 1. Wrodzone zespoły przebiegające z neutropenią

Table 1. Congenital neutropenia syndromes

Jednostka chorobowa	Zaburzenie genetyczne	Sposób dziedziczenia	Dodatkowe objawy
SCN1	<i>ELANE</i>	AD	
SCN2	<i>GFI1</i>	AD	Monocytoza, limfopenia
SCN3	<i>HAX1</i>	AR	± objawy neurologiczne
SCN4	<i>G6PC3</i>	AR	Wady układów sercowo-naczyniowego i moczowo-płciowego, niskorosłość, widoczne żyły powierzchowne
XLN	<i>WAS</i>	XL	Monocytopenia
Zespoły bez hipopigmentacji			
WHIM	<i>CXCR4</i>	AD	<i>Myelokathexis</i> , niedobór IgG, brodawki
Hiper-IgM	<i>CD40L</i>	XL	Niedobór IgA, IgG, IgE
Glikogenoza typu 1b	<i>G6PT</i>	AR	Hipoglikemia, kwasica mleczanowa
Zespół Schwachmana-Diamonda	<i>SBDS</i>	AR	Niewydolność wewnętrzwydzielnicza trzustki, niskorosłość, wady szkieletu, niedokrwiłość, trombocytopenia
Zespół Bartha	<i>Taz1</i>	XL	Miopatia, kardiomiopatia rozstrzeniowa, niskorosłość, enzymopatia mitochondrialna
<i>Reticular dysgenesis</i>	<i>AK2</i>	AR	Ciężki złożony niedobór odporności, niedosłuch odbiorczy
Zespoły z hipopigmentacją			
Zespół Griscelli typu 2	<i>RAB27a</i>	AR	Częściowy albinizm, niedobór IgG, hemofagocytoza
Zespół Chediaka-Higashiego	<i>CHS</i>	AR	Albinizm, zaburzenia chemotaksji limfocytów T/NK
Zespół Hermanskiego-Pudlaka	<i>AP3B1</i>	AR	Częściowy albinizm, niskorosłość, niedobór IgG, skłonność do krwawień
Niedobór p14	<i>p14</i>	AR	Częściowy albinizm, niskorosłość, niedobór IgG

SCN (*severe congenital neutropenia*) — ciężka wrodzona neutropenia; AD — autosomalny dominujący; AR — autosomalny recesywny; XLN (*X-linked severe congenital neutropenia*) — neutropenia sprzężona z chromosomem X; XL (*X-linked*) — sprzężony z chromosomem X; WHIM (*warts, hipogammaglobulinemia, infections, myelokathexis*) — brodawki, niedobór immunoglobulin, nawracające infekcje układu oddechowego i mielokateksja; NK (*natural killer*) — komórki naturalnej cytotoxiczności

z hipopigmentacją badanie szpiku kostnego wykazuje obecność dojrzałych neutrofilów. Zespół Chediaka-Higashiego i zespół Griscelli typu 2 mogą przebiegać jedynie z okresową neutropenią, natomiast w zespole Hermanskiego-Pudlaka typu 2 i w niedoborze p14 neutropenia jest stałym elementem obrazu klinicznego [21].

Wybrane wrodzone zespoły z neutropenią bez hipopigmentacji

WHIM — *warts, hipogammaglobulinemia, infections, myelokathexis*

Według definicji zespół WHIM charakteryzuje się występowaniem brodawek, niedoboru immunoglobulin, nawracających infekcji układu oddechowego i mielokateksją, polegającą między innymi na retencji dojrzałych granulocytów w szpiku kostnym. Jednak nie u każdego pacjenta z tym rozpoznaniem

występują wszystkie cechy zespołu. U znacznej większości chorych jest wykrywana heterozygotyczna mutacja genu receptora dla chemokin CXCR4, powodująca ekspresję skróconej formy receptora. Receptor CXCR4 hamuje między innymi uwalnianie dojrzałych granulocytów do krwi obwodowej; jego skrócona forma trudniej ulega internalizacji i w związku z tym wykazuje większą ekspresję na błonach komórkowych, co prowadzi do retencji neutrofilów w szpiku kostnym. Neutrofile zatrzymane w szpiku ulegają apoptozie, a we krwi obwodowej obserwuje się głęboką neutropenię [22–24].

Barierę szpikową można przełamać, podając niewielkie dawki G-CSF, po których w ciągu kilku godzin obserwuje się wyrzut dojrzałych granulocytów do krwi obwodowej. Od niedawna prowadzone są też badania nad zastosowaniem specyficznego antagonisty CXCR4 (pleriksaforu, AMD3100), stosowanego dotąd do mobilizacji macierzystych ko-

mórek krwiotwórczych do przeszczepienia. Neutropenia w zespole WHIM nie stanowi zazwyczaj poważnego problemu klinicznego, jednak nawracające infekcje dróg oddechowych mogą prowadzić do przewlekłych chorób płuc. Obserwuje się także znaczną tendencję do rozwoju chorób rozrostowych, w szczególności raków zależnych od wirusa brodawczaka (HPV, *human papilloma virus*) [22].

Hiper-IgM, czyli neutropenia przebiegająca z niedoborem immunoglobulin

Klinicznie objawowa neutropenia występuje także w 2/3 przypadków w przebiegu zespołu hiper-IgM [25]. Spośród 4 typów zespołu najczęściej (65–70% przypadków) obserwuje się formę sprzężoną z chromosomem X, wynikającą z mutacji w genie liganda CD40 (CD40LD, CD40 *ligand deficiency*). Gen ten jest położony na długim ramieniu chromosomu X (Xq26-27); ulega on ekspresji na aktywowanych limfocytach T CD4+. Ligand dla CD40 jest niezbędny do interakcji między limfocytami T a limfocytami B, wykazującymi konstytutywną ekspresję CD40. Dzięki temu inicjowany jest między innymi proces przełączania klas immunoglobulin. U pacjentów z CD40LD osoczowe stężenia IgG i IgA są niskie, przy prawidłowym lub podwyższonym stężeniu IgM.

Brak interakcji CD40/CD40L zaburza także proces prezentowania antygeny przez limfocyty T. Klinicznie objawia się to dużą zapadalnością na infekcje oportunistyczne oraz zwiększonym ryzykiem rozwoju chorób autoimmunologicznych i rozrostowych. Niejasny jest natomiast związek patofizjologiczny między mutacją genu *CD40L* a neutropenią. Jedną z hipotez jest wpływ na syntezę G-CSF w szpiku kostnym, ponieważ jednym z czynników stymulujących jego produkcję jest interakcja między CD40 na komórkach podścieliska a jego ligandem na limfocytach [26]. W przypadku neutropenii wywołanej zespołem hiper-IgM, oprócz typowych objawów granulocytopenii, szczególnie charakterystyczna jest podatność na zakażenia *Pneumocystis carinii* oraz *Cryptosporidium spp.* [25].

Diagnostyka przewlekłej neutropenii

Proponowaną diagnostykę różnicową neutropenii przedstawiono na rycinie 1. Zgodnie z zaleceniami panelu ekspertów zrzeszonych w Radzie Naukowej SCNIR, w przypadkach bez ciężkich infekcji w wywiadzie należy przez około 6 miesięcy kontrolować morfologię krwi obwodowej, wykonać i ewentualnie powtórzyć badanie w kierunku przeciwciał antyneutrofilowych, a dopiero w następnej kolejności

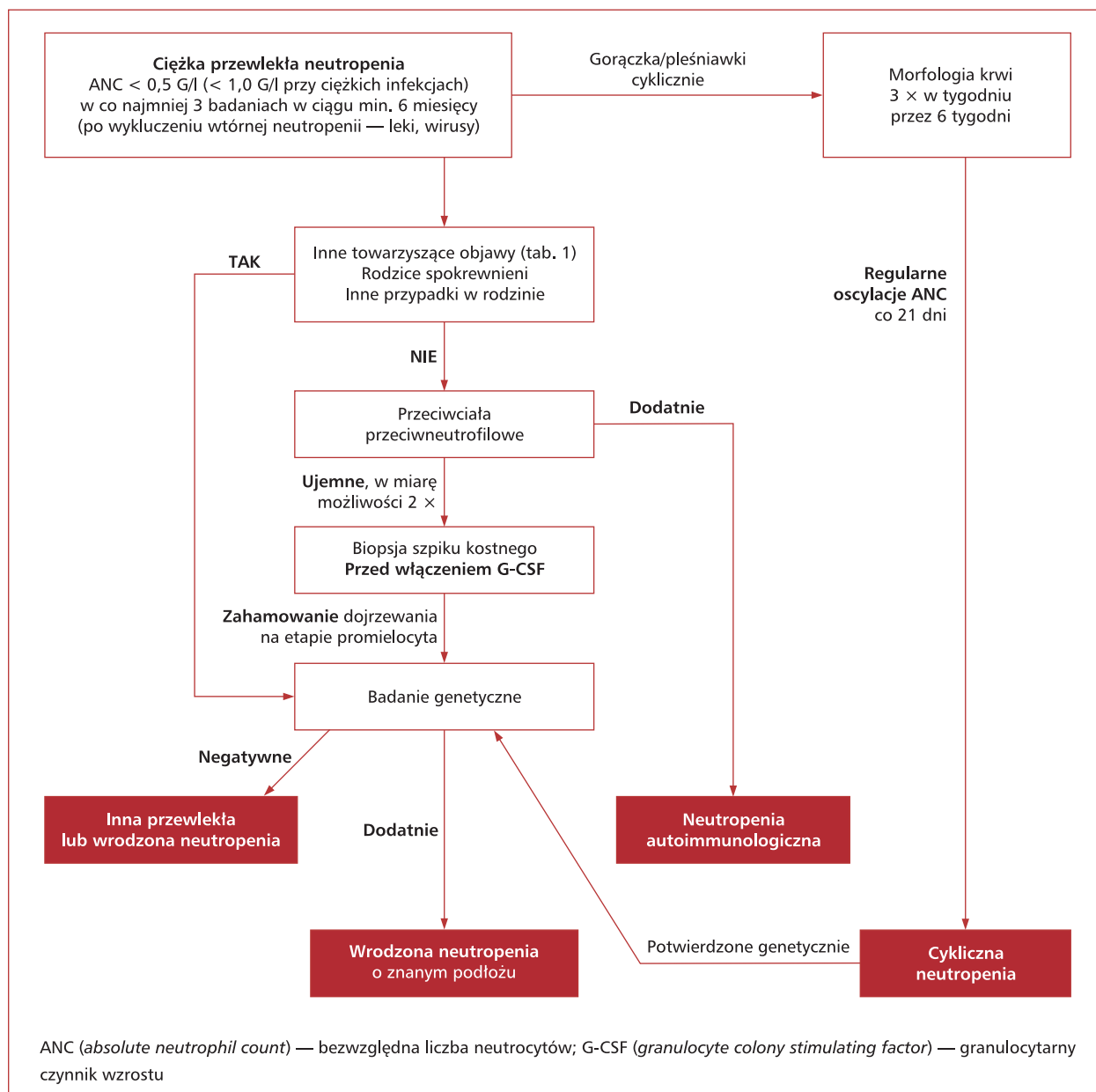
rozważyć biopsję szpiku kostnego i badanie genetyczne. W przypadkach ciężkich infekcji z udokumentowaną neutropenią można od razu rozważyć wykonanie biopsji szpiku kostnego i badanie genetyczne, aby rozpocząć leczenie za pomocą G-CSF.

W przypadku podejrzenia cyklicznej hematopoezy należy ją udokumentować za pomocą badania morfologii krwi obwodowej, powtarzanej 3 × w tygodniu przez co najmniej 6 tygodni. Przed włączeniem G-CSF wskazane jest wykonanie biopsji szpiku kostnego. Kierując pacjenta na badanie genetyczne, należy zwrócić szczególną uwagę na cechy kliniczne towarzyszące neutropenii, które mogą umożliwić zróżnicowanie poszczególnych podtypów genetycznych (tab. 1). Warto jednak pamiętać, że cechy te są w większości przypadków niespecyficzne i mogą się pojawiać w różnym nasileniu, niektóre zaś mogą się rozwijać w późniejszym okresie życia. W Polsce badania genetyczne w kierunku wrodzonej neutropenii można wykonać bezpłatnie jedynie w Pracowni Immunopatologii i Genetyki Kliniki Pediatrii, Onkologii, Hematologii i Diabetologii Uniwersytetu Medycznego w Łodzi. Dodatkowe informacje oraz formularze skierowań są dostępne na: www.pediatria.umed.pl/neutropenia.

Możliwości terapeutyczne i powikłania

Przed erą rekombinowanych czynników wzrostu mniej więcej połowa dzieci umierała w pierwszym roku życia z powodu uogólnionych infekcji bakteryjnych. Śmiertelność w kolejnych latach życia sięgała 6–7% rocznie [27]. Rokowanie uległo diametralnej zmianie po wprowadzeniu do leczenia G-CSF. Przy codziennym podawaniu G-CSF w dawkach farmakologicznych u 90–95% pacjentów z wrodzoną neutropenią obserwuje się wzrost liczby granulocytów powyżej 1,0 G/l i związane z tym zmniejszenie zachorowalności oraz liczby hospitalizacji. Większość pacjentów odpowiada na dawki G-CSF wynoszące 3–10 µg/kg mc./dobę. Leczenie zazwyczaj rozpoczyna się od dawki 5 µg/kg mc./dobę. W przypadku braku adekwatnej reakcji dawka może być zwiększana maksymalnie do 120 µg/kg mc./dobę; pacjenci nieodpowiadający na dawkę 120 µg/kg mc. są uznawani za opornych na G-CSF [21].

Wraz ze zwiększeniem przeżywalności pacjentów z neutropenią na pierwszy plan wysunęły się pozainfekcyjne powikłania, przede wszystkim ryzyko rozwoju MDS i AML. Dwie podgrupy pacjentów szczególnie narażone na rozwój tych chorób to osoby z mutacjami genów *ELANE* i *HAX1* [28]. Niedawno pojawiły się także doniesienia o transformacji nowotworowej u pacjentów z mutacjami genów



Rycina 1. Proponowany algorytm diagnostyczny wrodzonej neutropenii (dodatkowe informacje o diagnostyce dostępne na: www.pediatrics.umed.pl/neutropenia)

Figure 1. Proposed diagnostic algorithm for congenital neutropenia (additional information available on: www.pediatrics.umed.pl/neutropenia)

WAS i *GFI1* [3, 29]. W kontekście progresji do białaczki w tych 4 podtypach SCN coraz więcej uwagi poświęca się nabytym mutacjom *CSF3R* — genu receptora dla G-CSF. Mutacje te, nabyte najprawdopodobniej na etapie multipotencjalnej komórki progenitorowej, powodują skrócenie C-końcowego fragmentu o 82–98 aminokwasów, czyli o region odpowiedzialny za indukcję dojrzewania oraz zahamowanie wzrostu. Taki skrócony receptor wykazuje

prawidłowe powinowactwo do G-CSF, daje silny sygnał wzrostu, nie indukuje natomiast dojrzewania komórki. Komórki wykazują oporność na apoptozę i zwiększoną przeżywalność. Konsekwencją skrócenia receptora jest także wzmożona produkcja reaktywnych form tlenu, powodujących dalszą destabilizację genetyczną komórki [28].

Dokładne mechanizmy molekularne prowadzące do transformacji nowotworowej nie są znane.

Najczęstsze aberracje genetyczne znajdowane w AML na podłożu SCN to anomalie chromosomu 7 (monosomia 7, 7q-) i trisomia 21. Oprócz nabytych mutacji *CSF3R*, w AML na podłożu SCN znaleziono także mutacje genu *RAS*, jednak ich częstość nie jest precyzyjnie określona [30]. Nie są natomiast wykrywane mutacje typowe dla *de novo* AML, takie jak mutacje genów kinaz tyrozynowych *FLT3*, *KIT* i *JAK2*, czy mutacje genów *NPM1*, *CEBPA* i *TP53* [31].

Otwarta pozostaje kwestia wpływu leczenia na ryzyko rozwoju MDS i AML. Wysoka częstość powikłań mieloproliferacyjnych w grupie pacjentów z SCN, szczególnie w obliczu mutacji genu *CSF3R*, budzi podejrzenia dotyczące wpływu leczenia G-CSF na promocję klonów nowotworowych. Ryzyko transformacji białaczkowej zwiększa się wraz z dawką G-CSF niezbędną do wywołania odpowiedzi w postaci wzrostu liczby neutrofilów powyżej 1,5 G/l. Wśród pacjentów, którzy wymagali dawki większej niż 8 µg/kg mc./dobę, skumulowane ryzyko rozwoju AML wyniosło 40% po 10 latach, wobec 11-procentowego ryzyka u pacjentów, u których wystarczała standardowa dawka [32, 33]. Wyższe ryzyko powikłań w grupie otrzymującej duże dawki G-CSF niekoniecznie świadczy o negatywnym wpływie leczenia, a może jedynie odzwierciedlać stopień ciężkości choroby [28].

W świetle najnowszych danych częstość występowania MDS i AML na podłożu SCN jest porównywalna z częstością transformacji nowotworowej w innych wrodzonych zespołach przebiegających z upośledzeniem funkcji szpiku, takich jak anemia Fanconiego czy *dyskeratosis congenita*. W zakończonym w zeszłym roku badaniu przeprowadzonym z udziałem 374 pacjentów z SCN wykazano ryzyko rozwoju MDS i AML na poziomie 2,3% rocznie po 10 latach, a skumulowane ryzyko po 15 latach leczenia G-CSF wyniosło 22% i osiągnęło *plateau* podobne do obserwowanego w anemii Fanconiego. Warto także pamiętać, że kumulacyjne ryzyko zgonu z powodu posocznicy po 15 latach leczenia G-CSF wynosi 10% i jest znacząco wyższe u pacjentów wymagających dużych dawek G-CSF [32].

Mutacji genu *CSF3R* nie obserwowano dotąd u pacjentów z cykliczną ani idiopatyczną neutropenią otrzymujących G-CSF i opisano tylko jeden przypadek rozwoju MDS u pacjenta z CN. Tym niemniej, dopóki negatywny wpływ G-CSF nie zostanie wykluczony w wieloletniej obserwacji dużej populacji pacjentów z SCN, zaleca się ostrożność we

włączaniu czynnika wzrostu i stosowanie go w minimalnych skutecznych dawkach [28].

Ponieważ rokowanie u większości pacjentów, u których rozwija się MDS lub AML na podłożu SCN, jest złe, istotne jest wykrycie transformacji w najwcześniejszym możliwym stadium [34]. Niektórzy autorzy zalecają więc regularne monitorowanie szpiku na obecność mutacji *CSF3R* [21]. Jednak nie u wszystkich pacjentów z wykrywaną mutacją rozwija się AML lub MDS, a czas upływający od momentu nabycia mutacji do transformacji nowotworowej jest nieprzewidywalny. W obliczu tego faktu decyzja o przeszczepieniu macierzystych komórek krwiotwórczych u pacjentów dobrze odpowiadających na leczenie G-CSF, bez innych cech progresji nowotworowej (takich jak np. monosomia 7), jest kontrowersyjna [35]. Obecnie zaleca się strategię wyczekującą, mimo że wyniki leczenia na etapie dokonanej transformacji białaczkowej są niezadowolające [34]. Nadal jednak jedynym możliwym postępowaniem terapeutycznym u osób nieodpowiadających na leczenie G-CSF jest allogeniczne przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych [36].

Perspektywy na przyszłość

Chociaż ostatnie lata przyniosły wiele odkryć na polu wrodzonych neutropenii, coraz więcej pytań pozostaje otwartych. Nadal nie potrafimy określić podłoża genetycznego choroby u niemal 20% pacjentów z wrodzoną neutropenią. Mimo licznych prób niewyjaśniony pozostaje mechanizm, dzięki któremu mutacje w tak różnych, pozornie niezwiązanych ze sobą, genach dają wspólny fenotyp w postaci zahamowania dojrzewania na etapie promiocyta. Przed klinicystami stoją także nowe wyzwania, w tym wchodzące na rynek inne niż G-CSF czynniki wzrostu oraz ich analogi, które, być może, otworzą nowe możliwości terapeutyczne. Należy jednak mieć na uwadze konieczność uzyskania dowodów na bezpieczeństwo ich stosowania w długotrwałej terapii.

Na poprawę jakości życia chorych może także wpłynąć rozpoczynające się właśnie badanie włoskie, w którym będą poszukiwane dowody na bezpieczeństwo i efektywność stosowania pegylowanej formy filgrastimu u pacjentów z SCN. Trwają także prace nad poprawą skuteczności procedur transplantacyjnych u chorych wymagających tej najbardziej radykalnej formy terapii.

Piśmiennictwo

1. Dale D.C., Bolyard A.A., Schwitzer B.G. i wsp. The Severe Chronic Neutropenia International Registry: 10-Year Follow-up Report. *Support Cancer Ther.* 2006; 3: 223–234.
2. James R.M., Kinsey S.E. The investigation and management of chronic neutropenia in children. *Arch. Dis. Child.* 2006; 91: 852–858.
3. Beel K., Cotter M.M., Blatny J. i wsp. A large kindred with X-linked neutropenia with an I294T mutation of the Wiskott-Aldrich syndrome gene. *Br. J. Haematol.* 2008; 144: 120–126.
4. Zeidler C., Germeshausen M., Klein C., Welte K. Clinical implications of ELA2-, HAX1-, and G-CSF-receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia. *Br. J. Haematol.* 2008; 144: 459–467.
5. Boxer L. Severe congenital neutropenia: genetics and pathogenesis. *Trans. Am. Clin. Climatol. Assoc.* 2006; 117: 13–31.
6. Dale D.C., Link D.C. The many causes of severe congenital neutropenia. *N. Engl. J. Med.* 2009; 360: 3–5.
7. Donadieu J., Beaupain B., Bellann8. Ward A.C., Dale D.C. Genetic and molecular diagnosis of severe congenital neutropenia. *Curr. Opin. Hematol.* 2009; 16: 9–13.
8. Kolner I., Sodeik B., Schreek S. i wsp. Mutations in neutrophil elastase causing congenital neutropenia lead to cytoplasmic protein accumulation and induction of unfolded protein response. *Blood* 2006; 108: 493–500.
9. Xia J., Link D.C. Severe congenital neutropenia and the unfolded protein response. *Curr. Opin. Hematol.* 2008; 15: 1–7.
10. Rosenberg P.S., Alter B.P., Link D.C. i wsp. Neutrophil elastase mutations and risk of leukaemia in severe congenital neutropenia. *Br. J. Haematol.* 2007; 140: 210–213.
11. Colijn C., Dale D.C., Foley C., Mackey M.C. Observations on the pathophysiology and mechanisms for cyclic neutropenia. *Math. Model Nat. Phenom.* 2006; 1: 45–69.
12. Dale D.C., Person R.E., Bolyard A.A. i wsp. Mutations in the gene encoding neutrophil elastase in congenital and cyclic neutropenia. *Blood* 2000; 96: 2317–2322.
13. Armistead P.M., Wieder E., Akanie O. i wsp. Cyclic neutropenia associated with T-cell immunity to granulocyte proteases and a double *de novo* mutation in GFI1, a transcriptional regulator of ELANE. *Br. J. Haematol.* 2010; 150: 716–719.
14. Klein C., Grudzien M., Appaswamy G. i wsp. HAX1 deficiency causes autosomal recessive severe congenital neutropenia (Kostmann disease). *Nat. Genet.* 2007; 39: 86–92.
15. Palmblad J., Papadaki H.A. Chronic idiopathic neutropenias and severe congenital neutropenia. *Curr. Opin. Hematol.* 2008; 15: 8–14.
16. Smith B.N., Ancliff P.J., Pizzey A., Khwaja A., Linch D.C., Gale R.E. Homozygous HAX1 mutations in severe congenital neutropenia patients with sporadic disease: a novel mutation in two unrelated British kindreds. *Br. J. Haematol.* 2008; 144: 762–770.
17. Germeshausen M., Grudzien M., Zeidler C. i wsp. Novel HAX1 mutations in patients with severe congenital neutropenia reveal isoform-dependent genotype-phenotype associations. *Blood* 2008; 111: 4954–4957.
18. Boxer L.A., Newberger P.E. A molecular classification of congenital neutropenia syndromes. *Pediatr. Blood Cancer* 2007; 49: 609–614.
19. Rivers A., Slayton W. Congenital neutropenia and bone marrow failure syndromes. *Semin. Perinatol.* 2009; 33: 20–28.
20. Botzug K., Welte K., Zeidler C. i wsp. Congenital neutropenia syndromes. *Immunol. Allergy Clin. North Am.* 2008; 28: 259–275.
21. Kawai T., Malech H.L. WHIM syndrome: congenital immune deficiency disease. *Curr. Opin. Hematol.* 2009; 16: 20–26.
22. Taniuchi S., Maruda M., Filiti Y., Izawa K., Kanegane H., Kobayashi Y. The role of a mutation of the CXCR4 gene in WHIM syndrome. *Hematologica* 2005; 90: 1271–1272.
23. Kawai T., Choi U., Whiting-Theobald N.L. i wsp. Enhanced function with decreased internalization of carboxy-terminus truncated CXCR4 responsible for WHIM syndrome. *Exp. Hematol.* 2005; 33: 460–468.
24. Etzioni A., Ochs H.D. The hyper IgM syndrome — an evolving story. *Pediatr. Res.* 2004; 56: 519–525.
25. Rezaei N., Aghamohammadi A., Ramyar A., Pan-Hammarstrom Q., Hammarstrom L. Severe congenital neutropenia or hyper-IgM syndrome? A novel mutation of CD40 ligand in a patient with severe neutropenia. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2008; 147: 255–259.
26. Alter B.P. Inherited bone marrow failure syndromes. W: Nathan D.G., Orkin S.H., Look A.T., Ginsburg D. (red.). *Hematology of infancy and childhood.* WB Saunders Inc, Philadelphia 2003: 280–365.
27. Beekman R., Touw I.P. G-CSF and its receptor in myeloid malignancy. *Blood* 2010; 115: 5131–5136.
28. Khandapour C., Thiede C., Valk P. i wsp. A variant allele of growth factor independence 1 (GFI1) is associated with acute myeloid leukemia. *Blood* 2010; 115: 2462–2472.
29. Germeshausen M., Kratz C.P., Ballmaier M. i wsp. RAS and CSF3R mutations and severe congenital neutropenia. *Blood* 2009; 114: 3504–3505.
30. Link D.C., Kunter G., Kasai Y. i wsp. Distinct patterns of mutations occurring in *de novo* AML versus AML arising in the setting of severe congenital neutropenia. *Blood* 2007; 110: 1648–1655.
31. Rosenberg P.S., Alter B.P., Bolyard A.A. i wsp. The incidence of leukemia and mortality from sepsis in patients with severe congenital neutropenia receiving long-term G-CSF therapy. *Blood* 2006; 107: 4628–4635.
32. Zeidler C., Germeshausen M., Klein C., Welte K. Clinical implications of ELA2-, HAX1-, and G-CSF-receptor (CSF3R) mutations in severe congenital neutropenia. *Br. J. Haematol.* 2008; 144: 459–467.
33. Choi S.W., Boxer L.A., Pulsipher M.A. i wsp. Stem cell transplantation in patients with severe congenital neutropenia with evidence of leukemic transformation. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 473–477.
34. Friedman M.H., Alter B.P. Risk of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in congenital neutropenia. *Semin. Hematol.* 2002; 39: 128–133.
35. Ferry C., Ouache M., Leblanc T. i wsp. Hematopoietic stem cell transplantation in severe congenital neutropenia: experience of the French SCN register. *Bone Marrow Transplant.* 2005; 35: 45–50.
36. Filipovich A.H. Hematopoietic cell transplantation for correction of primary immunodeficiencies. *Bone Marrow Transplant.* 2008; 42: S49–S52.