

Hemoglobinopatie na Slovensku

(VÝSLEDKY 25ROČNEJ EPIDEMIOLOGICKEJ ŠTÚDIE)

V. Fábryová, M. Drakulová,
K. Gbúrová, A. Kollárová,
Z. Lalahová Striežencová, M.
Macichová

V minulosti sa u nás venovalo málo pozornosti vrodeným chorobám červených krviniek, keďže ich výskyt bol zriedkavý a vlastná choroba nespôsobovala pacientom vážnejšie ťažkosti. Aj v slovenskej odbornej literatúre sa zmienka o nich vyskytovala len sporadicky. Napriek tomu v rôznych ambulanciách sa vždy zaznamenalo určité percento mikrocytových anémií, ktoré nereagovali na liečbu železom a ostávali nedoriešené. Väčšinou sa jednalo o beta-talasémiu, príp. iné zriedkavejšie hemoglobinopatie.

Hemoglobinopatie sa vyskytujú hlavne v juhovýchodnej Ázii, v severnej Afrike a v južnej Európe. Koncentrovali sa v oblastiach, v ktorých je rozšírená malária a svojim nositeľom poskytovali ochranu pred infekciou. Kvôli migrácii svetového obyvateľstva sa však dnes môžu vyskytnúť všade na svete. Mutácie, ktoré sú prítomné v našom obyvateľstve, sú pozostatky génov, ktoré tu v minulosti zanechali tatárske a turecké nájzdy, migrácie obyvateľstva z južnej Európy (napr. Chorváti), alebo sa jedná o de novo mutácie hemoglobínu. Problematika začína byť znova aktuálna, keďže po páde železnej opony sa aj u nás v posledných dekádach stretávame so zvýšeným výskytom uvedených mutácií ako u cudzincov prichádzajúcich na Slovensko, tak aj u ich potomkov v manželstvách s našimi občanmi. Podobne sa s uvedenou problematikou stretávajú aj naši lekári pracujúci v rizikových oblastiach.

Popri kosáčikovej anémii (vyskytuje sa hlavne v černošskej populácii) je najčastejšia z vrodených hemolytických anémií beta-talasémia. Vzniká z mutácie génu pre beta-globínový reťazec hemoglobínu. Porucha génu spôsobuje skrátenie beta-globínového reťazca, výmenu aminokyselín, chýbanie alebo zabudovanie nových aminokyselín do reťazca a pod. Dnes je známych vyše 200 rôznych mutácií beta-globínového génu. V našej oblasti sa prejavujú najčastejšie v heterozygotnej forme. Po klinickej stránke varujú od nenápadných laboratórnych prejavov až po anémiu stredne ťažkého stupňa. V krvnom obraze je v popredí mikrocytóza erytrocytov, normálne hodnoty parametrov železa a v elektroforéze

hemoglobínu zvýšené hodnoty frakcie hemoglobínu A₂ (HbA₂), druhého dospelého hemoglobínu, ktorý má miesto beta-globínového reťazca reťazec delta. Niekedy môže byť zvýšený aj fetálny hemoglobín F (HbF), ktorý u dospelého jedinca dosahuje hodnotu približne jedno percento.

Vzhľadom na aktuálnosť problematiky sa v r. 1993 vytvorila pri Hematologickej a transfuziologickej spoločnosti SLS **Študijná skupina zameraná na aktívne vyhľadávanie beta-talasémií a iných hemoglobinopatií v SR**. Cieľom štúdie bolo:

- Zjednodušiť diagnostiku beta-talasémií a zabrániť zbytočnému podávaniu preparátov železa pri všetkých mikrocytových anémiách
- Zistiť výskyt a typ mutácií v našej oblasti
- Podľa typu mutácií zaviesť vhodné genetické metódy na ich skrining
- Poskytnúť nositeľom genetických mutácií predmanželské a predkoncepčné poradenstvo (hlavne pri vstupe do manželstva s partnerom z rizikových oblastí)
- Prispieť našimi výsledkami do programov EU na vyhľadávanie beta-talasémií.

Štúdia trvala od r. 1993 do r. 2018. Zúčastnili sa nej tri hematologické centrá:

- FN BA, pracovisko Kramáre
- Národný ústav detských chorôb v Bratislave
- FN L. Pasteura v Košiciach.

Celkove sa na štúdiu zúčastnilo 70 lekárov.

Materiál a metódy

Pacienti so suspektnou beta-talasémiou boli zasielaní do uvedených centier na diagnostiku alebo sa riešili na lokálnych hematologických pracoviskách.

Kritéria na zaradenie do štúdie:

1. Rodinná anamnéza (predkovia z rizikových oblastí)
2. Osobná anamnéza
3. Objektívne vyšetrenie (ikterus, splenomegália)
4. **Mikrocytóza erytrocytov v krvnom obraze: MCV (stredný objem erytrocytov) pod 78 fl, príp. MCH (stredný obsah hemoglobínu v erythrocyte) pod 25 pg. Anémia nemusela byť prítomná.**
5. **Nález v periférnom krvnom nátere: mikrocyty, terčovité bunky, ďalšie morfológické anomálie erytrocytov**
6. **Normálne alebo zvýšené hodnoty sérového železa, feritínu alebo pretrvávajúca mikrocytóza erytrocytov aj po liečbe železom**
7. Možné prejavy hemolýzy (zvýšený počet retikulocytov, spotrebovaná hodnota haptoglobínu, zvýšená hodnota nepriameho bilirubínu).

Poznámka: Nemuseli byť splnené všetky kritéria, zásadné kritéria sú vytačené hrubo.

Metódy:

Parametre krvného obrazu sa stanovovali na počítačoch krviniek vyššej generácie, krvný náter z periférnej krvi sa vyšetroval mikroskopicky (Pappenheimove farbenie), vyšetrenie parametrov železa, bilirubínu a ďalších biochemických parametrov sa vykonávalo na bežných biochemických analyzátoroch; haptoglobín sa vyšetroval laserovou nefelometriou. Elektroforéza hemoglobínu sa vykonávala na acetát-celulóзовých fóliách. Hodnoty HbA2 do 3,5% a HbF do 1,1% sa považovali za normálne. Pacienti s vyššími hodnotami uvedených frakcií sa zaradovali do štúdie.

V druhej časti štúdie sme už spolupracovali aj s genetickým pracoviskom Ústavu laboratórnej medicíny vo FN v Nitre, ktoré vyšetrovalo vzorky vyššie uvedených pacientov metódou reverznej hybridizácie.

V prípade pozitívnych výsledkov sme sa snažili aj o vyšetrenie príbuzných probanda v horizontálnej aj vertikálnej línii.

Výsledky

Štúdia za účelom vyhľadávania hemoglobínopatií na Slovensku trvala 25 rokov. Za ten čas sme zachytili celkovo 618 jedincov so suspektnou hemoglobínopatiou. Z toho bolo 41 cudzincov (7,1%). Kompletne bolo doteraz diagnostikovaných 313 (50,48%) jedincov. Za kompletne diagnostikovaného pacienta sa považuje genetický dôkaz mutácie. Beta-talasémia malo 300 (48,39%) pacientov (členovia 79 rodín alebo jednotlivci), traja pacienti mali dokázanú mutáciu pre kosáčikovú anémiu zdedenú od jedného rodiča (dvaja nepríbuzní chlapci, ktorých otec bol afrického pôvodu a jedna černoška z Ghany).

Tab.1 ukazuje prehľad mutácií beta-globínového génu v študovanej skupine ako v absolútnych číslach, počet jedincov a počet rodín, ako aj percentuálne zastúpenie jednotlivých mutácií.

Po klinickej stránke sa u všetkých pacientov jednalo o heterozygotnú formu ochorenia, pacienti boli bez výraznejších ťažkostí. Hodnoty hemoglobínu sa pohybovali od normálnych hodnôt a ľahkej anémie (beta-talasémia minor) až po hodnoty stredne ťažkej anémie, najnižšie hodnoty hemoglobínu v súbore

Tab. 1 Pätnásť mutácií beta-talasémie diagnostikovaných na Slovensku (1993 – 2018)

MUTÁCIE	Pacienti/ Rodiny	%	Fenotyp	Pôvod	Iné
IVS 1.110 (G>A)	92 / 24	30,7 / 30,4	Beta +	M	
IVS 2.1 (G>A)	77 / 169	20,7 / 20,3	Beta 0	M	*ČR 6,1% !
IVS 1.6 (T >C)	35 / 9	11,7 / 11,4	Beta +	M	
Codon 39 (G>A)	30 / 8	10,0 / 10,1	Beta 0	M	
IVS 1.1 (G>A)	16 / 4	5,3 / 5,0	Beta 0	M	*ČR 36,7% !
Codon 8 (-AA)	13 / 3	4,3 / 3,8	Beta 0	M	
IVS 2.745 (C >G)	12 / 4	4,0 / 5,0	Beta +	M	
Codon 121 (G > T)	9 / 3	3,0 / 3,7	Beta 0	S / Č	
Codon 27 (G > T)	5 / 2	1,7 / 2,5	Beta +	M	
Codon 5 (-CT)	3 / 1	1,0 / 1,2	Beta 0	M	
IVS 1.5 (G >C)	3 / 1	1,0 / 1,2	Beta +	M	
Codon 44 (-C)	2 / 1	0,66 / 1,2	Beta 0	M	
Codon 17 (AAG TAG Lys STOP)	1 / 1	0,33 / 1,2	Beta 0 ?	M	
-87 (C >G)	1 / 1	0,33 / 1,2	Beta +	E	
Codon 58 (-C)	1 / 1	0,33 / 1,2	Beta + ?	M?	
Total	300 / 79	*100 / 100			

Poznámka: M – mediteránny typ, E – európsky typ, S/Č – slovenský a český typ mutácie. Pri mutácii IVS 2.1 (G>A) a IVS 1.1 (G>A) je uvedený významný rozdiel v ich výskyte medzi SR a ČR

boli 80g/liter (beta-talasémia intermédia). V liečbe sme využívali len vitamíny - kyselinu listovú a vitamín B12, preparáty železa sú kontraindikované.

V rokoch 2012 – 2015 sme sledovali v súbore aj sedem gravidných pacientiek. Priebeh gravidity bol u všetkých po hematologickej stránke bez komplikácií, anémiiu sme korelovali len podávaním vyššie uvedených vitamínov. Podobne pri pôrode len u jednej pacientky bolo potrebné podať transfúziu erytrocytov. Aj v tomto roku sledujeme ďalšie dve tehotné pacientky s beta-talasémiou minor. U všetkých pacientiek bol vždy vyšetrený aj partner.

Prevenia a poradenstvo

Každý pacient v súbore je informovaný o povahe svojej choroby. Na konzultácie príp. na vyšetrenie sú pozývaní aj príbuzní probanda vo vertikálnej a horizontálnej línii. Manželským párom, hlavne kde jeden partner je z rizikových oblastí, poskytujeme predmanželské a predkoncepčné poradenstvo. Nezanedbateľnou stránkou práce študijnej skupiny je aj erudícia zdravotníckych pracovníkov, aby na uvedenú problematiku mysleli.

Diskusia

Je zaujímavé, že v poslednom období hlavné problémy s hemoglobínopatiami sa neobjavujú v pôvodných krajinách výskytu, ale v západnej Európe. Veľká Británia, Francúzsko a Nemecko sú multikulturálne krajiny, kde už v minulosti žili minoritné skupiny obyvateľstva z rizikových oblastí a v poslednom období sa situácia zhoršila s príchodom nových imigrantov. V týchto krajinách bolo potrebné nielen rozvinúť diagnostiku hemoglobínopatií, skríninové metódy, prenatálnu diagnostiku, ale aj liečbu vážnych homozygotných foriem. Tie sú náročné na transfúziu liečbu, chelatačnú liečbu, podpornú liečbu, príp. až transplantáciu kostnej drene. Celá problematika neúmerne zaťažuje zdravotné a sociálne systémy západoeurópskych krajín.

U nás sme zatiaľ nezaznamenali výskyt vážnych klinických foriem hemoglobínopatií, hoci v minulosti sa na Slovensku vyskytli homozygotné formy u potomkov prisťahovalcov z Chorvátska. Z uvedenej štúdie vyplýva, že doteraz máme zaznamenané len ľahké heterozygotné formy ochorenia (beta-talasémia minor alebo intermédia). Ako ukazuje tab.1, najčastejšími sú stredomorské mutácie - IVS 1.110, IVS 2.1 a IVS 1.6, ktoré tvoria skoro 2/3 prípadov. Celkove sme zaznamenali výskyt 15 mutácií. Naše výsledky sú veľmi podobné s výsledkami prác z Českej republiky.

Zvlášť treba upozorniť pri beta-talasémiách na metabolizmus železa. Keďže sa jedná o vrodenú hemolytickú anémiu, prežívanie erytrocytov je

v rôznom stupni skrátené a pri ich rozpade sa uvoľňuje väčšie množstvo železa. Toto sa hromadí v parenchýmových orgánoch, hlavne v pečeni, so všetkými negatívnymi následkami. Situáciu môže zhoršovať príjem alkoholu, hepatopatia alebo prítomnosť mutácií hereditárnej hemochromatózy. U vybraných pacientov s vysokými hodnotami feritínu a siderémie je potrebné vyšetriť aj obsah Fe v suchom tkanive pečene (metóda MRI).

Našou štúdiou sme urobili prvý krok v tejto oblasti. Je dôležité, že hemoglobínopatie sa dostali do povedomia našich lekárov a že sa mikrocytové anémie prestali liečiť automaticky preparátmi železa. Zvýšilo sa aj povedomie o tejto problematike v populácii a pacienti sami vyhľadávajú lekára. Pokročili sme aj v diagnostike, elektroforéza hemoglobínu sa stala súčasťou väčších hematologických laboratórií, rozšírila sa genetická diagnostika nielen pre beta-talasémie, ale začína sa vykonávať diagnostika alfa-talasémií a iných hemoglobínopatií. To je dôležité najmä pre doriešenie takmer polovice pacientov v našom súbore, u ktorých sa dostupnými metódami nedali dokázať mutácie alebo z rôznych dôvodov ešte neboli geneticky vyšetrení.

Napokon treba dodať, že naše výsledky sa dostali do medzinárodných registrov (European Network for Rare and Congenital Anaemias – ENERCA, Thalassaemia International Federation - TIF).

Literatúra

1. Sakalová A. Current problems of diagnosis and treatment of congenital haemolytic anemia. *Slov Lek*,1992;2/16(8-9):39-45
2. Fábryová V. a kol. Anémie. Martin: Osveta; 2017.
3. Wood B., Higgs D. Molecular basis of thalassaemia syndromes. In: Beaumont C., Beris P., Bezaud Y., et al. Disorders of erythropoiesis, erythrocytes and iron metabolism. Paris, ESH;2009:251-263.
4. Fábryová V., Božek P., Drakulova M., Kollárová A., Luluhová Striežencová Z., Macichová M. Care for haemoglobinopathy patients in Slovakia. *Centr Eur J Public Health*. 2017;25(1):67-71
5. Weatheral D. J. The inherited diseases of hemoglobin are an emerging global health burden. *Blood*.2010 Jun 3;115(22):4331-6.
6. Kohne E. Hemoglobinopathies: clinical manifestations, diagnosis, and treatment. *Dtsch Arztebl Int*.2011;108:532-540
7. Vives Corrons JL, Manu Pereira M. ENERCA. The European network for patients with rare anaemias. *J Rare Dis Diagn Ther*.2015;1(1):1-9.

8. Piel F. Global epidemiology of haemoglobinopathies: New management challenges. EHA learning centre. 2015 Jun 12:103588
9. Divoka M., Partschová M., Kucerova J., Mojziková R., Cermak J., Pospišilova D., et al. Molecular characterization of beta-thalassaemia in the Czech and Slovak Populations: Mediterranean, Asian and unique mutations. *Hemoglobin*. 2016;40(3): 156-162.
10. ENERCA, TIF, IOM. Haemoglobinopathies on the Move: Is Europe ready? (Internet) ENERCA;2013 (cited 2016 Dec 20). Available from: https://www.enerca.org/media/upload/arxi-us/Training/Novartis_OncologyReport_2013.pdf.
11. Thalassaemia International Federation. The future of hemoglobin disorders and rare anemias in Europe: observations, key findings and recommendations. Consensus document Thalassaemia international federation (TIF), 4th Pan-European conference 7-9 November 2014, Athens, Greece.