

Hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie

Hypoplastic form of myelodysplastic neoplasm

Votavová H.¹, Lenertová Z.^{1,2}, Votava T.³, Beličková M.¹

¹ Ústav hematologie a krevní transfuze, Praha

² 1. lékařská fakulta, UK Praha

³ Dětská klinika LF v Plzni UK a FN Plzeň

Souhrn

Východiska: Hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie (MDS-h) je vzácná porucha krevtvorby charakterizována periferní cypenií, hypoplazií (celularita $\leq 25\%$) a dysplastickými změnami v kostní dřeni. Ve srovnání s normo-/hypercelulárním MDS je kromě hypocelularity u pacientů s MDS-h nalézána těžší neutropenie a trombocytopenie, nižší procento blastů a méně častěji abnormální karyotyp. Při diferenciální diagnóze je obtížné odlišit především MDS-h od aplastické anemie. Abnormální karyotyp je nalézán u 15–50 % pacientů s MDS-h a mezi nejběžnější chromozomální aberace patří $-5/\text{del}(5q)$, $-7/\text{del}(7q)$, $+8$, 17pLOH , $\text{del}(20q)$, UPD v $4q$, $11q$, $13q$, $14q$. Přibližně 35 % pacientů s MDS-h nese somatické mutace, které jsou nejčastěji detekovány v genech *PIGA*, *TET2*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *NPM1*, *ASXL1*, *STAG2*, *APC*. V patofyziologii MDS-h hraje klíčovou roli defektní imunitní odpověď, při které dochází k poškození hematopoetických kmenových buněk (hematopoietic stem cells – HSC) nebo progenitorových buněk (hematopoietic progenitor cells – HPC) abnormálně aktivovanými T buňkami. Expandované T buňky produkují nadměrné množství prozánětlivých cytokinů (IFN- γ a TNF- α), které inhibují proliferaci HSC/HPC a indukují jejich apoptózu. Antigeny spouštějící abnormální imunitní odpověď nejsou známy, ale mezi potenciální kandidáty patří protein WT1 a molekuly HLA I. třídy. MDS-h nepředstavuje fenotypově homogenní podskupinu MDS, ale spíše jde o smíšenou entitu zahrnující jak pacienty vykazující znaky podobné myeloidní neoplazii, tak pacienty se znaky nemaligního útlumu kostní dřene. Právě stanovení převažujícího fenotypu u MDS-h je důležité pro zvolení optimální léčby a predikci prognózy. **Cíl:** Cílem tohoto sdělení je poukázat na zajímavou hypoplastickou formu MDS, jejíž diagnostika je obtížná, a přehledně popsat její hlavní klinicko-patologické znaky, genetické pozadí a mechanismy abnormální imunitní odpovědi.

Klíčová slova

syndromy selhání kostní dřene – myelodysplastické syndromy – aplastická anemie – patofyziologie – genetické pozadí

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy.

The authors declare that they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů.

The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE recommendation for biomedical papers.



RNDr. Hana Votavová, Ph.D.

Oddělení genomiky

Ústav hematologie a krevní transfuze

U Nemocnice 1

128 00 Praha 2

e-mail: hana.votavova@uhkt.cz

Obdrženo/Submitted: 19. 11. 2022

Přijato/Accepted: 19. 1. 2023

doi: 10.48095/ccko2023206

Summary

Background: Hypoplastic myelodysplastic neoplasm (MDS-h) is a rare hematopoietic disorder characterized by peripheral cytopenia, hypoplasia (cellularity $\leq 25\%$) and dysplastic changes in the bone marrow. Compared to normo-/hypercellular MDS, in addition to hypocellularity, MDS-h patients have more profound neutropenia and thrombocytopenia, a lower percentage of blasts, and less frequent abnormal karyotype. It is difficult to distinguish MDS-h from aplastic anemia in differential diagnosis. Abnormal karyotype is found in 15–50% of MDS-h patients and the most common chromosomal aberrations include $-5/\text{del}(5q)$, $-7/\text{del}(7q)$, $+8$, 17pLOH , $\text{del}(20q)$, UPD at 4q, 11q, 13q, and 14q. Approximately 35% of MDS-h patients harbour somatic mutations that are most often detected in *PIGA*, *TET2*, *DNMT3A*, *RUNX1*, *NPM1*, *ASXL1*, *STAG2*, and *APC* genes. An autoimmune destruction of hematopoietic stem cells (HSCs) or hematopoietic progenitor cells (HPCs) mediated by abnormally activated T cells plays a key role in the pathophysiology of MDS-h. Expanded T cells overproduce proinflammatory cytokines (IFN- γ and TNF- α), which inhibit proliferation and induce apoptosis of HSC/HPCs. The antigens that trigger the immune response are not known, but potential candidates have been suggested such as WT1 protein and HLA class I molecules. MDS-h does not represent a phenotypically homogeneous subtype of MDS, but rather it is a mixed entity comprising both patients showing features similar to myelodysplastic neoplasm and patients with features of non-malignant bone marrow failure. Determining the prevailing phenotype in MDS-h is important for choosing the optimal treatment and prognosis prediction.

Purpose: The aim of this article is to point out an interesting hypoplastic MDS, the diagnosis of which is difficult, and to provide an overview of its main clinical-pathological features, genetic background, and mechanisms of aberrant immune response.

Key words

bone marrow failure disorders – myelodysplastic syndromes – aplastic anemia – physiopathology – genetic background

Úvod

Myelodysplastické neoplazie (MDS) zahrnují skupinu klonálních onemocnění krvetvorby, která je charakterizovaná neúčinnou hematopoézou, dysplazií postihující jednu nebo více buněčných linií, periferní cytopenií a zvýšeným rizikem přechodu do akutní myeloidní leukemie (AML). Roční výskyt MDS se odhaduje na 4 případy na 100 000 obyvatel, přičemž incidence se výrazně zvyšuje s věkem na 30 případů na 100 000 obyvatel u osob starších 70 let [1]. V loňském roce byl vydán nový klasifikační systém Světové zdravotnické organizace (World Health Organisation – WHO) pro myeloidní a histiocytární/dendritické neoplazie, který dělí MDS na 2 skupiny: 1) MDS s definovanými genetickými abnormalitami zahrnující MDS s nízkým počtem blastů a izolovanou delecí 5q (MDS-5q), MDS s nízkým počtem blastů a mutací *SF3B1* (MDS-SF3B1), MDS s bi-alelickou inaktivací *TP53* (MDS-biTP53); 2) MDS definované morfologicky zahrnující MDS s nízkým počtem blastů (MDS-LB), MDS hypoplastické (MDS-h), MDS se zvýšeným počtem blastů (MDS-IB). Tato klasifikace také zavádí nový termín pro myelodysplastické syndromy, a to termín myelodysplastické neoplazie (zkratka MDS zůstala stejná), který má vystihovat neoplastickou povahu onemocnění [2]. Většina pacientů s MDS má normální nebo zvýšenou celularitu kostní dřeně (normo-/hypercelulární MDS, NH-

MDS), avšak u 10–15 % pacientů lze nalézt hypocelulární kostní dřeň (celularita nepřesahuje 25 % normy) [3]. Tento minoritní typ MDS se označuje jako hypoplastická forma MDS (MDS-h), která teprve až v klasifikaci WHO 2022 byla vylčena jako samostatný podtyp MDS. V klasifikaci WHO 2016 většina případů MDS-h spadá do kategorie MDS s dysplazií v jedné nebo ve více řadách (MDS-SLD nebo MDS-MLD). Z prognostického hlediska se MDS-h vyskytuje převážně u pacientů s nízkým rizikem transformace do AML.

Diferenciální diagnostika

V rámci MDS je základním předpokladem pro diagnózu MDS-h hypocelularita kostní dřeně, jejíž hranice byla původně odvozena od aplastické anemie (AA). Dlouho se však nebralo v úvahu snižování související s věkem, což komplikovalo diagnostiku nejen u starších pacientů, ale i u mladších pacientů s MDS. V nových studiích se proto upravují kritéria pro hypocelularitu dle věku ($< 30\%$ u pacientů ve věku ≤ 70 let (včetně) a $< 20\%$ u pacientů starších 70 let) [4]. Klinické a laboratorní nálezy jako je cytopenie, dysplazie kostní dřeně, klonální chromozomální abnormality a možnost transformace do AML jsou společné pro MDS-h a NH-MDS. Ve srovnání s NH-MDS je však u MDS-h nalézána těžší neutropenie a trombocytopenie, nižší procento blastů a méně častěji abnormální

karyotyp. Dále pacienti s MDS-h vykazují větší závislost na transfúzích a vyšší míru léčebné odpovědi na imunosupresivní terapii (IST), mají příznivější prognózu, delší celkové přežití (medián 80,5 vs. 29,6 měsíce; $p = 0,001$) a nižší incidenci transformace do AML (19,3 vs. 40,4 % po 5 letech; $p = 0,001$) [5]. Pacienti s MDS-h bývají mladší, přičemž MDS-h je nejběžnějším typem MDS u dětských pacientů [6].

Hypocelularita odlišuje MDS-h od NH-MDS, avšak to neplatí pro AA, která kromě hypocelularity vykazuje řadu dalších podobných klinicko-patologických znaků. V tomto případě je diferenciální diagnostika velmi obtížná a diagnostická kritéria vymezující hranice mezi AA a MDS-h jsou stále předmětem diskuse. Pro AA je charakteristická tuková přestavba hypoplastické dřeně bez přítomnosti fibrózy a dysplazie, bez chromozomálních aberací, bez zmnožení blastů a bez známek infiltrace klonální lymfoproliferací či metastázami nádoru. Dále lze u AA pozorovat snížený růst prekurzorů krvetvorby *in vitro* [7]. Cytogenetické abnormality jsou typické pro MDS, ale jsou nalézány i u malého počtu pacientů s AA [8], u kterých mohou být dokonce tranzientní a v průběhu léčby vymizet. Ve srovnání s pacienty s AA jsou pacienti s MDS-h většinou starší, mají větší riziko progresu a kratší dobu přežití [3]. Zvýšené procento CD34⁺ buněk a tendence pozitiv-

ních buněk tvořit agregáty může také přispět k odlišení MDS-h a hypocelulární AML od AA [9]. U hypocelulární AML je nejdůležitějším diferenciačním nálezem přítomnost 20 % a více blastů v aspirátu [9]. Různý stupeň pancytopenie a hypoplazie kostní dřeně může být přítomen i u paroxysmální noční hemoglobinurie (PNH). Diagnóza PNH je stanovena na základě přítomnosti známek hemolýzy (vč. hemoglobinurie), pancytopenie a deficitu CD55/CD59 antigenů na povrchu erytrocytů a granulocytů [7]. Porovnání klinických a laboratorních nálezů mezi MDS-h a NH-MDS je shrnuto v tab. 1 [10,11].

Imunopatogeneze

Specifické imunologické znaky a vysoká míra léčebné odpovědi na IST u pacientů s MDS-h poukázala, že na patofyziologii tohoto onemocnění se zřejmě podílí imunitní systém. Experimentální studie prokázaly, že hematopoetické kmenové buňky (hematopoietic stem cells – HSC) nebo hematopoetické progenitorové buňky (hematopoietic progenitor cells – HPC) jsou ničeny abnormálně aktivovanými cytotoxickými T buňkami. Antigeny spouštějící aberantní imunitní odpověď nejsou známy, ale byli navrženi potenciální kandidáti jako je WT1. Jelikož pacienti s MDS nesoucí trizomii 8 vykazují dobrou odpověď na IST, byli tito pacienti detailně analyzováni. Ukázalo se, že trizomické buňky exprimují vysoké hladiny WT1 a CD8⁺ T buňky jsou schopny rozpoznat peptidy WT1 a indukovat expresi IFN- γ *in vitro*, což naznačuje, že tento antigen může přispívat k abnormální aktivaci imunitní odpovědi [12]. Další studie ukázala, že HSC s trizomii 8 mohou uniknout destrukci zprostředkované T buňkami, a to nadměrnou expresí proteinů cyklin D1 a survivin [13]. Imunitní odpověď mohou zřejmě vyvolat i jiné antigeny jako např. nadměrně exprimované HLA molekuly I. třídy. U pacientů s AA a MDS s refrakterní anemií byla detekována vysoká frekvence alely HLA-DR15 (DR2) ve srovnání se zdravými kontrolami [14]. Dále pacienti s MDS nesoucí PNH klon mají významně vyšší zastoupení této alely [15].

Antigen prezentovaný buňkou prezentující antigen (APC) spouští aktivaci

Tab. 1. Vybrané klinické a laboratorní nálezy u MDS-h a NH-MDS [10,11].

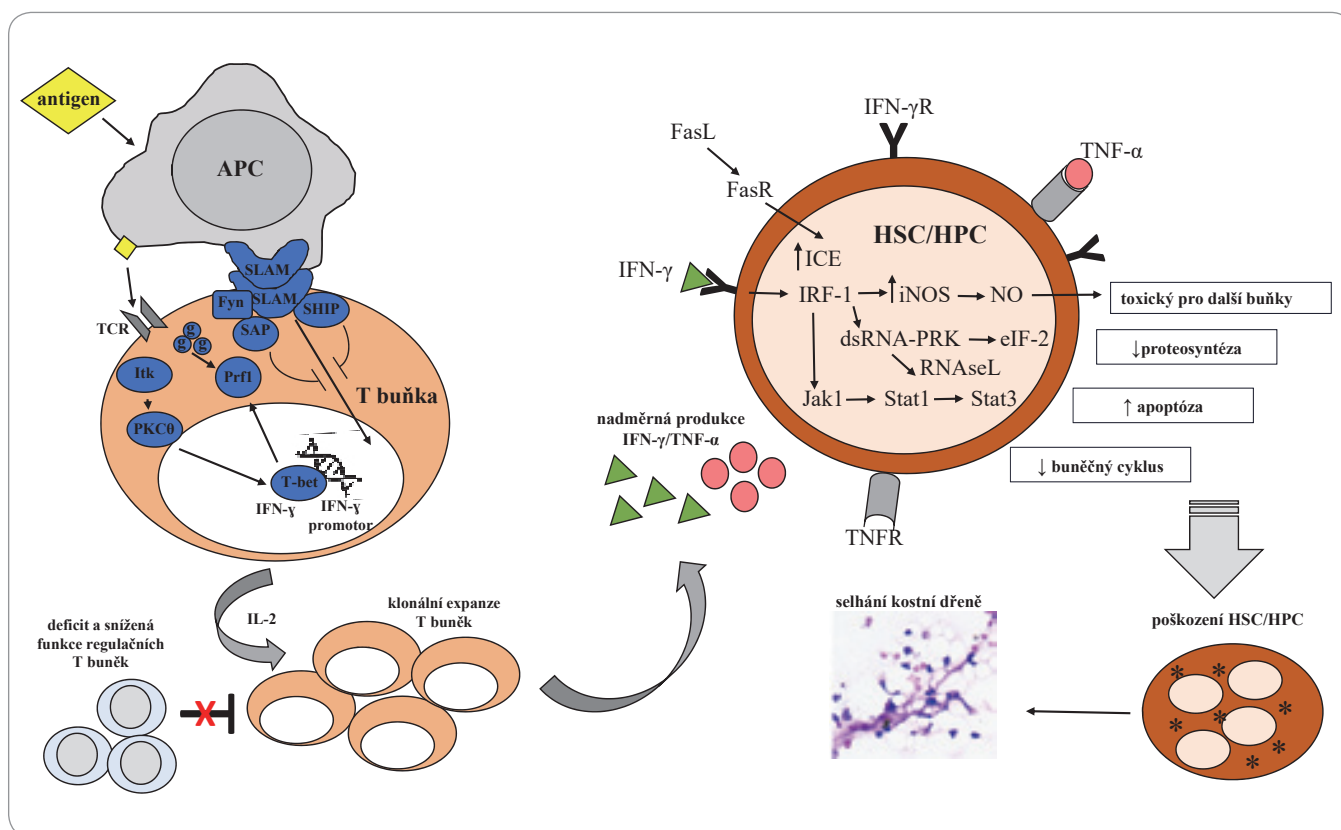
Charakteristika	MDS-h	NH-MDS	p-hodnota
věk (roky) medián (rozmezí)	61 (17–81)	64 (21–86)	0,04
podíl pohlaví (muž/žena)	3,0	1,2	0,052
zvýšená LDH	8/19 (42 %)	34/125 (27 %)	0,18
hemoglobin (g/l) medián (rozmezí)	83 (43–130)	82 (26–147)	0,45
destičky ($\times 10^9/l$) medián (rozmezí)	31 (3–320)	75 (2–490)	0,028
neutrofilů ($\times 10^9/l$) medián (rozmezí)	1,2 (0,3–3,2)	1,8 (0,05–39,1)	0,05
blasty v periferní krvi	1/24 (4 %)	60/211 (28 %)	0,01
blasty v kostní dřeni (%) – medián (rozmezí)	2 (1–24)	6 (1–29)	0,01
imunologické abnormality*	0/21 (0 %)	10/179 (5,6 %)	0,266
abnormální karyotyp	3/24 (12,5 %)	84/188 (44,7 %)	0,0025
abnormální růst GM progenitorů	4/20 (20 %)	27/78 (34,6 %)	0,21
IL-6 (pg/ml) medián (rozmezí)	1,9 (0–95,3)	6,7 (0–1 000)	0,54
Epo (mIU/ml) medián (rozmezí)	151 (10–517)	22 (5–517)	0,004
Kategorie dle WHO 2016	n = 278	n = 727	
MDS del(5q)	10 (4 %)	28 (4 %)	< 0,001
MDS-RS	12 (4 %)	133 (18 %)	
MDS-SLD	34 (12 %)	77 (11 %)	
MDS-MLD	161 (58 %)	230 (32 %)	
MDS-EB	59 (21 %)	256 (35 %)	
MDS-U	2 (1 %)	3 (< 1 %)	
Riziko dle IPSS-R	n = 229	n = 540	
velmi nízké	33 (14 %)	84 (16 %)	0,011
nízké	106 (46 %)	218 (40 %)	
střední	55 (24 %)	113 (21 %)	
vysoké	20 (9 %)	81 (15 %)	
velmi vysoké	15 (7 %)	44 (8 %)	

*Pozitivní Coombsův test, přítomnost antinukleárních nebo antineutrofilních protilátek, pozitivní revmatoidní faktor atd.

del – delece, EB – nadbytek blastů, Epo – erythropoietin, GM – granulocytární makrofágový, IL-6 – interleukin 6, IPSS-R – revidovaný Mezinárodní prognostický skórovací systém, LDH – laktátdehydrogenáza, MDS-h – hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie, MLD – multilineární dysplazie, NH-MDS – normo-/hypercelulární myelodysplastické neoplazie, RS – prstenčité sideroblasty, SLD – dysplazie v jedné řadě, U – neklasifikovatelný subtyp, WHO – Světová zdravotnická organizace

T buněk, které uvolňují IL-2, což vede ke klonální expanzi T buněk. Melenhorst et al. analyzovali CD4⁺ a CD8⁺ T buněčné populace u pacientů s MDS pomocí průtokové cytometrie a PCR a detekovali četné expanze pomocných (Th) i cytotoxických (CTL) T buněk [16]. Podobné nálezy pod-

porující hypotézu o zapojení CTL do autoreaktivní agrese vůči hematopoetickým prekurzorům publikovali také Fozza et al. [17]. Dominantní klony T buněk navíc přetrvávají u pacientů s MDS, kteří nereagují na IST, zatímco u pacientů s léčebnou odpovědí se zmenšují [18].



Obr. 1. Imunitně zprostředkovaná destrukce hematopoetických buněk.

Buňka prezentující antigen (APC) prezentuje antigen T lymfocytům, což spouští jejich aktivaci a proliferaci. Transkripční faktor T-bet se váže na promotorovou oblast interferonu γ (IFN- γ) a indukuje genovou expresi. Zvýšená sekrece interleukinu-2 (IL-2) stimuluje klonální expanzi T buněk, které produkují nadměrné množství IFN- γ a tumor nekrotizujícího faktoru α (TNF- α). Regulační T buňky jsou deficitní a mají i sníženou schopnost potlačovat proliferaci autologních T buněk. IFN- γ a TNF- α upregulují receptory T buněk (TCR) a receptor Fas (FasR). Aktivace FasR ligandem Fas (FasL) vede k apoptóze cílové hematopoetické kmenové (HSC) nebo progenitorové buňky (HPC). Některé účinky IFN- γ jsou zprostředkovány interferonovým regulačním faktorem 1 (IRF-1), který inhibuje transkripci genů a vstup HSC/HPC do buněčného cyklu. IFN- γ je také silným induktorem genu indukovatelné syntázy oxidu dusnatého (iNOS), a proto dochází k produkci oxidu dusnatého (NO), který je toxický pro ostatní HSC/HPC. Všechny tyto procesy vedou k poškození HSC/HPC a rozvoji selhání kostní dřeně. Upraveno podle [24].

Expandované T buňky produkují nadměrné množství prozánětlivých cytokinů, které ovlivňují buněčné procesy v HSC/HPC. Cytokiny IFN- γ a TNF- α inhibují buněčný cyklus, zvyšují apoptózu a indukují produkci oxidu dusnatého (NO), který je toxický pro ostatní HSC/HPC. U nízkorizikového MDS jsou vysoké hladiny TNF- α produkovány $CD4^+$ a $CD8^+$ T lymfocyty asociované s G/A polymorfizmem v promotoru *TNF- α* [19]. Dále bylo také zjištěno, že produkce IFN- γ a TNF- α může být zvyšována vysokými hladinami IL-17 [20]. K autoimunitní destrukci HSC/HPC přispívá také nedostatek regulačních T buněk, které mají navíc sníženou schopnost potlačovat proliferaci autologních T buněk [21].

U nízkorizikového MDS i AA je přítomna rozsáhlá apoptóza HSC/HPC v kostní dřeni, což ukazuje, že apoptóza je hlavním mechanismem buněčné destrukce. Abnormálně aktivované T buňky ničí HSC/HPC prostřednictvím apoptotické dráhy Fas/FasL. Nadměrná exprese receptoru Fas (FasR) na $CD34^+$ progenitorových buňkách kostní dřeně byla zjištěna u pacientů s MDS a AA [22], přičemž pacienti v remisi mají hladiny exprese FasR normální [23]. Exprese FasR může být také zvyšována nadprodukcí cytokinů [12]. Model imunitně zprostředkované destrukce hematopoetických buněk a molekulární mechanismy vedoucí k selhání kostní dřeně jsou znázorněny na obr. 1 [24]. Imunologické charakteristiky MDS-h a NH-MDS jsou shrnuty v tab. 2.

Kromě autoimunitní reakce se na rozvoji MDS-h u starších pacientů může také podílet stárnutí spojené se změnami v imunitním systému jako je např. aktivace chronického zánětu nízkého stupně (tzv. inflammaging), při kterém dochází k trvalé sekreci prozánětlivých cytokinů.

Genetické pozadí MDS-h

Model patogeneze MDS předpokládá vícestupňový proces, na jehož počátku nejprve dochází ke genetickému poškození hematopoetické kmenové buňky a následně vznikají genetické abnormality vedoucí ke klonální expanzi a maligní transformaci [25]. Technologie sekvenování nové generace významně přispěla k odhalení širokého spektra so-

Tab. 2. Přehled imunologických a genetických charakteristik MDS-h a NH-MDS [3,10,28].

Charakteristiky	MDS-h	NH-MDS
Imunologické		
aktivace T buněk	+	+/-
cytotoxické T buňky (CTL)	Zvýšené a klonální, snižují se po IST a produkují IFN- γ .	Zvýšené a oligoklonální, u vysoce rizikových pacientů se CTL produkující IFN- γ snižují, což podporuje rozvoj leukemie.
regulační (Treg) a pomocné (Th) T buňky	Treg buňky jsou deficitní a korelují s dyserythropoézou. Zvýšené a polyklonální Th buňky produkují IFN- γ .	Zvýšené a spolupracují při potlačování imunitního dozoru a rozvoje leukemie.
klon PNH	Až u 40 % pacientů, koreluje s vyššími hladinami LDH, těžšími cytopeniemi, lepší odpovědí na IST a přežitím.	Až u 20 % pacientů, koreluje s lepším přežitím a odpovědí na HSCT.
hladiny cytokinů	++ Prozánětlivé cytokiny (IFN- γ a TNF- α) a TGF- β jsou zvýšené, což vyvolává selhání kostní dřeň. IL-10 je snížený a nedokáže potlačit zánětlivou reakci.	+ Prozánětlivé cytokiny (IFN- γ a TNF- α) jsou zvýšené. U vysoce rizikových pacientů je IL-10 zvýšený a přispívá k potlačení rozvoje leukemie.
odpověď na IST	+	-
Genetické		
mutace (% pacientů)	~ 35 %	> 60 %
nejčastěji mutované geny	<i>TET2, DNMT3A, RUNX1, NPM1, ASXL1, PIGA, STAG2</i>	<i>SF3B1, TET2, ASXL1, RUNX1, DNMT3A, IDH1/2, STAG2, TP53</i>
variantní alelická frekvence	~ 35 %	> 45 %
abnormální karyotyp	15–50 %	30–70 %
časté chromozomální aberace	-5/del(5q), -7/del(7q), +8, 17pLOH, del(20q), UPD v 4q, 11q, 13q, 14q	
typ chromozomálních aberací	většinou nízkorizikové	nízkorizikové až vysoce rizikové
zkracování telomer	+	+ / ++

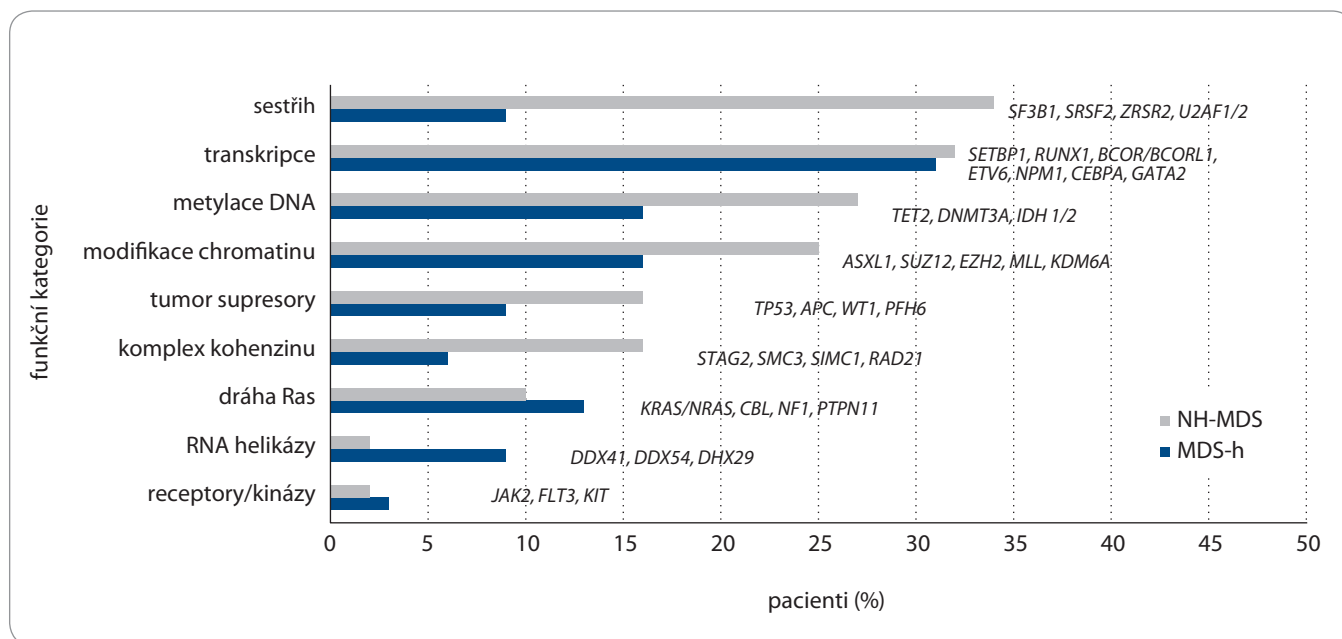
del – delece, HSCT – transplantace hematopoetických kmenových buněk, IFN- γ – interferon γ , IL-10 – interleukin 10, IST – imunosupresivní terapie, LDH – laktátdehydrogenáza, LOH – ztráta heterozygotnosti, MDS-h – hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie, NH-MDS – normo-/hypercelulární myelodysplastické neoplazie, PNH – paroxysmální noční hemoglobinurie, TGF- β – transformující růstový faktor beta, TNF- α – tumor nekrotizující faktor alfa, UPD – uniparentální disomie, (+) – přítomnost nebo dobrá léčebná odpověď, (-) – absence nebo žádná/špatná léčebná odpověď

matických mutací u MDS. Rekurentně je u MDS mutováno více než 50 genů a tyto mutace jsou detekovány až u 80–90 % pacientů [26]. Z funkčního hlediska jde převážně o geny kódující proteiny pro RNA sestřih (*SF3B1, SRSF2, ZRSR2, U2AF1, U2AF2*), metylaci DNA (*TET2, DNMT3A, IDH1/2*), komplex kohezinu (*STAG2, CTCF, SMC1A, RAD21*), modifikaci chromatinu (*ASXL1, EZH2*), regulaci transkripce (*TP53, RUNX1, ETV1, GATA2*), přenos signálu (*FLT3, JAK2, MPL, GNAS, KIT*), sig-

nální dráhu RAS (*KRAS, NRAS, CBL, NF1, PTPN11, FLT3, JAK2*), opravy DNA (*ATM, BRCC3, DLRE1C, FANCL*) [27]. U MDS-h jsou somatické mutace nalézány přibližně u 35 % pacientů a mezi nejčastěji mutované geny patří *PIGA, TET2, DNMT3A, RUNX1, NPM1, ASXL1, STAG2, APC*, zatímco u NH-MDS to jsou geny *SF3B1, TET2, ASXL1, RUNX1, DNMT3A, IDH1/2, STAG2, TP53* [28].

Odlišnostem v mutačních profilech MDS-h a NH-MDS se věnovalo něko-

lik komparativních studií. Bono et al. analyzovali panel 24 genů ve velké kohortě pacientů s MDS-h (n = 93) a jednu nebo více somatických mutací detekovali u 38 % pacientů. Ve srovnání s NH-MDS (n = 239) měli pacienti s MDS-h nižší počet mutací na pacienta, ale tento počet byl významně vyšší ve srovnání s AA. Prevalence sestřihových mutací (*SF3B1* a *SRSF2*) a komutačních vzorů *TET2, DNMT3A* a *ASXL1* byla nižší u MDS-h oproti NH-MDS. Navíc integrace mutač-



Graf 1. Frekvence nejčastěji mutovaných genů rozdělených do funkčních kategorií u NH-MDS a MDS-h [29].
MDS-h – hypoplastická forma myelodysplastické neoplazie, NH-MDS – normo-/hypercelulární myelodysplastické neoplazie

ních dat do skórovacího systému umožnila oddělit pacienty s MDS-h vykazující znaky myeloidní neoplazie a pacienty se znaky odpovídajícími nemalignímu útlumu kostní dřeně [10]. K podobným výsledkům došli autoři i v následujících dvou studiích. Yao et al. detekovali alespoň jednu genovou mutaci (17 genů) u 35 % pacientů s MDS-h a nejčastější mutací byla mutace *SF3B1*. Pacienti s MDS-h vykazovali významně nižší výskyt mutací *RUNX1*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *EZH2* a *TP53* a nižší počet mutací na pacienta ve srovnání s pacienty s NH-MDS; počet byl však výrazně vyšší ve srovnání s AA [5]. Nazha et al. analyzovali 62 genů a pacienti s MDS-h nesli menší počet somatických mutací a měli menší klony s driver mutacemi ve srovnání s NH-MDS. Somatické mutace v genech pro sestřihové faktory byly detekovány převážně u pacientů s NH-MDS (34 vs. 9 %; $p = 0,03$). Autoři se domnívají, že imunitní systém pacientů s MDS-h může potlačit řídicí klon, a to inhibicí jeho růstu, a omezit tak získávání dalších somatických mutací. Je zajímavé, že některé klony, jako jsou *SF3B1*, *SRSF2*, *TET2*, *ASXL1* a *BCOR*, zřejmě mohou tento inhibiční účinek překonat [29]. V souvislosti s aberantní imunitní odpovědí byly popsány získané mutace v genu

STAT3, které jsou nalézány hlavně u AA a MDS s hypoplastickými znaky, a zřejmě mohou vést k autoreaktivaci CTL. U MDS mutace *STAT3* korelují se sníženou celularitou a vyšším výskytem abnormalit chromozomu 7 [30].

Souhrnem lze říct, že mutační profil MDS-h se liší od profilu NH-MDS nižším výskytem mutací v genech pro sestřihové faktory, DNA metylační enzymy a komplex kohezinu (graf 1). Pacienti s MDS-h nesou menší počet somatických mutací na pacienta a mají nižší mutační zátěž (tab. 2).

Abnormální karyotyp je nalézán u 15–50 % pacientů s MDS-h a mezi nejčastější chromozomální aberace patří $-5/\text{del}(5q)$, $-7/\text{del}(7q)$, $+8$, $17p\text{LOH}$, $\text{del}(20q)$, $\text{UPD v } 4q, 11q, 13q, 14q$ [10,31]. Spektrum chromozomálních aberací se významně neliší mezi MDS-h a NH-MDS (tab. 2). Pouze někteří autoři udávají nižší prevalenci $-7/\text{del}(7q)$ u MDS-h ve srovnání s NH-MDS [32]. Jiní autoři poukazují na asociaci $-7/\text{del}(7q)$ s MDS vyvinutým z AA [33]. Jak již bylo uvedeno výše, důležitou roli v patofyziologii selhání kostní dřeně (bone marrow failure – BMF) zřejmě hraje i trizomie 8, která je asociována s vyšší imunogenitou a vysokou expresí genu *WT1* [12]. Výraznější rozdíl v cytogenetických abnor-

malitách je mezi MDS-h a AA. U pacientů s AA se cytogenetické abnormality vyskytují méně často (4–11 %) a nejběžnější jsou $6p\text{UPD}$, $-7/\text{del}(7q)$, $+6$, $+8$, $+15$, $\text{del}(13q)$ [8]. Velmi častá (až u 13 % pacientů) je $6p\text{UPD}$, která vede ke ztrátě specifických alel HLA A/B, což zřejmě umožňuje buňkám uniknout destrukci zprostředkované T lymfocyty [34]. Osumi et al. navrhli, že *HLA-B*40:02* je jedním z cílových antigenů T buněk u idiopatické AA a nonsense mutace v této alele přispívá ke klonálnímu úniku [35].

Přibližně u 20 % pacientů s nízkorizikovým MDS jsou nalézány PNH klony, které jsou charakteristické pro AA (30–60 %) a PNH (> 50 %) [24,31]. Ve srovnání s NH-MDS vykazuje MDS-h vyšší prevalenci PNH klonů (24 vs. 2 %; $p < 0,001$) [10]. PNH klony nesou somatickou mutaci v genu *PIGA*, která vede ke ztrátě tzv. glykosylfosfatidylinositolové (GPI) kotvy na cirkulujících krevních buňkách. Dosud z neznámých důvodů PNH klony unikají imunitní destrukci zprostředkované T buňkami u BMF syndromů. Předpokládá se, že cílem autoreaktivních T buněk nebo jejich koregulátory mohou být právě GPI-vázané proteiny. Příčinou imunoselektce *PIGA*-mutantních buněk může být nedostatek stresem indukovatelných

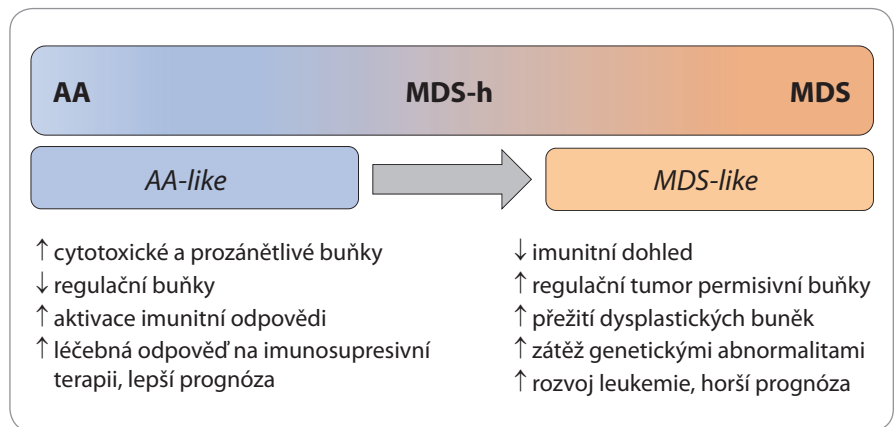
membránových proteinů (ULBP1/2) asociovaných s GPI, které aktivují NK (natural killers – přirození zabijáci) buňky [36]. Klony *PIGA* mohou také získat další somatické mutace (např. *TET2*, *SUZ12*, *U2AF1*, *JAK2*), které jim poskytnou proliferativní výhodu [37].

Defektní homeostáza telomer je dalším genetickým faktorem, který zřejmě může přispívat k rozvoji BMF. Bouillon et al. zjistili významně zkrácenou délku telomer u MDS-h i AA, přičemž pacienti s AA vykazovali rychlejší zkracování telomer ve srovnání s MDS-h [38]. Mutace v genech telomerázového komplexu (*TERC* a *TERT*) byly detekovány u MDS i AA [39,40], nicméně, mutace jsou považovány spíše za rizikové faktory BMF než za genetické determinanty. Také byla popsána asociace germinálních heterozygotních variant genu *RTEL1* s erozí telomer u MDS-h a AA [41].

Zajímavou skupinu genů představují nekódující RNA (ncRNA), jejichž role v BMF není zatím známá. Prvotní studie u AA ukazují, že i tyto regulátory genové exprese se mohou podílet na aberantní aktivaci T buněk. Hosokoawa et al. detekovali sníženou expresi *miR-126-3p* a *miR-223-3p* v CD4⁺ T buňkách a *miR-126-3p*, *miR-145-5p* a *miR-223-3p* v CD8⁺ T buňkách u získané AA. Velmi zajímavým zjištěním je, že hladiny exprese *miR-126-3p*, *miR-145-5p* a *miR-223-3p* se po úspěšné IST upravily na normální hodnoty [42]. Objasnění role ncRNA v autoimunitních poruchách může vést k novým terapeutickým přístupům založeným na technologii RNA interference nebo látkách inhibujících miRNA.

Léčba

Prognosticky většina případů MDS-h spadá do kategorie s nízkým rizikem a léčba je přizpůsobena podle stupně podobnosti s AA nebo MDS. Pokud MDS-h nevykazuje znaky myeloidní neoplazie, aplikuje se IST založená na podávání anti-T-lymfocytárního globulinu a cyklosporinu A, které potlačují aktivitu aberantních T buněk a podporují tak obnovu kostní dřeně. Přibližně 50 % pacientů s nízkorizikovým MDS vykazuje dobrou odpověď na IST, která je asociovaná s hypocelularitou a vyšší mírou nezávislosti na transfuzích [43]. Ve studii



Obř. 2. Dva fenotypy hypoplastické formy myelodysplastické neoplazie (MDS-h) [3]. Klinické, imunologické a molekulární znaky definují dva fenotypy MDS-h: 1) fenotyp AA-like u něhož převažuje aktivace zánětlivé a imunitní odpovědi (zvýšené cytotoxické T buňky a pomocné T buňky typu 1, mastocyty a prozánětlivé monocyty; snížené regulační T a B buňky, mezenchymální kmenové buňky typu 1, vyšší prevalence autoprotilátek a klonů paroxysmální noční hemoglobinurie); 2) fenotyp MDS-like u něhož dominují genetické abnormality, klonální selekce a riziko rozvoje leukemie. Přechod od jednoho fenotypu k druhému se vyznačuje progresivním úbytkem prozánětlivých/proapoptotických imunitních efektorů a nárůstem regulačních tumor permissivních buněk, jakož i posunem mezenchymálních kmenových buněk od typu 1 (prozánětlivé) k typu 2 (podporující rozvoj nádoru), které umožňují selekci klonů a únik nádorových buněk z imunitního dohledu. AA – aplastická anemie

zaměřené pouze na pacienty s MDS-h léčené IST byla dokonce míra celkové odpovědi 73 % [44]. Je však stále nejasné, do jaké míry může IST indukovat klonální proliferaci. I přesto je dlouhodobé podávání IST považováno za bezpečné [45]. Podpurná péče u MDS s nízkým rizikem zahrnuje transfuze erytrocytů a trombocytů, redukci přetížení železem, profylaktické podávání antibiotik a antimykotik a podávání látek stimulujících tvorbu červených krvinek [46]. Hypometylační činidla, jako je azacitidin nebo decitabin, se používají pro léčbu vysoce rizikových pacientů, ale mohou být racionální volbou také pro pacienty s MDS-h s vysoce rizikovou cytogenetikou a nepříznivými somatickými mutacemi. Alogenní transplantace hematopoetických kmenových buněk (hematopoietic stem cell transplantation – HSCT) představuje jedinou kurativní metodu léčby MDS, avšak mnoho pacientů (80 %) není pro HSCT způsobilých kvůli přidruženým komorbiditám spojeným obvykle s vyšším věkem [46]. Vyšší věk, pokročilé stadium onemocnění, těžká fibróza v dřeně, nepříznivý karyotyp a určité somatické mutace (*ASXL1*, *RUNX1* a *TP53*) zvyšují riziko relapsu MDS [47]. Zhou et al. hod-

notili přežití u pacientů s MDS-h po alogenní HSCT, kdy míra celkového přežití byla 72,7 % a během 3leté doby sledování u žádného pacienta nedošlo k relapsu [48].

Závěr

Hypoplastická forma MDS představuje minoritní formu MDS, která se odlišuje od ostatních případů MDS především hypocelulární kostní dřeně a vykazuje i řadu jiných specifických znaků hlavně imunologických. Teprve až v loňském roce byla MDS-h uznána jako samostatná klinická entita v revidovaném klasifikačním systému WHO 2022. Velmi obtížná je hlavně diferenciální diagnóza MDS-h a AA kvůli překryvu mnoha klinických a laboratorních nálezů, jejichž hodnocení může být navíc ztíženo těžkou hypoplazií u některých případech.

Klinické a experimentální studie ukazují, že MDS-h tvoří fenotypově homogenní podskupinu MDS, ale spíše jde o smíšenou entitu zahrnující jak pacienty s rysy myeloidní neoplazie (fenotyp MDS-like) tak pacienty se znaky dřevého útlumu (fenotyp AA-like). Pro první fenotyp jsou charakteristické genetické abnormality, klonální selekce

a zvýšené riziko leukemogeneze, zatímco druhý fenotyp vykazuje zvýšenou zánětlivou a imunitní odpověď a dobrou léčebnou odpověď na IST (obr. 2) [3]. Právě stanovení převažujícího fenotypu u MDS-h je důležité pro zvolení efektivní léčby a určení prognózy.

Nedílnou součástí diagnostických postupů jsou molekulární vyšetření, jejichž stále zvyšující se citlivost zpřesňuje diagnostiku a prognózu, ale přináší i problematické aspekty jako je např. interpretace variant neznámého klinického významu a klonální hematopoéza neurčitěho potenciálu. Recentně došlo k zařazení molekulárních dat do prognostického systému pro MDS označovaného jako Molekulární mezinárodní prognostický skórovací systém (Molecular International Prognostic Scoring System – IPSS-M), který již zohledňuje somatické mutace v 31 relevantních genech [49]. Tato revize prognostického modelu je dalším významným krokem v oblasti personalizované zdravotní péče o pacienty s MDS.

Poděkování

Práce vznikla za podpory grantů AZV ČR č. NU21 03 00565 a MZ ČR–RVO (UHKT, 00023736).

Literatura

- Sekeres MA. The epidemiology of myelodysplastic syndromes. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24(2): 287–294. doi: 10.1016/j.hoc.2010.02.011.
- Khouri JD, Solary E, Abl O et al. The 5th edition of the World Health Organization Classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia* 2022; 36(7): 1703–1719. doi: 10.1038/s41375-022-01613-1.
- Fattizzo B, Serpenti F, Barcellini W et al. Hypoplastic myelodysplastic syndromes: just an overlap syndrome? *Cancers (Basel)* 2021; 13(1): 132. doi: 10.3390/cancers13010132.
- Yue G, Hao S, Fadare O et al. Hypocellularity in myelodysplastic syndrome is an independent factor which predicts a favorable outcome. *Leuk Res* 2008; 32(4): 553–558. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.006.
- Yao CY, Hou HA, Lin TY et al. Distinct mutation profile and prognostic relevance in patients with hypoplastic myelodysplastic syndromes (h-MDS). *Oncotarget* 2016; 7(39): 63177–63188. doi: 10.18632/oncotarget.11050.
- Hofmann I. Pediatric myelodysplastic syndromes. *J Hematopathol* 2015; 8: 127–141.
- Čermák J. Aplastic anemia. *Vnitř Lek* 2018; 64(5): 501–507.
- Ogawa S. Clonal hematopoiesis in acquired aplastic anemia. *Blood* 2016; 128(3): 337–347. doi: 10.1182/blood-2016-01-636381.
- Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica* 2009; 94(2): 264–268. doi: 10.3324/haematol.13755.
- Bono E, McLornan D, Travaglino E et al. Clinical, histopathological and molecular characterization of hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Leukemia* 2019; 33(10): 2495–2505. doi: 10.1038/s41375-019-0457-1.
- Marisavljevic D, Cemerik V, Rolovic Z et al. Hypocellular myelodysplastic syndromes: clinical and biological significance. *Med Oncol* 2005; 22(2): 169–175. doi: 10.1385/MO:22:2:169.
- Sloand EM, Barrett AJ. Immunosuppression for myelodysplastic syndrome: how bench to bedside to bench research led to success. *Hematol Oncol Clin North Am* 2010; 24(2): 331–341. doi: 10.1016/j.hoc.2010.02.009.
- Sloand EM, Mainwaring L, Fuhrer M et al. Preferential suppression of trisomy 8 compared with normal hematopoietic cell growth by autologous lymphocytes in patients with trisomy 8 myelodysplastic syndrome. *Blood* 2005; 106(3): 841–851. doi: 10.1182/blood-2004-05-2017.
- Sauntharajah Y, Nakamura R, Nam JM et al. HLA-DR15 (DR2) is overrepresented in myelodysplastic syndrome and aplastic anemia and predicts a response to immunosuppression in myelodysplastic syndrome. *Blood* 2002; 100(5): 1570–1574.
- Wang H, Chuho T, Yasue S et al. Clinical significance of a minor population of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria-type cells in bone marrow failure syndrome. *Blood* 2002; 100(12): 3897–3902. doi: 10.1182/blood-2002-03-0799.
- Melenhorst JJ, Eniafe R, Follmann D et al. Molecular and flow cytometric characterization of the CD4 and CD8 T-cell repertoire in patients with myelodysplastic syndrome. *Br J Haematol* 2002; 119(1): 97–105. doi: 10.1046/j.1365-2141.2002.03802.x.
- Fozza C, Contini S, Galleu A et al. Patients with myelodysplastic syndromes display several T-cell expansions, which are mostly polyclonal in the CD4(+) subset and oligoclonal in the CD8(+) subset. *Exp Hematol* 2009; 37(8): 947–955. doi: 10.1016/j.exphem.2009.04.009.
- Kochenderfer JN, Kobayashi S, Wieder ED et al. Loss of T-lymphocyte clonal dominance in patients with myelodysplastic syndrome responsive to immunosuppression. *Blood* 2002; 100(10): 3639–3645. doi: 10.1182/blood-2002-01-0155.
- Serio B, Sella C, Maciejewski JP. Impact of immunogenetic polymorphisms in bone marrow failure syndromes. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11(6): 544–552. doi: 10.2174/138955711795843356.
- Zhang Z, Li X, Guo J et al. Interleukin-17 enhances the production of interferon- γ and tumour necrosis factor- α by bone marrow T lymphocytes from patients with lower risk myelodysplastic syndromes. *Eur J Haematol* 2013; 90(5): 375–384. doi: 10.1111/ejh.12074.
- Bouchliou I, Miltiades P, Nakou E et al. Th17 and Foxp3(+) T regulatory cell dynamics and distribution in myelodysplastic syndromes. *Clin Immunol* 2011; 139(3): 350–359. doi: 10.1016/j.clim.2011.03.001.
- Bouscary D, De Vos J, Guesnu M et al. Fas/Apo-1 (CD95) expression and apoptosis in patients with myelodysplastic syndromes. *Leukemia* 1997; 11(6): 839–845. doi: 10.1016/j.leukres.2007.08.006.
- Callera F, Garcia AB, Falcão RP. Fas-mediated apoptosis with normal expression of bcl-2 and p53 in lymphocytes from aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1998; 100(4): 698–703. doi: 10.1046/j.1365-2141.1998.00625.x.
- Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. *Blood* 2006; 108(8): 2509–2519. doi: 10.1182/blood-2006-03-010777.
- Čermák J. Myelodysplastický syndrom, MKN klasifikace a Národní onkologický registr ČR. *Klin Onkol* 2007; 20 (Suppl 1): 152–155.
- Hosono N. Genetic abnormalities and pathophysiology of MDS. *Int J Clin Oncol* 2019; 24(8): 885–892. doi: 10.1007/s10147-019-01462-6.
- Ganguly BB, Kadam NN. Mutations of myelodysplastic syndromes (MDS): an update. *Mutat Res Rev Mutat Res* 2016; 769: 47–62. doi: 10.1016/j.mrrrev.2016.04.009.
- Votavova H, Belickova M. Hypoplastic myelodysplastic syndrome and acquired aplastic anemia: immune-mediated bone marrow failure syndromes (review). *Int J Oncol* 2022; 60(1): 7. doi: 10.3892/ijo.2021.5297.
- Nazha A, Seastone D, Radivoyevitch T et al. Genomic patterns associated with hypoplastic compared to hyperplastic myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2015; 100(11): e434–437. doi: 10.3324/haematol.2015.130112.
- Jerez A, Clemente MJ, Makishima H et al. STAT3 mutations indicate the presence of subclinical T-cell clones in a subset of aplastic anemia and myelodysplastic syndrome patients. *Blood* 2013; 122(14): 2453–2459. doi: 10.1182/blood-2013-04-494930.
- Durrani J, Maciejewski JP. Idiopathic aplastic anemia vs hypocellular myelodysplastic syndrome. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2019; 2019(1): 97–104. doi: 10.1182/hematology.2019000019.
- Huang TC, Ko BS, Tang JL et al. Comparison of hypoplastic myelodysplastic syndrome (MDS) with normo-/hypercellular MDS by International Prognostic Scoring System, cytogenetic and genetic studies. *Leukemia* 2008; 22(3): 544–550. doi: 10.1038/sj.leu.2405076.
- Negoro E, Nagata Y, Clemente MJ et al. Origins of myelodysplastic syndromes after aplastic anemia. *Blood* 2017; 130(17): 1953–1957. doi: 10.1182/blood-2017-02-767731.
- Katagiri T, Sato-Otsubo A, Kashiwase K et al. Frequent loss of HLA alleles associated with copy number-neutral 6pLOH in acquired aplastic anemia. *Blood* 2011; 118(25): 6601–6609. doi: 10.1182/blood-2011-07-365189.
- Osumi T, Miharu M, Saji H et al. Nonsense mutation in HLA-B*40:02 in a case with acquired aplastic anemia: a possible origin of clonal escape from autoimmune insult. *Br J Haematol* 2013; 162(5): 706–707. doi: 10.1111/bjh.12395.
- Hanaoka N, Kawaguchi T, Horikawa K et al. Immunoselection by natural killer cells of PIGA mutant cells missing stress-inducible ULBP. *Blood* 2006; 107(3): 1184–1191. doi: 10.1182/blood-2005-03-1337.
- Shen W, Clemente MJ, Hosono N et al. Deep sequencing reveals stepwise mutation acquisition in paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *J Clin Invest* 2014; 124(10): 4529–4538. doi: 10.1172/JCI74747.
- Bouillon AS, Ferreira MS, Werner B et al. Comprehensive analysis of telomere biology in patients with aplastic anemia and hypoplastic myelodysplastic syndrome: further evidence for a common mechanism. *Blood* 2015; 126(23): 2858. doi: 10.1182/blood.V126.23.2858.2858.
- Yamaguchi H, Calado RT, Ly H et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N Engl J Med* 2005; 352(14): 1413–1424. doi: 10.1056/NEJMoa042980.
- Ueda Y, Calado RT, Norberg A et al. A mutation in the H/ACA box of telomerase RNA component gene (TERC) in a young patient with myelodysplastic syndrome. *BMC Med Genet* 2014; 15: 68. doi: 10.1186/1471-2350-15-68.
- Marsh JCW, Gutierrez-Rodriguez F, Cooper J et al. Heterozygous RTEL1 variants in bone marrow failure and myeloid neoplasms. *Blood Adv* 2018; 2(1): 36–48. doi: 10.1182/bloodadvances.2017008110.
- Hosokawa K, Muranski P, Feng X et al. Identification of novel microRNA signatures linked to acquired aplastic anemia. *Haematologica* 2015; 100(12): 1534–1545. doi: 10.3324/haematol.2015.126128.
- Stahl M, DeVeaux M, de Witte T et al. The use of immunosuppressive therapy in MDS: clinical outcomes and their predictors in a large international patient cohort.

Blood Adv 2018; 2(14): 1765–1772. doi: 10.1182/bloodadvances.2018019414.

44. Selleri C, Maciejewski JP, Catalano L et al. Effects of cyclosporine on hematopoietic and immune functions in patients with hypoplastic myelodysplasia: in vitro and in vivo studies. *Cancer* 2002; 95(9): 1911–1922. doi: 10.1002/cncr.10915.

45. Parikh AR, Olnes MJ, Barrett AJ. Immunomodulatory treatment of myelodysplastic syndromes: antithymocyte

globulin, cyclosporine, and alemtuzumab. *Semin Hematol* 2012; 49(4): 304–311. doi: 10.1053/j.seminhematol.2012.07.004.

46. Jonášová A. Pokroky v terapii myelodysplastického syndromu. *Klin Onkol* 2021; 34(5): 356–365. doi: 10.48095/ccko2021356.

47. Bělohávková P. Treatment strategies for myelodysplastic syndrome in 2021. *Vnitr Lek* 2021; 67(3): 150–155.

48. Zhou M, Wu L, Zhang Y et al. Outcome of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for hypoplastic myelodysplastic syndrome. *Int J Hematol* 2020; 112(6): 825–834. doi: 10.1007/s12185-020-02969-9.

49. Bernard E, Tuechler H, Greenberg PL et al. Molecular International Prognostic Scoring System for Myelodysplastic Syndromes. *NEJM Evid* 2022; 1(7). doi: 10.1056/EVIDo2200008.