

Επίκτητη σιδηροβλαστική αναιμία

Αργύρης Σ. Συμεωνίδης

ΠΕΡΙΛΗΨΗ: Ως σιδηροβλαστική αναιμία ορίζεται η αναιμία στην οποία >15% των ερυθροβλαστών του μυελού έχουν ανώμαλη, περιπυρηνική κατανομή του σιδήρου, δημιουργώντας δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες. Διακρίνεται σε συγγενή, που οφείλεται συνήθως σε μεταλλάξεις των ενζύμων που βιοσυνθέτουν πορφυρίνες και επίκτητη, που παριστά κλωνική νόσο του πολυδύναμου αιμοποιητικού κυττάρου και ανήκει στα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. Η επίκτητη προκαλείται από διαταραχές της διαμιτοχονδριακής διακίνησης του σιδήρου, και συνήθως από δυσλειτουργία-ανεπάρκεια του πρωτεϊνικού δι-αύλου ABCB7, λόγω μεταλλάξεων των δομικών πρωτεϊνών του spliceosome, και κυρίως μεταλλάξεων της πρωτεΐνης SF3B1, που οδηγεί σε ενδομιτοχονδριακή συσσώρευση του σιδήρου, σοβαρές διαταραχές της μιτοχονδριακής λειτουργίας και επαγωγή ερυθροβλαστικής απόπτωσης. Στους ασθενείς αυτούς χαρακτηριστικά ανευρίσκονται υψηλά επίπεδα ορού του παράγοντα GDF-15, καθώς και αυξημένα κυτταροπλασματικά επίπεδα μιτοχονδριακής φερριτίνης και δραστικών μορφών οξυγόνου (ROS). Τα αυξημένα επίπεδα ROS αναστέλλουν αρκετές πρωτεΐνες με ογκοκατασταλτική δράση, όπως οι αναστολείς της εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου p15 και p27, και ευνοούν την εμφάνιση μεταλλάξεων και ποικίλων βλαβών του σωματικού DNA, προάγοντας την εξέλιξη του συνδρόμου προς επιθετικότερο ΜΔΣ ή οξεία λευχαιμία. Η τελευταία εξέλιξη ωστόσο εμφανίζεται στην επίκτητη σιδηροβλαστική αναιμία λιγότερο συχνά σε σχέση με τα άλλα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα. Σε ένα μικρό ποσοστό η επίκτητη σιδηροβλαστική αναιμία μπορεί να επάγεται από φάρμακα και να αναστραφεί με τη διακοπή τους. Ορισμένες μορφές συγγενούς σιδηροβλαστικής αναιμίας ανταποκρίνονται καλά σε φαρμακολογικές δόσεις πυριδοξίνης, ενώ για την πρωτοπαθή επίκτητη οι μεγάλες δόσεις ανασυνδουασμένης ερυθροποιητίνης με ή χωρίς συγχορήγηση G-CSF μπορεί να μειώσουν τον ρυθμό απόπτωσης και να βελτιώσουν τη βαρύτητα της αναιμίας. Νεότεροι παράγοντες πολλά υποσχόμενοι, όπως οι προσδέτες του υποδοχέα τύπου II της ακτιβίνης, ευρίσκονται ακόμα σε φάση κλινικών δοκιμών.

Haema 2016; 7(3): 339-349 Copyright EAE

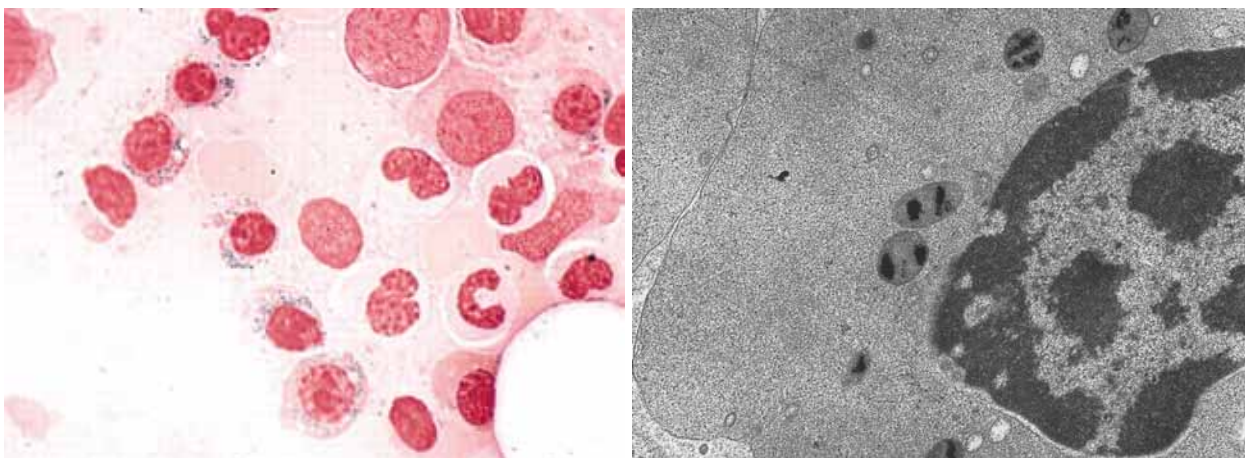
Εισαγωγή – Σιδηροβλαστικές αναιμίες

Με τον όρο σιδηροβλαστική αναιμία ορίζεται η αναιμία, στην οποία $\geq 15\%$ των ερυθροβλαστών στον μυελό των οστών παρουσιάζει τη χαρακτηριστική μορφολογία του δακτυλιοειδούς σιδηροβλάστη, δηλαδή στη χρώση Prussian blue εμφανίζουν ≥ 10 κοκκία σιδήρου, με τουλάχιστον κατά το 1/3 περιπυρηνική κατανομή (θέσεις μιτοχονδρίων). Στο ηλεκτρονικό μικροσκόπιο επιβεβαιώνεται η ενδομιτοχονδριακή εναπόθεση του σιδήρου (Εικόνα 1).^{1,2}

Η σιδηροβλαστική αναιμία μπορεί να είναι συγγενής

ή επίκτητη και διακρίνεται σε κληρονομική, πρωτοπαθή επίκτητη και δευτεροπαθή επίκτητη (φαρμακοεπαγόμενη ή συνοδό άλλων νοσημάτων). Η συγγενής διακρίνεται σε φυλοσύνδετη (~40%), μη φυλοσύνδετη και σχετιζόμενη με διάφορα συγγενή σύνδρομα. Η αιτιολογία της αφορά μεταλλάξεις των γονιδίων των ενζύμων του βιοσυνθετικού κύκλου των πορφυρινών, και κυρίως της συνθετάσης του δ-αμινολεβουλικού οξέος (ALAS2). Σπανιότερα έχουν διαπιστωθεί μεταλλάξεις στα γονίδια άλλων ενζύμων, όπως της γλουταρεδοξίνης-5 (GLRX5), των πρωτεϊνών της μιτοχονδριακής μεμβράνης, που εμπλέκονται στη διακίνηση του σιδήρου SLC25A38, SLC19A2 και ABCB7, και (πιο πρόσφατα διαπιστωμένες) του μεταγραφικού παράγοντα GATA-1, στην περιοχή πρόσδεσης στο γονίδιο ALAS2. Οι μεταλλάξεις αυτές ερμηνεύουν την παθογένεια της νόσου, μέσω σταθερά αυξημένης έκ-

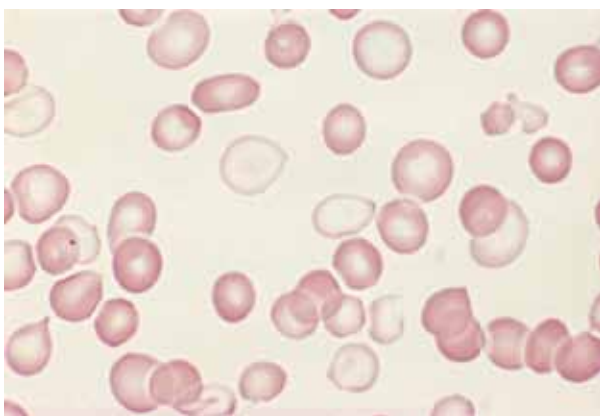
Καθηγητής Αιματολογίας Πανεπιστημίου Πατρών
Συγγραφέας υπεύθυνος για επικοινωνία: Αργύρης Συμεωνίδης, Αιματολογικό Τμήμα, Πανεπιστημιακή Παθολογική Κλινική, Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Πατρών, 265 04, Πάτρα, e-mail: argiris.symeonidis@yahoo.gr



Εικόνα 1. Αριστερά: χρώση Prussian blue στον μυελό ασθενούς με RARS και ανάδειξη των δακτυλοειδών σιδηροβλαστών, με περιπυρηνική κατανομή των κοκκίων σιδήρου στις θέσεις των μιτοχονδρίων. Δεξιά: εικόνα δακτυλοειδούς σιδηροβλάστη στη ηλεκτρονικό μικροσκόπιο, όπου αναδεικνύεται η εναπόθεση σιδήρου εντός των μιτοχονδρίων. (από την βιβλιοθήκη εικόνων της American Society of Hematology)

φρασης υποδοχέων τρανσφερίνης, αυξημένης πρόσληψης σιδήρου και συσσώρευσης αυτού στα μιτοχόνδρια.³ Ενίοτε οι συγγενείς μορφές αναγνωρίζονται όψιμα, και η διάγνωση τίθεται στην ενήλικη ζωή. Η επίκτητη μπορεί να είναι επαγόμενη από φάρμακα ή τοξικούς παράγοντες (ισονιαζίδη, αλκοόλη, βαρέα μέταλλα κλπ), ή συχνότερα πρωτοπαθές μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο (ΜΔΣ). Επειδή, τόσο η πρόγνωση, όσο και οι θεραπευτικές προσεγγίσεις διαφέρουν, είναι σημαντικό να διακρίνονται οι όψιμης έναρξης συγγενείς σιδηροβλαστικές αναιμίες, από την πρωτοπαθή επίκτητη.^{4,5}

Μορφολογικά, συνηθέστερα εμφανίζεται σαν υπόχρωμη μικροκυτταρική ή διμορφική αναιμία, με ένα πληθυσμό υπόχρωμων-μικροκυττάρων και έναν άλλο ορ-



Εικόνα 2. Επίχρισμα περιφερικού αίματος ασθενούς με RARS, όπου είναι σαφής η παρουσία διπλού πληθυσμού ερυθροκυττάρων (Nikhil Sangle: Refractory anemia with ringed sideroblasts, PathologyOutlines.com, 2011).

θόχρωμων μακροκυττάρων (Εικόνα 2). Στον εργαστηριακό έλεγχο διαπιστώνονται αυξημένα επίπεδα σιδήρου, αυξημένος κορεσμός τρανσφερίνης ορού και υπερπλαστική ερυθρά σειρά στον μυελό, με 15-100% δακτυλοειδείς σιδηροβλάστες. Σιδηροκινητικές μελέτες δείχνουν ταχεία απομάκρυνση του σιδήρου από την κυκλοφορία αλλά ανεπαρκή ενσωμάτωσή του στους ερυθροβλάστες. Η τελική μεταβολική διαταραχή είναι ανεπαρκής σύνθεση αίμης, με αποτέλεσμα δημιουργία υπόχρωμων μικροκυττάρων (κυρίως στις συγγενείς μορφές) ή απόπτωση του ερυθροβλάστη. Από μεταβολική άποψη στην επίκτητη παρατηρείται ελάττωση της δραστηριότητας της ALAS2, αλλά και αρκετών άλλων μιτοχονδριακών ενζύμων στους ερυθροβλάστες και τα κοκκιοκύτταρα των ασθενών.⁶ Αμιγής ελάττωση της ALAS2 παρατηρείται στους ασθενείς με σιδηροβλαστική αναιμία, ευαίσθητη στην πυριδοξίνη.

Ιδιαίτερη μορφή με μεικτά κλινικά και αιματολογικά χαρακτηριστικά αποτελεί η μεταβολικά-επαγόμενη σιδηροβλαστική αναιμία. Προκαλείται μετά από «έκθεση» σε αιθανόλη, βαρέα μέταλλα και ορισμένα φάρμακα, αλλά και από διατροφική ανεπάρκεια χαλκού. Η παρατεταμένη κατανάλωση μεγάλης ποσότητας αιθανόλης προκαλεί αναιμία σύνθετης αιτιολογίας, αναστέλλοντας τη σύνθεση της αίμης και ελατώνοντας τον σχηματισμό BFU-E. Σχηματισμός δακτυλοειδών σιδηροβλαστών παρατηρείται στο 30-40% των περιπτώσεων, ιδιαίτερα όταν συνυπάρχει ανεπαρκής σίτιση και έλλειψη φυλικού. Στο περιφερικό αίμα παρατηρείται διπλός ερυθροκυτταρικός πληθυσμός και συχνά σιδηροκύτταρα. Χαρακτηριστικό εύρημα στον μυελό είναι η παρουσία προερυθροβλαστών με κενοτόπια.⁷ Εκτός της αιθανόλης μπορεί να εμφανιστεί μετά από λήψη ισονιαζίδης, χλωραμφαινικόλης, πυραζιναμίδης, πενικιλλαμίνης, βουσουλαφάνης, μελφα-

λάνης και τελευταία και λινεζολίδης, η οποία έχει τοξική επίδραση στη μιτοχονδριακή πρωτεϊνοσύνθεση.⁸ Αυτή η αναιμία είναι πλήρως αναστρέψιμη με την απομάκρυνση του βλαπτικού παράγοντα.

Μια άλλη ιδιαίτερη μορφή σιδηροβλαστικής αναιμίας προκαλείται από ανεπάρκεια χαλκού. Παρατηρείται επί παρατεταμένης παρεντερικής διατροφής, χωρίς αναπλήρωση του ιχνοστοιχείου, αλλά και μετά από εντερεκτομή, επί συνδρόμου δυσασπορρόφησης και επί παρατεταμένης «τοξικής» επίδρασης ψευδαργύρου, που ανταγωνίζεται την απορρόφηση του χαλκού. Η αναιμία αυτή είναι μακροκυτταρική, μπορεί να είναι σοβαρή και ενδεχομένως συνοδεύεται και από άλλες κυτταροπενίες, ώστε το σύνδρομο προσομοιάζει αρκετά με αληθινή κλωνική διαταραχή, δηλαδή μυελοδυσπλασία, αλλά συχνά συνοδεύεται και από ποικίλες νευρολογικές εκδηλώσεις, ενίοτε σοβαρές. Η ανεύρεση χαμηλών επιπέδων χαλκού και σε-ρουλοπλασμίνης στον ορό επιβεβαιώνουν τη διάγνωση.⁹

Επιδημιολογία και ταξινόμηση της επίκτητης σιδηροβλαστικής αναιμίας

Η επίκτητη ιδιοπαθής ανθεκτική σιδηροβλαστική αναιμία (RARS) υποταξινόμείται σε τρεις επί μέρους νοσολογικές οντότητες, την πρωτοπαθή αμιγή σιδηροβλαστική αναιμία (PSA), που εμφανίζει ευρήματα μόνο δυσερυθροποίησης, την πρωτοπαθή ανθεκτική σιδηροβλαστική αναιμία με πολυγραμμική δυσπλασία (RARS-MD), που παρουσιάζει δυσπλαστικές μορφολογικές αλλοιώσεις και από άλλες σειρές εκτός της ερυθροποιητικής και την πρωτοπαθή σιδηροβλαστική αναιμία με θρομβοκυττάρωση (RARS-T), που στην ταξινόμηση WHO-2008 εντάσσεται στα υβριδικά Μυελοδυσπλαστικά/Μυελού-περπλαστικά σύνδρομα. Η διάκριση ανάμεσα στις τρεις νοσολογικές οντότητες γίνεται με λεπτομερή μορφολογική αξιολόγηση του περιφερικού αίματος και του μυελού. Για την εκτίμηση της μονογραμμικής ή πολυγραμμικής δυσπλασίας πρέπει να αξιολογούνται τουλάχιστον 200 ώρα, ενδιάμεσα και ώριμα κοκκιοκύτταρα του μυελού και τουλάχιστον 25 μεγακαρυοκύτταρα. Η παρουσία δυσκοκκιοποίησης ορίζεται όταν >10% των αξιολογούμενων κοκκιοκυττάρων παρουσιάζουν δυσπλαστική μορφολογία, και η παρουσία δυσμεγακαρυοποίησης, όταν τουλάχιστον 10 από τα 25 αξιολογούμενα μεγακαρυοκύτταρα έχουν μορφολογική δυσπλασία. Στην αναδρομική μελέτη του Düsseldorf, που αρχικά προτάθηκε η διάκριση ανάμεσα σε PSA και RARS-MD, η PSA συνιστούσε το 38% των περιπτώσεων, υπήρχε παρόμοια κατανομή φύλου και ηλικίας, αλλά πολυμορφοπύρνα με ελαττωματική κοκκίωση και τύπου Pelger, θρομβοπενία και κυκλοφορία ενδιάμεσων και αώρων κοκκιοκυττάρων (βλαστών) στο περιφερικό αίμα παρατηρήθηκε μόνον σε ασθενείς με RARS-MD. Χρωμοσωματικές ανωμαλίες παρατηρή-

θηκαν στο 17% των ασθενών με PSA και ήσαν +8, -Y και del-5q, και στο 56% εκείνων με RARS, όπου υπήρχε όλο το φάσμα κυτταρογενετικών ανωμαλιών που παρατηρείται στα ΜΔΣ, περιλαμβανομένων διαταραχών του χρωμοσώματος 7 και σύνθετων ανωμαλιών. Εξέλιξη σε επιθετικότερο ΜΔΣ ή ΟΜΑ παρατηρήθηκε στο 8% των ασθενών με RARS-MD και σε κανένα ασθενή με PSA.¹⁰ Η πιθανότητα εκτροπής σε ΟΜΑ της RARS-MD είναι περίπου 10-15% σύμφωνα και με διάφορες άλλες δημοσιευμένες σειρές ασθενών.¹¹

Αιτιολογία και παθογένεια της επίκτητης σιδηροβλαστικής αναιμίας – I

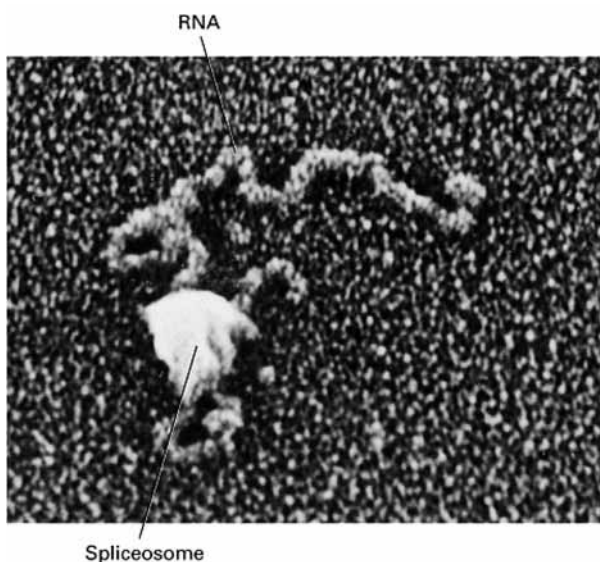
Διαταραχή μετάφρασης του RNA - πρωτεϊνοσύνθεσης

Η παθογένεια της επίκτητης μορφής αποσαφηνίστηκε τα τελευταία χρόνια. Διαταραχές στη λειτουργία της ALAS2 έχουν αναφερθεί και σε ασθενείς με RARS¹² αλλά επίκτητες μεταλλάξεις πολύ σπάνια έχουν βρεθεί. Τα ενδοκυττάρια επίπεδα της ALAS2 συχνά ευρίσκονται αυξημένα, αλλά πάντοτε τα επίπεδα της πρωτεΐνης ABCB7, που αποτελεί τον διάυλο εξόδου της περιστεϊας σιδήρου από το μιτοχόνδριο στο κυτταρόπλασμα, ευρίσκονται χαμηλά. Τα χαμηλά επίπεδα της ABCB7 είναι χαρακτηριστικό γνώρισμα της RARS/RCMD-RS, δεν ανευρίσκεται ποτέ σε φυσιολογικά άτομα, άλλα ΜΔΣ ή σε αναιμία άλλης αιτιολογίας και συσχετίζονται αντίστροφα με το ποσοστό των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών. Τα επίπεδα μάλιστα της ABCB7 ελαττώνονται προοδευτικά κατά την ωρίμανση των ερυθροποιητικών κυττάρων επί RARS, σε αντίθεση με ότι συμβαίνει στα φυσιολογικά αιμοποιητικά κύτταρα, όπου παρατηρείται συνεχής αύξηση των επιπέδων αυτών, προόδου της ωρίμανσης και διαφοροποίησης.¹³ Αποσιώπηση του ABCB7 γονιδίου σε φυσιολογικά ερυθροποιητικά κύτταρα, προκαλεί φαινότυπο χαμηλής κυτταρικής ανάπτυξης, ανεπαρκούς αιμοσφαιρινοποίησης, που δεν διορθώνεται με προσθήκη Fe, άθροισης σιδήρου στα μιτοχόνδρια και αυξημένου ρυθμού απόπτωσης. Σε αντίθεση με τη φυλοσύνδετη σιδηροβλαστική αναιμία με αταξία (XLSA/A), επί RARS δεν έχουν διαπιστωθεί μεταλλάξεις της ABCB7 πρωτεΐνης, ούτε υπερμεθυλίωση του υποκινητή του γονιδίου της, κάτι που υποδηλώνει την ύπαρξη ενός trans-acting παράγοντα, που οδηγεί σε τροποποίηση της γονιδιακής έκφρασης. Σαν τέτοιος παράγων αρχικά πιθανολογήθηκε η αυξημένη έκφραση των γονιδίων ELP2 και RTF1, που πιθανώς ασκούν μετα-μεταγραφική συρρίκνωση του mRNA της ABCB7.¹⁴

Το ερώτημα ωστόσο απαντήθηκε λίγο αργότερα, με τη διαπίστωση, στη μεγάλη πλειονότητα των ασθενών, μεταλλάξεων των δομικών πρωτεϊνών του σωμα-

τίου κατάτμησης-συναρμολόγησης του πρώιμου RNA (spliceosome). Το spliceosome είναι ένα πολυριβονουκλεοπρωτεϊνικό σύμπλεγμα, που δραστηριοποιείται πλησίον των ριβοσωμάτων και αναγνωρίζει τις μη κωδικοποιούσες παρεμβالόμενες αλληλουχίες (introns) των πρωτογενών μηνυμάτων, τις οποίες αποκόπτει με δράση RN-άσης και επανασυνδέει τα δύο άκρα του RNA, οδηγώντας το mRNA να λάβει την τελική μεταφράσιμη αλληλουχία και δομή, με την οποία και «παραδίδεται» στο ριβόσωμα (Εικόνα 3). Το spliceosome αποτελείται από 6 υπομονάδες τις U1 – U6. Ένα βασικό τμήμα του είναι το σύμπλεγμα U2snRNP, του οποίου δομικό/λειτουργικό συστατικό είναι η πρωτεΐνη SF3B1 (*Splicing Factor 3B subunit 1*).

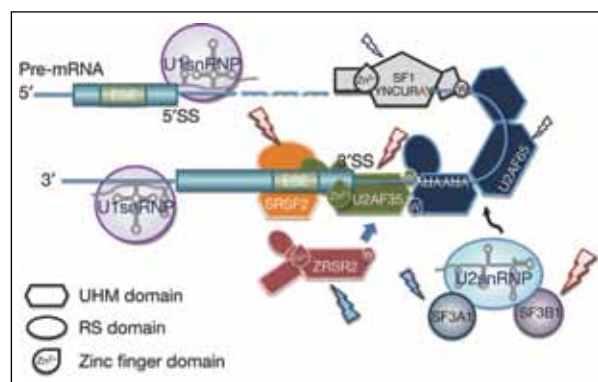
Το 2011 δύο ανεξάρτητες ερευνητικές ομάδες, με πρώτους συγγραφείς την Έλλη Παπαεμμανουήλ και τον Kenishi Yoshida, πραγματοποιώντας αλληλούχιση ολικού γονιδιώματος σε γενετικό υλικό 9 και 29 ασθενών με ΜΔΣ, διαπίστωσαν μεταλλάξεις των γονιδίων που κωδικοποιούσαν πρωτεΐνες του spliceosome, σε μεγάλο ποσοστό των ασθενών αυτών, κυρίως χαμηλού κινδύνου και πολύ συχνότερα με RARS. Επιβεβαιωτική στόχευση των γονιδίων αυτών σε >2000 ασθενείς με διάφορες νεοπλασίες επιβεβαίωσε την πολύ υψηλή συχνότητα μεταλλάξεων (~80%) επί RARS και RARS-T. Φαίνεται λοιπόν ότι οι μεταλλάξεις των δομικών πρωτεϊνών του spliceosome, κυρίως της SF3B1 αλλά και των SFRS2, ZRSR2, U2AF1 και U2AF35, ήδη από το επίπεδο του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου, δημιουργούν προϋποθέσεις ανάπτυξης ΜΔΣ, και μάλιστα τύπου RARS (Εικόνα 4). Οι μετα-



Εικόνα 3. Φωτογραφία με ηλεκτρονικό μικροσκόπιο του σωματίου κατάτμησης-συναρμολόγησης του πρώιμου mRNA σε λειτουργία (MCB 201 Gene Expression Lecture 23, Chapter 12, Post-transcriptional gene control and nuclear transport, Spring Semester 2005).

λλάξεις των γονιδίων SF3B1 και SRSF2 είναι επαναλαμβανόμενες σημειακές και όχι τυχαίες, εύρημα δηλωτικό επικράτησης του μεταλλαγμένου γονιδίου. Αντίθετα οι μεταλλάξεις των ZRSR2 και PRPF40B είναι χωρίς νόημα (missence/nonsense) και οδηγούν σε απώλεια της λειτουργίας της πρωτεΐνης. Μεταλλάξεις άλλων πρωτεϊνών της SF3B υπομονάδος δεν έχουν βρεθεί επί RARS ή άλλου ΜΔΣ.^{15,16} Οι μεταλλάξεις αυτές, που δεν έχουν ανιχνευτεί σε κανένα τύπο συγγενούς σιδηροβλαστικής αναιμίας, τροποποιούν τη δομή και αναστέλλουν τη λειτουργία του spliceosome, με συνέπεια πλημμελή μετάφραση και επαγωγή φαινοτύπου διαταραχής της διαφοροποίησης και προαγωγής της απόπτωσης. Πράγματι, βρέθηκε ότι σημαντικά γονίδια, που εμπλέκονται στην παθοφυσιολογία των ΜΔΣ, και μάλιστα στη διαμόρφωση επιθετικού φαινοτύπου, όπως τα *ASXL1*, *CBL*, *EZH1* και *RUNX3*, μολονότι δεν είναι μεταλλαγμένα, το mRNA τους υφίσταται ελαττωματικό splicing τουλάχιστον σε ένα εξόνιο, σαν αποτέλεσμα της SF3B1 μετάλλαξης/δυσλειτουργίας του spliceosome.¹⁷ Συνεπώς η κύρια διαφορά μεταξύ συγγενούς και επίκτητης σιδηροβλαστικής αναιμίας είναι ότι στην πρώτη μεταλλάσσονται γονίδια που εμπλέκονται στη μιτοχondριακή διακίνηση του σιδήρου, ενώ στη δεύτερη πολλά γονίδια μεταφράζονται πλημμελώς, λόγω μεταλλάξεων των γονιδίων που κωδικοποιούν τις πρωτεΐνες του spliceosome.¹⁸

Τα χαμηλά επίπεδα της ABCB7 πρωτεΐνης, οδηγούν σε συσσώρευση ενδομιτοχondριακού σιδήρου και δημιουργία δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών, αλλά και σε αντιδραστική επαγωγή της έκφρασης τόσο του ABCB7



Εικόνα 4. Σχηματική παράσταση των δομικών συστατικών του συμπλέγματος κατάτμησης-συναρμολόγησης του πρώιμου mRNA, που υφίστανται μεταλλάξεις επί ΜΔΣ. Η διαδικασία ωρίμανσης του mRNA ξεκινά με την πρόσδεση της U1 snRNP στο 5' άκρο του πρώιμου mRNA. Ακολούθως η SF1 και η μεγαλύτερη υπομονάδα U2AF65 του υποβοηθητικού παράγοντα U2 στο σημείο έναρξης της αλληλουχίας κατάτμησης (BPS). Προσομοίωση της όλης διαδικασίας παρέχεται στην ιστοσελίδα <https://www.dnalc.org/resources/3d/rna-splicing.html>

γονιδίου, όσο και άλλων γονιδίων πρωτεϊνών μεταφοράς του σιδήρου στον ενδομιτοχονδριακό χώρο, όπως τα SLC25A37 και SLC25A38.¹⁹ Είναι ενδιαφέρον ότι καταστολή της έκφρασης της ABCB7 σε CD34+ κύτταρα μυελού πειραματοζώων προκαλεί αναστολή ανάπτυξης και διαφοροποίησης της ερυθράς σειράς και οδηγεί σε άθροιση μιτοχονδριακής φερριτίνης και σε προφίλ γονιδιακής έκφρασης παρόμοιο με αυτό που ανευρίσκεται στους ερυθροβλάστες της RARS. Επανάκφραση της ABCB7 αποκαθιστά φυσιολογικό μοντέλο αύξησης και ανάπτυξης. Επιπλέον, στην κυτταρική σειρά K562 αποσιώπηση του γονιδίου SF3B1 οδηγεί σε ελάττωση των ενδοκυττάρων συγκεντρώσεων της ABCB7 και σε αναστολή της ερυθροκυτταρικής διαφοροποίησης.²⁰

Οι μεταλλάξεις της SF3B1 προδικάζουν σε βαθμό στατιστικά πολύ σημαντικό τη διαμόρφωση δυσπλαστικού φαινοτύπου και την παρουσία δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών, παραμένουν σε όλη την εξελικτική πορεία του συνδρόμου²¹, και συνδέονται με καλή πρόγνωση, ενώ ανευρίσκονται πολύ σπανιότερα σε ασθενείς με άλλα ΜΔΣ ή άλλες αιματολογικές νεοπλασίες,^{17,22} ώστε να διαμορφώνονται τάσεις καθιέρωσής τους σαν διαγνωστικό κριτήριο για την RARS.²³ Υπάρχουν ωστόσο και μελέτες που δεν ανέδειξαν προγνωστική σημασία στις μεταλλάξεις της SF3B1.^{24,25}

Η ανεπαρκής μετάφραση του mRNA, όπως αναμένεται, επηρεάζει και τον κύριο βιολογικό ρόλο των ερυθροποιητικών κυττάρων, δηλαδή την αιμοσφαιρινοποίηση, και συμβάλλει στη δημιουργία της αναιμίας. Τα προγονικά CD34+ και τα πρόδρομα ερυθροποιητικά (CD71+) κύτταρα του μυελού ασθενών με RARS παρουσιάζουν (αντιρροπιστικά) αύξηση του ρυθμού μεταγραφής πολλών γονιδίων, που εμπλέκονται στην αιμοσφαιρινοποίηση και την οξειδωτική φωσφορυλίωση, παράλληλα με την ελάττωση των επιπέδων των μιτοχονδριακών μεμβρανικών μεταφορέων ABC, που ήδη αναφέρθηκε. Επιπλέον, λόγω δυσλειτουργίας του spliceosome στους ερυθροβλάστες της RARS, πολλά mRNAs γονιδίων που εμπλέκονται στην αιμοσφαιρινοποίηση υφίστανται παθολογική/ανεπαρκή κατάπτωση των μη μεταφραζόμενων αλληλουχιών, εύρημα που επιβεβαιώνει τη διαταραγμένη ερυθροποιητική διαφοροποίηση/αιμοσφαιρινοποίηση. Έτσι ο SF3B1+ κλώνος επικρατεί σε όλα τα στάδια ερυθροβλαστικής ωρίμανσης αλλά η τελική ωρίμανση προς δικτυοερυθροκύτταρα είναι σημαντικά ελαττωμένη.²⁶

Αιτιολογία και παθογένεια της επίκτητης σιδηροβλαστικής αναιμίας – II

Άλλοι παράγοντες που συμβάλλουν στην παθογένεια

Υπερφόρτωση σιδήρου προκαλείται στη RARS λό-

γω της μη αποδοτικής ερυθροποίησης, σαν συνέπεια αυξημένης εντερικής απορρόφησης σιδήρου, από χαμηλή εμψιδίνη.^{33,34} Πρόσφατα βρέθηκε ένας ακόμα ρυθμιστής της εντερικής απορρόφησης του σιδήρου, που παράγεται στον μυελό των οστών, η ερυθροφερρόνη.³⁵ Η κύρια αιτία υπερφόρτωσης σιδήρου ωστόσο είναι οι μεταγίσεις ερυθροκυττάρων. Κάθε ασκός μεταγγιζόμενου αίματος προσθέτει 200-250 mg σιδήρου στον οργανισμό. Το υψηλό φορτίο ιστικού σιδήρου οδηγεί σε αυξημένη νοσηρότητα και επηρεάζει αρνητικά την επιβίωση, συνέπειες που μπορούν να βελτιωθούν σημαντικά με την εφαρμογή αποτελεσματικής αποσιδήρωσης.³⁶ Η θεραπεία αποσιδήρωσης, και μάλιστα με τα νεότερα φάρμακα, μειώνει ταχέως τις δραστικές μορφές σιδήρου NTBI και LPI στον ορό, ενώ ο ιστικά εναποτεθειμένος σίδηρος ελαττώνεται βραδύτερα.

Ανάλυση του προφίλ γονιδιακής έκφρασης προγονικών ερυθροποιητικών κυττάρων ασθενών με RARS έδειξε ότι το γονίδιο με τη μεγαλύτερη διαφορά έκφρασης, σε σύγκριση με φυσιολογικά άτομα ήταν ο παράγων αύξησης και διαφοροποίησης-15 (GDF-15), που ανήκει στην υπερικογένεια του TGF. Ο GDF-15 παράγεται αποκλειστικά και μόνο από ερυθροποιητικά κύτταρα και είναι αυξημένος στον ορό των ασθενών με RARS, μικρότερη αύξηση παρουσιάζει σε άλλα MDS, στερητικές αναιμίες και β-θαλασσαιμία, ενώ είναι ελαττωμένος στις αιμολυτικές αναιμίες. Στους σιδηροβλάστες της RARS ο GDF-15 βρέθηκε περίπου 50 φορές υψηλότερος, σε σχέση με φυσιολογικούς ερυθροβλάστες, όπου μόνον ίχνη του ανευρίσκονται. Η αύξηση των επιπέδων του GDF-15 ήταν πολύ μικρότερη σε κύτταρα ασθενών με άλλες αναιμίες που χαρακτηρίζονται από μη αποδοτική αιμοποίηση (θαλασσαιμία, μεγαλοβλαστική αναιμία, ΜΔΣ-RA, RAEB). Ελάττωση της παραγωγής GDF-15 οδηγεί σε αναστολή διαφοροποίησης και εξέλιξης του κυτταρικού κύκλου μόνο στην ερυθρά σειρά. Ο ακριβής βιολογικός ρόλος του GDF-15 ακόμα διερευνάται, αλλά αποτελεί ένα δείκτη βαρύτητας της μη αποδοτικής ερυθροποίησης.³⁷

Ένας άλλος τομέας που έχει τελευταία διερευνηθεί, σε σχέση με την παθογένεια της RARS είναι η αυτοφαγία. Πρόκειται για κυτταρική καταβολική λειτουργία που διασπά άχρηστο, περισσεύον, δυσλειτουργικό ή επιβλαβές κυτταρικό περιεχόμενο, περιβάλλοντάς το με δομή μεμβράνης, και οδηγώντας το σε σύντηξη με λυσοσώματα. Η διαδικασία ξεκινάει με τη δημιουργία του πρωτεϊνικού συμπλόκου Atg1-Atg13 που ενεργοποιείται επί απουσίας διέγερσης της κινάσης σερίνης-θρεονίνης mTOR. Η αυτοφαγία των μιτοχονδρίων έχει ονομαστεί μιτοφαγία. Από το 1963 είχαν διαπιστωθεί αυτοφαγισώματα με μιτοχόνδρια (μιτοφαγισώματα) σε ανθρώπινα δικτυοερυθροκύτταρα, για τα οποία η μιτοφαγία αποτελεί βασική διεγερσία ολοκλήρωσης της ωρίμανσής τους, όταν συμπληρωθεί η πρωτεϊνοσύνθεση της αιμοσφαιρίνης τους.³⁸

Knock-out ποντίκια για το γονίδιο Atg7, στα οποία ούτω-πώς αναστέλλεται η αυτοφαγία/μιτοφαγία, αναπτύσσουν αναιμία, λεμφοπενία και άτυπη λεμφοϋπερπλασία και πεθαίνουν με ιστικές διηθήσεις μυελοβλαστών και ενδιάμεσων μυελικών κυττάρων, όπως παρατηρείται στην ανθρώπινη μυελομονοκυτταρική λευχαιμία. Στα ποντίκια αυτά τα ερυθροποιητικά τους κύτταρα εμφανίζουν υψηλό βαθμό απόπτωσης.³⁹ Οι μορφολογικές ανωμαλίες των μιτοχονδρίων στα ερυθροποιητικά κύτταρα των ασθενών με ΜΔΣ, μπορεί να είναι αποτέλεσμα της συσσώρευσης σιδήρου και της αυξημένης παραγωγής ROS, αλλά μπορεί να συνεισφέρει και η ανεπαρκής μιτοφαγία. Τα ερυθροποιητικά κύτταρα των ασθενών με χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ περιέχουν αυξημένο αριθμό μιτοφαγοσωμάτων.⁴⁰ Αυτό μπορεί να συνιστά προσπάθεια απομάκρυνσης δυσλειτουργικών, υπερσιδηρωμένων μιτοχονδρίων, μπορεί όμως να υποδηλώνει και αδυναμία ολοκλήρωσης/αναστολής της μιτοφαγίας, με συνέπεια ενδοκυττάρια παραμονή τους, περαιτέρω αύξηση του οξειδωτικού stress, απελευθέρωση κυτοχρώματος-C και προαγωγή της απόπτωσης, αλλά και αύξηση των πιθανοτήτων πρόκλησης γενετικών βλαβών. Η ανεύρεση υψηλών ποσοτήτων mitDNA στο πρωτόπλασμα των λευχαιμικών κυττάρων, πιθανώς είναι επίσης αποτέλεσμα διαταραχών μιτοφαγίας. Έχει ωστόσο εκφραστεί και η αντίθετη άποψη. Ότι δηλαδή η διαταραχή της αυτοφαγίας/μιτοφαγίας είναι αντιδραστικό/αμυντικό φαινόμενο, που προστατεύει το κύτταρο από τη λύση παθολογικών-υπερφορτωμένων με σίδηρο και ROS μιτοχονδρίων, ώστε να υποστεί απόπτωση με άλλο μηχανισμό και να μην απελευθερωθούν παράγοντες που προάγουν τη γενωμική αστάθεια και ευοδώνουν την εξέλιξη σε ΟΜΑ. Μέχρι τώρα δεν έχει διαπιστωθεί διαταραχή της έκφρασης των γονιδίων της αυτοφαγίας στα προγονικά αιμοποιητικά κύτταρα των ασθενών με ΜΔΣ, ούτε είναι γνωστό εάν υπάρχει επιγενετική αποσιώπηση ή μετα-μεταγραφική ρύθμιση.⁴¹

Η απόπτωση αποτελεί χαρακτηριστικό γνώρισμα των ασθενών με RARS και η διαπιστούμενη μορφολογικά υπερπλασία της ερυθράς σειράς στον μυελό των οστών είναι ψευδεπίγραφη, αφού μεγάλο ποσοστό των ερυθροποιητικών κυττάρων ευρίσκεται σε αποπτωτική διαδικασία και ουδέποτε θα ωριμάσει για να σχηματίσει ερυθροκύτταρα. Η βαρύτητα της απόπτωσης/μη αποδοτικής ερυθροποίησης, που στην RARS επισυμβαίνει κυρίως στους ώριμους ερυθροβλάστες⁴², αντικατοπτρίζεται όπως και στη μεγαλοβλαστική αναιμία με δείκτες αιμόλυσης (αυξημένη έμμεση χολερυθρίνη, LDH). Απώλεια μικρών ποσών κυτοχρώματος-C έχει διαπιστωθεί σαν σταθερό εύρημα επί RARS, σε αντίθεση με άλλες κατηγορίες χαμηλού κινδύνου MDS (Del-5q, RA, RCMD) με αυξημένο βαθμό απόπτωσης/μη αποδοτικής ερυθροποίησης, υποδηλώνοντας όχι μόνον διαφορετικούς μηχανισμούς επαγωγής απόπτωσης στις διάφορες κατηγορίες ΜΔΣ,

αλλά και τον κυρίαρχο ρόλο της διαταραχής της δομής και της λειτουργίας των μιτοχονδρίων επί RARS. Υπάρχει μάλιστα γραμμική σχέση των κυτταροπλασματικών συγκεντρώσεων κυτοχρώματος-C και MitF. Επομένως με τον μηχανισμό αυτό, ο σίδηρος καθίσταται σημαντικός πρωταγωνιστής στην παθογένεια της μη αποδοτικής ερυθροποίησης στους ασθενείς με RARS.

Ο G-CSF δρά ανασταλτικά στην απελευθέρωση κυτοχρώματος-C, την ενεργοποίηση των αντιαποπτωτικών πρωτεϊνών και τη μετακίνηση των Bax και Bid από το κυτταρόπλασμα στα μιτοχόνδρια⁴³, και αυτό σε κάποιες περιπτώσεις συνοδεύεται από βελτίωση της ανταπόκρισης στη θεραπεία με ερυθροποιητικούς παράγοντες, αιτιολογώντας κάποιου βαθμού συνεργική δράση.

Μιτοχονδριακός σίδηρος και δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες

Ίσως η κυριότερη ενδοκυττάρια εντόπιση και οι σημαντικότερες λειτουργίες στις οποίες παρεμβαίνει σίδηρος αφορούν τα μιτοχόνδρια. Εκεί συμμετέχει στη μεταφορά ηλεκτρονίων της αναπνευστικής αλυσίδας, που πραγματοποιείται στην εσωτερική μιτοχονδριακή μεμβράνη, με τον σχηματισμό συμπλεγμάτων Fe^{++} -S επί διαφόρων οξειδοαναγωγικών ενζύμων, όπως οι μεταλλοπρωτεΐνες και οι αναγωγάσες/αφυδρογονάσες. Ο σίδηρος εναποτίθεται στα μιτοχόνδρια με μορφή φερριτίνης. Υπάρχει μάλιστα μια ειδική μιτοχονδριακή φερριτίνη (MitF), που είναι πλουσιότερη σε Η υπομονάδες (>50% σε σχέση με περίπου 25% της κλασσικής φερριτίνης). Οι Η-υπομονάδες διαθέτουν ικανότητα οξειδωσής του Fe^{++} σε Fe^{+++} και επομένως ο σίδηρος προσλαμβάνεται ευκολότερα και διατηρείται σε λιγότερο δραστική μορφή. Η MitF συντίθεται από ιδιαίτερο γονίδιο, και το mRNA της δεν διαθέτει introns ούτε περιοχές πρόσβασης (Iron responsive elements) των ρυθμιστικών πρωτεϊνών μετάφρασής του (Iron regulatory proteins).²⁷ Οι ασθενείς με σιδηροβλαστική αναιμία συγγενή ή επίκτητη, παρουσιάζουν αυξημένα επίπεδα MitF στο πρωτόπλασμα τους, ήδη από τα πρόδρομα ερυθροποιητικά κύτταρα, σε αντίθεση με τους ασθενείς με άλλες αναιμίες.²⁸ Έτσι τα κοκκία στη χρώση σιδήρου των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών παριστούν ενδομιτοχονδριακές συσσωρεύσεις MitF.

Η συσσώρευση σιδήρου προκαλεί διαταραχή των μιτοχονδριακών λειτουργιών, επαγωγή αυξημένου οξειδωτικού stress και βλάβη της εσωτερικής μεμβράνης. Οι αυξημένες συγκεντρώσεις σιδήρου οδηγούν σε αυξημένη παραγωγή δραστικών μορφών οξυγόνου (Reactive Oxygen Species – ROS), μέσω των οξειδοαναγωγικών ενζύμων NADH και NADPH. Αυτό προκαλεί απελευθέρωση κυτοχρώματος-C προς το κυτταρόπλασμα, γεγονός που οδηγεί σε άμεση ενεργοποίηση της κασπάσης-9, και εφ'εξής της εκτελεστικής κασπάσης-3, και ωθεί το κύτ-

ταρο σε αποπτωτικό θάνατο. Σαν συνοδά ευρήματα της προαποπτωτικής αυτής κατάστασης έχουν βρεθεί απώλεια ηλεκτρικού δυναμικού της μιτοχονδριακής μεμβράνης και ενεργοποίηση των πρωτεϊνών Bax και Bid.²⁹ Τα αυξημένα επίπεδα ROS δεν διαταράσσουν μόνο τον μιτοχονδριακό μεταβολισμό αλλά έχουν και άλλες σημαντικές συνέπειες: τροποποιούν την κυτταρική κινητικότητα, επηρεάζουν τα σηματοδοτικά μονοπάτια των αυξητικών παραγόντων, προκαλούν υπεροξειδωση των λιπιδίων της μεμβράνης, αναστέλλουν τις ρυθμιστικές πρωτεΐνες του κυτταρικού κύκλου p21 και p27, και προκαλούν μεταλλάξεις του σωματικού και του μιτοχονδριακού DNA, ευνοώντας (κυρίως οι ελεύθερες ρίζες OH[•]) τα θραύσματα διπλής έλικας του DNA, που επιδιορθώνονται δυσκολότερα. Οι δευτερογενείς αυτές μεταλλάξεις επηρεάζουν ακόμα περισσότερο τη μιτοχονδριακή λειτουργία, και κυρίως τη βιοσύνθεση της αίμης, ακόμα και αν δεν αφορούν ένζυμα της αναπνευστικής αλυσίδας, με μεγαλύτερες συνέπειες στην ερυθροποίηση, και ελάχιστα ή καθόλου στην υπόλοιπη αιμοποίηση. Επομένως τέτοιες βλάβες, ακόμα και στο επίπεδο του πολυδύναμου αιμοποιητικού κυττάρου, θα δημιουργήσουν κλώνο με κυρίως ή αποκλειστικά διαταραγμένη ερυθροποίηση, δηλαδή θα δημιουργήσουν αμιγή σιδηροβλαστική αναιμία. Αν όμως οι διαταραχές της μιτοχονδριακής λειτουργίας περιλαμβάνουν και την αναπνευστική αλυσίδα, οι συνέπειές τους θα αφορούν όλες τις αιμοποιητικές σειρές και θα δημιουργήσουν πολυγραμμικό ΜΔΣ, δηλαδή RARS ή RCMD-RS. Επιπρόσθετες βλάβες και πρόκληση γενωμικής αστάθειας μπορεί να διαταράξουν λειτουργίες διαφοροποίησης και να οδηγήσουν σε OMA. Επιπλέον, τα αυξημένα επίπεδα ROS αναστέλλουν αρκετές φωσφατάσες, περιλαμβανομένης της ογκοκατασταλτικής PTEN, και από μόνα τους εγκαθιστούν νεοπλασματικό φαινότυπο, προκαλώντας γενωμική αστάθεια και στα στρωματικά κύτταρα του μυελού.³⁰ Συνεπώς αρκετά μιτοχονδριακά γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες μεταφοράς ηλεκτρονίων στη αναπνευστική αλυσίδα έχουν χαρακτηριστεί ογκοκατασταλτικά, λόγω των ογκογενετικών συνεπειών της απώλειας της λειτουργίας τους, από τα κατεστραμμένα μιτοχόνδρια, είτε λόγω σημειακών μεταλλάξεων που παρατηρούνται σπανιότερα. Η σημασία ωστόσο και η συχνότητα των μεταλλάξεων του μιτοχονδριακού DNA για την παθογένεια των ΜΔΣ και της RARS ειδικότερα δεν είναι σαφής.^{31,32}

Στο φυσιολογικό πολυδύναμο αιμοποιητικό κύτταρο τα επίπεδα ROS του μυελικού μικροπεριβάλλοντος επηρεάζουν τη μετανάστευση και το homing των αιμοποιητικών κυττάρων στις αιμοποιητικές φωλεές, μέσω έκφρασης VCAM-1 από τα ενδοθηλιακά κύτταρα και τη μετάβαση από την G0 στην G1 φάση. Έτσι οι αιμοποιητικές φωλεές εντοπίζονται στις πλέον υποξικές περιοχές του μυελού και τα αρχέγονα κύτταρα προσαρμολύουν τις λειτουργίες τους, αναλόγως των συγκεντρώσεων των ROS.

Αυξημένα επίπεδα ROS έχουν βρεθεί σε πολλές πα-

θολογικές καταστάσεις, κυρίως σε πάσης φύσεως νεοπλασματικά νοσήματα του αιμοποιητικού ιστού όπως η OLL, η OMA και η XMA αλλά και σε επιθηλιακής αρχής νεοπλασίες. Αυξημένο οξειδωτικό stress και οξειδωμένες βάσεις πουρίνης και πυριμιδίνης του DNA των CD34+ κυττάρων έχει επανειλημμένα διαπιστωθεί στα ΜΔΣ, πολύ συχνότερα από φυσιολογικά κύτταρα.

Κλινικές εκδηλώσεις και φυσική πορεία της νόσου

Οι ασθενείς με φαρμακοεπαγόμενη σιδηροβλαστική αναιμία αποκαθίστανται πλήρως με τη διακοπή του υπευθύνου φαρμάκου, συνεπώς για τις περιπτώσεις αυτές είναι αρκετό να τεθεί κλινική υποψία για το σύνδρομο. Μέχρι να τεθεί υποψία εμφανίζεται μέτριας έως σοβαρής βαρύτητας αναιμία, που μπορεί να απαιτεί πρόγραμμα μεταγγίσεων για τη σταθεροποίησή της. Εξ άλλου επειδή αρκετοί ασθενείς με συγγενή σιδηροβλαστική αναιμία διαγιγνώσκονται στην ενήλικη ζωή, και ανταποκρίνονται πολύ καλά στην πυριδοξίνη, θα πρέπει πάντοτε να τίθεται κλινική υποψία για το σύνδρομο αυτό και να μην θεωρούνται αυτές οι περιπτώσεις RARS, όπως αρκετά συχνά γίνεται.

Η RARS αποτελεί ένα χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ, επομένως ισχύουν για αυτήν οι προγνωστικοί παράγοντες και τα αναγνωρισμένα προγνωστικά συστήματα των ΜΔΣ. Συνηθέστατα πρόκειται για de novo ΜΔΣ και εξαιρετικά σπάνια RARS εμφανίζεται μετά από προηγούμενα έκθεση σε μυελοτοξικούς παράγοντες. Για να οριστεί η νόσος ως RARS θα πρέπει το ποσοστό βλαστών του μυελού να είναι <5%, και χρειάζεται προσεκτική αξιολόγηση αυτού του ποσοστού, δεδομένου ότι δακτυλιοειδείς σιδηροβλάστες μπορεί να βρεθούν και σε άλλες αιματολογικές νεοπλασίες. Η βαρύτητα της αναιμίας συνήθως είναι μικρή ή μέτρια, αλλά στην πορεία επιδεινώνεται και οι ασθενείς αρχίζουν να μεταγγίζονται. Οι ασθενείς στη μεγάλη τους πλειονότητα έχουν φυσιολογικό αριθμό λευκών και απόλυτο αριθμό ουδετεροφίλων, φυσιολογικό ή ελαφρά αυξημένο αριθμό αιμοπεταλίων και φυσιολογικό καρυότυπο.

Οι συνηθέστερα διαπιστούμενες χρωμοσωμικές ανωμαλίες είναι del20q και trisωμία 8, ενώ σχεδόν ποτέ δεν ανευρίσκονται διαταραχές του χρωμοσώματος 7. Απώλεια των μακρών σκελών του χρωμοσώματος 5 έχει σπάνια αναφερθεί με παρουσία δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών. Ανευπλοειδικός καρυότυπος ευρίσκεται πολύ συχνότερα επί RCMD-RS. Δυσμενείς προγνωστικοί παράγοντες είναι αυτοί που ισχύουν για όλους τους ασθενείς με ΜΔΣ (μεγάλη ηλικία, κακή κατάσταση ικανότητας, ύπαρξη σοβαρών συνοδών νοσηρών καταστάσεων, πλήρης εξάρτηση από μεταγγίσεις από τη διάγνωση, πολλές ή σύνθετες χρωμοσωμικές ανωμαλίες). Επιπλέον, η παρουσία επιπρόσθετων κυτταροπενιών πέραν της αναιμίας, η ανεύρε-

ση παθολογικού καρυοτύπου εκτός των ανωμαλιών -Y, ή del11p, ή del20q, το IPSS>0, το WPSS>1, η πρωτοπαθής ή δευτεροπαθής σοβαρή υπερφόρτωση σιδήρου, η μη εμφάνιση ανταπόκρισης στη θεραπεία με ερυθροποιητικούς παράγοντες, τα υψηλά επίπεδα LDH ή β2-μικροσφαιρίνης ορού, οι μεταλλάξεις του p53 και των ras γονιδίων, και η υπερέκφραση γονιδίων που σχετίζονται με εκτροπή σε OMA (RUNX1, EZH1, EZH2, ASXL1 κ.λπ.) έχουν επίσης συνδεθεί με δυσμενή πρόγνωση, όπως σε όλες τις κατηγορίες ΜΔΣ. Το ποσοστό των δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών και η παρουσία θρομβοκυττάρωσης δεν φαίνονται να επηρεάζουν αρνητικά ή ευνοϊκά την πρόγνωση, ενώ όπως αναφέρθηκε η ανεύρεση μεταλλάξεων της SF3B1 έχει αδιάφορη έως ευνοϊκή πρόγνωση. Παρά την απουσία συνήθως ουδετεροπενίας ορισμένοι ασθενείς παρουσιάζουν μικρή-μέτρια υπο-γ-σφαιριναιμία και αυξημένη συχνότητα λοιμώξεων. Εξέλιξη προς OMA παρατηρείται σε ποσοστό 10-15% των ασθενών, σαφώς συχνότερα σε ασθενείς με πολυγραμμική δυσπλασία και άλλους επιβαρυντικούς παράγοντες.

Θεραπευτικές προσεγγίσεις

Οι ασθενείς με ανταποκρινόμενη στην πυριδοξίνη σιδηροβλαστική αναιμία, διορθώνουν μερικώς ή πλήρως την αναιμία τους, μετά από χορήγηση της βιταμίνης B6-συνεζύμου της ALAS2. Στις περιπτώσεις αυτές η πυριδοξίνη χορηγείται σε δόση 50-100 mg ημερησίως και η θεραπεία πρέπει να συνεχίζεται δια βίου.

Η πυριδοξίνη αν και χορηγείται συχνά, δεν βοηθάει στις περιπτώσεις επίκτητης σιδηροβλαστικής αναιμίας⁴⁴. Το αυτό ισχύει και για τη θεραπεία με φυλικό οξύ, το οποίο χορηγείται συχνά σε ασθενείς με μακροκυττάρωση, χωρίς να προκαλεί διόρθωση του αυξημένου MCV.

Η πλέον συχνά εφαρμοζόμενη θεραπευτική στρατηγική σε ασθενείς με συμπτωματική αναιμία είναι η χορήγηση ερυθροποιητικών παραγόντων (ESAs). Η συνιστώμενη δόση είναι 40000-80000 IU/ εβδομαδιαίως ερυθροποιητίνης ή 150-300 mg δαρβοεποιητίνης. Τα ποσοστά ανταπόκρισης κυμαίνονται από 15-40% σύμφωνα με διάφορες προοπτικές μελέτες. Παράγοντες που έχουν συνδεθεί με ευνοϊκή ανταπόκριση είναι η απουσία πλήρους εξάρτησης από μεταγγίσεις, χαμηλά επίπεδα ενδογενούς ερυθροποιητίνης (<500 ή <200 mIU/ml), χαμηλότερο WPSS και απουσία άλλων κυτταροπενιών και πολυγραμμικής δυσπλασίας. Οι ασθενείς που ανταποκρίνονται στους ESAs έχουν χαμηλότερο κίνδυνο εκτροπής σε OMA και μακρότερη συνολική επιβίωση σε σύγκριση με όσους δεν ανταποκρίνονται. Ένα ποσοστό ασθενών που δεν ανταποκρίνεται στους ESAs μπορεί να εμφανίσει ανταπόκριση στην προσθήκη μικρής δόσης G-CSF, κάτι που αποδίδεται στη συνεργική αντιαποπτωτική δράση του συνδυασμού, και κυρίως στη σταθεροποίηση του κυτοχρώματος-C στη

μιτοχονδριακή μεμβράνη και την αναστολή ενεργοποίησης των κασπασών. Η χορήγηση υψηλών δόσεων ESAs και χαμηλών δόσεων G-CSF σαν αρχική θεραπεία στους ασθενείς με RARS αυξάνει το ποσοστό ανταπόκρισης στο 40-70%, αλλά αυτό δεν έχει καθιερωθεί. Επί αποτυχίας ή απώλειας της ανταπόκρισης στους ESAs δεν υπάρχουν πολλές άλλες θεραπευτικές επιλογές.

Έχει προταθεί ότι η θεραπεία με αντιοξειδωτικούς παράγοντες ελαττώνει τον ρυθμό απόπτωσης των ερυθροβλαστών, μέσω ελάττωσης του οξειδωτικού stress, αλλά τα αποτελέσματα της θεραπείας με τέτοιους παράγοντες (ασκορβικό οξύ, βιταμίνη-A και καρτοτενοειδή, αμφοστίνη κλπ) δεν επιβεβαίωσαν τα προκλινικά δεδομένα. Ένα πιο πρόσφατα δοκιμασθέν φάρμακο, το ezatiostat έδειξε ενθαρρυντικά αποτελέσματα σε μελέτες φάσης II, και αναμένονται επιβεβαιωτικές μελέτες φάσης III.

Υπάρχει περιορισμένη εμπειρία, χωρίς ενδείξεις ιδιαίτερης αποτελεσματικότητας στην ανοσοκατασταλτική θεραπεία με κορτικοειδή, κυκλοσπορίνη και αντιθυμοκυτταρική σφαιρίνη στους ασθενείς με RARS. Έχουν αναφερθεί σποραδικά ικανοποιητικές ανταποκρίσεις σε κορτικοειδή, αναβολικά στεροειδή και θαλιδομίδη, επί ασθενών με ινωτικό μυελό επακόλουθο RARS-T.

Επί ασθενών που δεν ανταποκρίνονται ή χάνουν την ανταπόκριση στους ερυθροποιητικούς παράγοντες, εφαρμόζεται συνεχώς και περισσότερο θεραπεία με επιγενετικούς τροποποιητές σε ίδιες ή και μικρότερες δόσεις από αυτές που συνήθως χρησιμοποιούνται σε ασθενείς με υψηλού κινδύνου ΜΔΣ. Η εμπειρία ωστόσο από αυτή τη θεραπεία σε ασθενείς με RARS είναι περιορισμένη ή μη καταγεγραμμένη, δεδομένου ότι τα αποτελέσματα της θεραπείας επιγενετικής τροποποίησης παρουσιάζονται συνολικά και σπάνια αναλύονται κατά WHO κατηγορία.

Ασθενείς με RARS-T λαμβάνουν συνήθως αντιαιμοπεταλιακή αγωγή και επί μεγάλης θρομβοκυττάρωσης μπορεί να επιχειρηθεί κυτταρομειωτική θεραπεία με μικρή δόση υδροξουρίας, με κίνδυνο η θεραπεία αυτή να οδηγήσει σε πλήρη εξάρτηση από μεταγγίσεις ή σε αύξηση των αναγκών σε μεταγγίσεις. Η αναγρελίδη δεν γίνεται συνήθως καλά ανεκτή από τους περισσότερους υπερχύλικους ασθενείς.

Λόγω του υψηλού φορτίου σιδήρου, επακόλουθο τόσο της ίδιας της νόσου, όσο και της θεραπείας, είναι συχνά απαραίτητη η χορήγηση θεραπείας αποσιδήρωσης, συχνότερα με δεφερασιρόζη, που είναι εύκολα λαμβανόμενη από το στόμα και δεν απαιτεί προσέλευση και παραμονή των ασθενών στο Νοσοκομείο ή χρήση αντλιών υποδόριας χορήγησης. Δεφερριζοαμίνη χρησιμοποιείται σπανιότερα και δεφεριπρόνη σχεδόν ποτέ, λόγω του κινδύνου εμφάνισης ουδετεροπενίας. Οι συνιστώμενες δόσεις δεφερασιρόζης είναι 15-25 mg/kg σωματικού βάρους σε μία λήψη ημερησίως, με τακτική παρακολούθηση των παραμέτρων της νεφρικής λειτουργίας. Μία μικρή επιβάρυνση της νεφρικής λειτουργίας (αύξηση της κρεατινι-

νης ορού κατά ~50%) είναι αποδεκτή, και με μετριασμό της ημερήσιας δόσης δεν ακολουθείται από περαιτέρω επιδείνωση. Το ιστικό φορτίο σιδήρου μπορεί εύκολα να υπολογιστεί με μαγνητική τομογραφία T2*, η οποία μπορεί να χρησιμοποιηθεί για έλεγχο της αποτελεσματικότητας της θεραπείας.

Επειδή η μέση ηλικία εμφάνισης της νόσου είναι >70 έτη, πολύ μικρό ποσοστό ασθενών ηλικίας μέχρι 65 ετών μπορεί να υποβληθεί σε αλλογενή μεταμόσχευση αιμοποιητικών κυττάρων, που αποτελεί τη μοναδική θεραπευτική προσέγγιση με δυνατότητα ίασης της νόσου. Η εμπειρία είναι περιορισμένη και εφαρμόζεται σε σχετικά υψηλότερου κινδύνου ασθενείς (με κυτταροπενίες στο αίμα πέραν της αναιμίας, κυτταρογενετικές ανωμαλίες, πολυγραμμική δυσπλασία, υψηλότερο IPSS/WPSS/IPSS-R, πλήρως εξαρτημένους από μεταγγίσεις, ή σε όσους εκτρέπονται προς επιθετικότερο ΜΔΣ μετά από αρχική πορεία σαν RARS). Συνηθέστερα χορηγούνται σχήματα προετοιμασίας χαμηλής έντασης, και εφαρμόζεται θεραπεία αποσιδήρωσης και προ- και μετα-μεταμοσχευτικά, για περιορισμό των τοξικών επιδράσεων της υπερφόρτωσης σιδήρου.

Με τη διαπίστωση του παθογενετικού ρόλου των μεταλλάξεων του spliceosome διαμορφώνονται ήδη νέες θεραπευτικές κατευθύνσεις προς ανάπτυξη θεραπείας στοχεύουσας στην απόλυση/επιλεκτική απόπτωση του κλωνικού κυτταρικού πληθυσμού, αλλά αυτή προς το παρόν παραμένει στη σφαίρα του σχεδιασμού. Ωστόσο, σε

φάση κλινικής έρευνας ευρίσκεται η προσπάθεια περιορισμού της μη αποδοτικής ερυθροποίησης επί RARS και άλλων MDS, με τη χρήση φαρμάκων, που δεσμεύουν και απενεργοποιούν τους προσδέτες του υποδοχέα τύπου II του TFG-β, όπως ο GDF-11, ώστε να αναστέλλεται η μετάδοση ανασταλτικού μηνύματος για την επιβίωση των ερυθροβλαστών, μέσω της πρωτεΐνης SMAD2/3, της ενεργοποίησης της p53 και προαγωγής της απόπτωσης. Τρία φάρμακα ευρίσκονται σε ανάπτυξη το sotatercept, το lusatercept και το dalantercept, τα οποία σε προκλινική φάση επί πειραματοζώων αλλά και σε μελέτες φάσης I και II επί του ανθρώπου προκάλεσαν εντυπωσιακή προαγωγή αποδοτικής ερυθροποίησης σε ασθενείς με θαλασσαιμία και χαμηλού κινδύνου ΜΔΣ. Σε εξέλιξη ευρίσκεται μελέτη φάσης III με lusatercept. Ένα ακόμα μόριο, αναστολέας του GDF-11, το galunisertib, αλλά και φάρμακα που σταθεροποιούν τον HIF-1, όπως το roxadustat έχουν δείξει in vitro σημαντική δράση, ως προαγωγείς της ερυθροποίησης. Η κλινική ανάπτυξη και αυτών των φαρμάκων αναμένεται με ενδιαφέρον.

Συμπερασματικά, τα τελευταία λίγα χρόνια έχουν σημειωθεί μεγάλες πρόοδοι στην κατανόηση της παθογένειας της σιδηροβλαστικής αναιμίας, τόσο της κληρονομικής, όσον κυρίως και της επίκτητης, με συνέπεια να αναγνωρίζονται μοριακοί στόχοι κατευθυνόμενης θεραπευτικής στρατηγικής, που αναμένεται τα επόμενα χρόνια να βελτιώσουν σημαντικά την ποιότητα και ενδεχομένως και τη διάρκεια της ζωής των ασθενών.

Acquired sideroblastic anemia

by Argiris S. Simeonidis

Hematology Division, Dept of Int. Medicine University of Patras, Medical School, Patras, Greece

ABSTRACT: With the term “sideroblastic anemia” several types of congenital or acquired anemias, characterized by the presence of cytoplasmic, perinuclear iron granules in bone marrow erythroblasts are described. Congenital sideroblastic anemia emerges as a result of point mutations in genes of the porphyrin biosynthetic pathway enzymes, whereas acquired sideroblastic anemia is a clonal hematopoietic stem-cell disorder, classified among the myelodysplastic syndromes. Acquired sideroblastic anemia originates from structural spliceosomal proteins, mainly of SF3B1, creating deficiency of the mitochondrial iron transporter ABCB7, which induces intramitochondrial iron accumulation and results in impairment of the mitochondrial function and induction of erythroblastic apoptosis. These patients usually exhibit elevated GDF-15 serum levels, as well as increased intracellular levels of mitochondrial ferritin and of Reactive Oxygen Species (ROS). Increased ROS levels inhibit several crucial tumor suppressor proteins, such as the cell cycle checkpoint inhibitors p15 and p27, and induce somatic DNA mutations and various other defects, thus favoring disease progression to a more aggressive MDS subtype or to acute leukemia. Such an evolution however, is less common in acquired sideroblastic anemia, as compared to other types of MDS. Acquired sideroblastic anemia may also be drug-induced, and in such cases it is completely reversible, following drug discontinuation. Some forms of congenital sideroblastic anemia respond favorably to pharmacological doses of pyridoxine, whereas rh-erythropoietin, with or without G-CSF may improve anemia, reducing the degree of ineffective erythropoiesis. Newer promising agents, such as activating receptor II ligand traps are still on clinical trials.

Βιβλιογραφία

1. MacGibbon BH, Mollin DL. Sideroblastic anemia in man: observation on seventy cases. *Br J Haematol.* 1965; 11:59-69.
2. Dameshek W. Sideroblastic anemia: Is this a malignancy? *Brit J Haematol.* 1965; 11:52-58.
3. Campagna DR, deBie CI, Schmitz-Abe K, et al. X-linked sideroblastic anemia due to ALAS2 intron 1 enhancer element GATA-binding site mutations. *Am J Hematol.* 2014; 89:315-319.
4. Bottomley S, Fleming MD. Sideroblastic Anemia-Diagnosis and Management. *Hematol Oncol Clin N Am.* 2014; 28:653-670.
5. Ohba R, Furuyama K, Yoshida K, et al. Clinical and genetic characteristics of congenital sideroblastic anemia: comparison with myelodysplastic syndrome with ring sideroblast (MDS-RS). *Ann Hematol.* 2013; 92:1-9.
6. Aoki Y. Multiple enzymatic defects in mitochondria in hematological cells of patients with primary sideroblastic anemia. *J. Clin. Invest.* 1980; 66:43-49.
7. Bottomley SS, Fleming MD. Sideroblastic anemias: molecular basis, pathophysiology and clinical aspects. In: Kadish KM, Smith KM, Guillard R, editors. *Handbook of porphyrin science: with applications to chemistry, physics, materials science, engineering, biology and medicine*, vol. 29. Hackensack (NJ): World Scientific Publishing; 2013; p. 43-87.
8. Willekens C, Dumezy F, Boyer T, et al. Linezolid induces ring sideroblasts. *Haematologica.* 2013; 98:e138-140.
9. Green R. Anemias beyond B12 and iron deficiency: the buzz about other B's, elementary, and nonelementary problems. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2012; 2012:492-498.
10. Germing U, Gattermann N, Aivado M, Hildebrandt b, Aul C. Two types of acquired sideroblastic anemia (AISA): a time-tested distinction. *Brit J Haematol.* 2000; 108: 724-728.
11. Jensen MK, Mikkelsen M. Cytogenetic studies in sideroblastic anemia. *Cancer.* 1976; 37:271-274.
12. Masao Tanaka, Hiroshi Ohta. A case of primary acquired sideroblastic anemia with deficient δ -aminolevulinic acid synthetase activity in bone marrow erythroblasts. *Tohoku J Exp Med.* 1972; 106:199-206.
13. Nikpour M, Pellagatti A, Liu A, et al. Gene expression profiling of erythroblasts from refractory anaemia with ring sideroblasts (RARS) and effects of GCSF. *Brit J Haematol.* 2010; 149:844-854.
14. Boulwood J, Pellagatti A, Nikpour M, et al. The Role of the Iron Transporter ABCB7 in Refractory Anemia with Ring Sideroblasts. *PLoS One.* 2008; 3:e1970.
15. Papaemmanuil E, Cazzola M, Boulwood J, et al. Somatic SF3B1 mutation in myelodysplasia with ring sideroblasts. *N Engl J Med.* 2011;365:1384-1395.
16. Yoshida K, Sanada M, Shiraishi Y et al. Frequent pathway mutations of splicing machinery in myelodysplasia. *Nature.* 2011; 478:64-69.
17. Cazzola M, Rossi M, Malcovati L. Biologic and clinical significance of somatic mutations of SF3B1 in myeloid and lymphoid neoplasms. *Blood.* 2013; 121:260-269.
18. Visconte V, Rogers HJ, Singh J, et al. "SF3B1 haploinsufficiency leads to formation of ring sideroblasts in myelodysplastic syndromes". *Blood.* 2012;120:3173-3186.
19. Del Rey M, Benito R, Fontanillo C, et al. Deregulation of Genes Related to Iron and Mitochondrial Metabolism in Refractory Anemia with Ring Sideroblasts. *PLoS One.* 2015;10:e0126555.
20. Nikpour M, Scharenberg C, Liu A, et al. The transporter ABCB7 is a mediator of the phenotype of acquired refractory anemia with ring sideroblasts. *Leukemia.* 2013; 27:889-896. doi:10.1038/leu.2012.298.
21. Lin CC, Hou HA, Chou WC, et al. SF3B1 mutations in patients with myelodysplastic syndromes: the mutation is stable during disease evolution. *Am J Hematol.* 2014;89:E109-115.
22. Dolatshad H, Pellagatti A, Fernandez-Mercado M, et al. Disruption of SF3B1 results in deregulated expression and splicing of key genes and pathways in myelodysplastic syndrome hematopoietic stem and progenitor cells. *Leukemia.* 2014; 27.11 doi 10.1038/leu.2014.331.
23. Malcovati L, Karimi M, Papaemmanuil E, et al. SF3B1 mutation identifies a distinct subset of myelodysplastic syndrome with ring sideroblasts. *Blood.* 2015;126:233-241.
24. Patnaik MM, Lasho TL, Hodnefield JM, et al. SF3B1 mutations are prevalent in myelodysplastic syndromes with ring sideroblasts but do not hold independent prognostic value. *Blood.* 2012; 119:569-572.
25. Thol F, Kade S, Schlarman C, et al. Frequency and prognostic impact of mutations in SRSF2, U2AF1, and ZRSR2 in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2012; 119:3578-3584.
26. Conte S, Katayama S, Vesterlund L, et al. Aberrant splicing of genes involved in hemoglobin synthesis and impaired terminal erythroid maturation in SF3B1 mutated refractory anemia with ring sideroblasts. *Br J Haematol.* 2015; doi: 10.1111/bjh.13610.
27. Levi S, Corsi B, Bosisio M et al. A human mitochondrial ferritin encoded by an intronless gene. *J Biol Chem.* 2001;276:24437-24440.
28. Cazzola M, Invernizzi R, Bergamaschi G, et al. Mitochondrial ferritin expression in erythroid cells from patients with sideroblastic anemia. *Blood.* 2003;101:1996-2000.
29. Tehranchi R, Invernizzi R, Grandien A, et al. Aberrant mitochondrial iron distribution and maturation arrest characterize early erythroid precursors in low-risk myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2005;106:247-253.
30. Saigo K, Takenokuchi M, Hiramatsu Y, Tada H, Hishita H, M Takata M et al: Oxidative Stress Levels in Myelodysplastic Syndrome Patients: Their Relationship to Serum Ferritin and Haemoglobin Values *Journal of International Medical Research.* 2011; 39:1941.
31. Shin MG, Kajigaya S, Levin BC, Young NS. Mitochondrial DNA mutations in patients with myelodysplastic syndromes. *Blood.* 2003; 101:3118-3125.
32. Wulfert M, Kupper AC, Tappich C, et al. Analysis of mitochondrial DNA in 104 patients with myelodysplastic syndromes. *Exp Hematol.* 2008; 36:577-586.
33. Santini V, Girelli D, Sanna A, et al. Hcpidin Levels and

- Their Determinants in Different Types of Myelodysplastic Syndromes. *PLOS One*. 2011; 6:e23109.
34. Zipperer E, Post JG, Herkert M, et al. Serum hepcidin measured with an improved ELISA correlates with parameters of iron metabolism in patients with myelodysplastic syndrome. *Ann Hematol*. 2013;92:1617-1623.
 35. Kautz L, Jung G, Nemeth E, et al. The erythroid factor erythroferrone and its role in iron homeostasis [abstract]. *Blood* 2013;122:4.
 36. Neukirchen J, Fox F, Kundgen A, et al. Improved survival in MDS patients receiving iron chelation therapy—a matched pair analysis of 188 patients from the Dusseldorf MDS registry. *Leuk Res*. 2012;36:1067–1070.
 37. Ramirez Z-M, Schaad O, Durual S, et al. Growth differentiation factor 15 production is necessary for normal erythroid differentiation and is increased in refractory anaemia with ring-sideroblasts. *Brit J Haematol*. 2008; 144:251-262.
 38. Zhang J, Randall MS, Loyd MR, et al. Mitochondrial clearance is regulated by Atg7-dependent and -independent mechanisms during reticulocyte maturation. *Blood*. 2009; 114:157-164.
 39. Mortensen M, Ferguson DJ, Edelmann M, et al. Loss of autophagy in erythroid cells leads to defective removal of mitochondria and severe anemia in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2010; 107:832-837.
 40. Houwerzijl EJ, Pol HW, Blom NR, van der Want JJ, de Wolf JT, Vellenga E. Erythroid precursors from patients with low-risk myelodysplasia demonstrate ultrastructural features of enhanced autophagy of mitochondria. *Leukemia*. 2009; 23:886-891.
 41. Scarth Watson A, Mortensen M, Simon AK. Autophagy in the pathogenesis of myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia. *Cell Cycle*. 2011; 10:11, 1719-1725.
 42. Hellstrom-Lindberg E, Schmidt-Mende J, Forsblom AM, Christensson B, Fadeel B, Zhivotovsky B. Apoptosis in refractory anaemia with ringed sideroblasts is initiated at the stem cell level and associated with increased activation of caspases. *British Journal of Haematology*. 2001; 112:714–726.
 43. Maiani NA, Roos D, Kuijpers TW. Bid truncation, bid/bax targeting to the mitochondria, and caspase activation associated with neutrophil apoptosis are inhibited by granulocyte colony-stimulating factor. *J Immunol*. 2004; 172:7024-7030.
 44. Baumann Kreuziger LM, Wolanskyj AP, Hanson CA, Steensma DP. “Lack of efficacy of pyridoxine (vitamin B6) treatment in acquired idiopathic sideroblastic anaemia, including refractory anaemia with ring sideroblasts”. *Eur J Haematol*. 2011; 86:512-516.