

Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2): klinický obraz, diagnostika a léčba

Barbora Balažiová¹, Gabriela Hrková¹, Veronika Dobšínská², Tomáš Dallos¹

¹Detská klinika Lekárskej fakulty Univerzity Komenského (LF UK) a Národného ústavu detských chorôb (NÚDCH), Bratislava

²Transplantačná jednotka kostnej drene Kliniky detskej hematológie a onkológie LF UK a NÚDCH, Bratislava

Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) je geneticky podmienené multisystémové autoinflamačné ochorenie, ktoré bolo prvýkrát opísané v roku 2014. Vzniká v dôsledku patogénnych variantov génu ADA2, ktoré vedú k redukcii až k úplnej strate aktivity enzýmu ADA2. Manifestuje sa vysoko variabilným fenotypom, s prejavmi systémovej alebo cerebrálnej vaskulitídy, imunodeficienciou a/alebo zlyhaním kostnej drene, obvykle s včasným nástupom v živote pacienta. Doteraz bolo publikovaných viac ako 370 prípadov DADA2, pričom štatistické výpočty odhadujú celosvetový výskyt na viac ako 35 000 jedincov. Rozmanitosť fenotypového spektra oneskoruje diagnostiku a efektívnu liečbu pacientov nezriedka až do dospelého veku. Prehľadom o klinickom obraze, diagnostike a terapii DADA2 chceme prispieť k zlepšeniu povedomia odbornej verejnosti o tejto raritnej chorobe a skráteniu cesty pacientov k efektívnej liečbe, ktorá je účinná a kľúčová v prevencii niektorých trvalých následkov neliečeného ochorenia.

Kľúčová slová: deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2), fenotypovo-genotypová diverzita, inhibícia TNF- α , transplantácia hematopoetických kmeňových buniek.

Deficiency of adenosine deaminase type 2 (DADA2): clinical picture, diagnosis and treatment

Deficiency of adenosine deaminase type 2 (DADA2) is a genetically determined multisystem autoinflammatory disease first described in 2014. It results from pathogenic variants in the ADA2 gene that lead to the reduction or complete loss of ADA2 enzyme activity. It presents with a highly variable phenotype as systemic or cerebral vasculitis, immunodeficiency and/or bone marrow failure, usually with early onset. More than 370 published cases of DADA2 can be found in international literature, however, statistical calculations estimate the prevalence to more than 35,000 individuals worldwide. The diversity of the phenotypic spectrum delays diagnosis and effective treatment of patients not infrequently until adulthood. By reviewing the clinical picture, diagnosis and therapy of DADA2, we aim to improve the awareness of this disease among professionals and thus shorten the patients' pathway to effective treatment, which is efficient and crucial in preventing some of the permanent sequelae of untreated disease.

Key words: deficiency of adenosine deaminase type 2 (DADA2), phenotype-genotype diversity, TNF- α inhibition, hematopoietic stem cell transplantation.

Úvod

Autoinflamačné ochorenia predstavujú nedávno identifikovanú skupinu porúch imunity, ktoré charakterizuje nadmerná aktivita prirodzenej imunity bez prítomnosti autoimunitných fenoménov (auto-

protilátky a autoreaktívne T-lymfocyty). V súčasnosti sa už akceptuje, že autoinflamačné mechanizmy sa spolupodieľajú aj na patofyziológii viacerých autoimunitných ochorení (napr. spodylartropatie, nešpecifické zápalové ochorenia čreva, ale aj systémový lupus erythematosus). V už-

šom zmysle k autoinflamačným ochoreniam patrí najmä rozrastajúca sa skupina raritných, geneticky podmienených vrodených porúch imunity vznikajúcich v dôsledku nekontrolovanej aktivity mechanizmov prirodzenej imunity.

Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) je zriedkavé, monogénovo-podmienené, autozómovo recesívne, autoinflamačné ochorenie s variabilnou multisystémovou manifestáciou (1). Bialelické (homozygotné alebo zložené heterozygotné) patogénne varianty génu ADA2 vedú k redukcii až k úplnej deficiencii aktivity enzýmu adenosín-deamináza 2 (ADA2) (2, 3). Ten sa podľa stále pribúdajúcich poznatkov patogeneticky zapája do mnohých procesov. Reguluje proliferáciu a diferenciáciu imunitných buniek a zohráva úlohu vo vývoji endotelových a hematopoetických buniek. Významne ovplyvňuje viaceré zložky vrodenej a získanej imunity. Diverzita fenotypových prejavov pacientov s DADA2 sa vysvetľuje širokým spektrom funkcií enzýmu ADA2.

Prvé prípady DADA2 identifikované v roku 2014 sa prejavili fenotypom systémovej vaskulitídy charakteru polyarteritis nodosa, ktorý zahŕňal horúčky, livedo racemosa, ale aj periférne nekrózy a náhle cievné mozgové príhody vyskytujúce sa už v ranom detstve. V niektorých prípadoch sa súčasne prejavila mierna imunodeficiencia (2, 3). S pribúdajúcimi poznatkami sa klinický fenotyp DADA2 v priebehu ďalších rokov výrazne rozšíril. Prejavy ochorenia možno rozdeliť do 3 hlavných fenotypov: inflamatórne-vaskulopatický, imunodeficientný a hematologický (4). Recentné práce však uprednostňujú pohľad na fenotyp DADA2 ako na kontinuum spektra príznakov, nakoľko sa príznaky u pacientov môžu značne prelínať (5).

Vzhľadom na nedávny opis tohto ochorenia, jeho raritný výskyt a vysokú fenotypovú variabilitu neprekvapuje, že diagnóza DADA2 je potvrdená len u časti postihnutých jedincov (2). Aj na Slovensku sme prvých pacientov s DADA2 opísali len nedávno (6). Odhadovaná mortalita DADA2, cca. 8% pred dosiahnutím 30. roku života, je vzhľadom na predpokladaný veľký počet nediagnostikovaných prípadov pravdepodobne podhodnotená (7).

Prvé odporúčania pre diagnostiku, skrining, klinické hodnotenie a manažment pacientov s DADA2 vydané v máji 2023 (8), by mali prispieť k zlepšeniu starostlivosti aj prognózy pacientov s týmto vzácnym ochorením.

Patofyziológia DADA2

Deficiencia adenosín-deaminázy 1. typu (enzýmu ADA1) je známa príčina ťažkej kombinovanej imunodeficiencie (SCID), ktorej prognóza je bez liečby infaustná už v ranom detstve (9). Hoci sa **adenosín-deamináza 2. typu (ADA2)** dlho považovala za izoenzým ADA1, novšie poznatky poukazujú na jej odlišnú štruktúru, bunkovú lokalizáciu, expresiu a pravdepodobne aj biologickú funkciu (10).

Oba enzýmy regulujú metabolizmus purínov rozkladom adenosínu a 2'-deoxyadenosínu (9). Pri deficiencii ADA1, ktorá je dominantne exprimovaná intracelulárne v T- a B-lymfocytoch, sa v lymfocytoch hromadia toxické deoxyadenosínové nukleotidy. Tie vedú k zvýšenej apoptóze a v konečnom dôsledku k lymfopénii s imunofenotypom T-B-NK- s klinickým dôsledkom rekurentných, život ohrozujúcich infekcií

(9,11). ADA2 sa vysoko exprimuje v myeloidných bunkách, z ktorých je aktívne vylučovaná do extracelulárneho priestoru a jej aktivita je prevažne extracelulárna. Pacienti s DADA2 majú normálnu aktivitu ADA1 a intracelulárne neakumulujú toxické deoxyadenosínové nukleotidy. Deficiencia ADA2 však nie je kompenzovaná aktivitou enzýmu ADA1; funkcia ADA1 a ADA2 teda nie je vzájomne nahraditeľná (10).

Okrem katalytickej funkcie vykazuje ADA2 aj aktivitu rastového faktora s potenciálom modulovať sekréciu iných rastových faktorov a interaguje s viacerými zložkami vrodenej aj získanej imunity, najmä s monocytmi, B-lymfocyty, neutrofilmi aj NK-bunkami (11–13). ADA2 pravdepodobne zohráva kľúčovú úlohu vo vývoji progenitorových hematopoetických, ale aj endotelových buniek, a reguluje proliferáciu a diferenciáciu viacerých imunitných zložiek (10).

Výsledkom deficiencie ADA2 je chronická aktivácia neutrofilov, dysregulácia neutrofilových extracelulárnych pascí (NET-ov) a polarizácia makrofágov z M2 subtypu na prozápalový subtyp M1. Tieto zmeny vedú k zvýšenej produkcii zápalových cytokínov, vrátane tumory nekrotizujúceho faktora- α (TNF- α), interferónu (IFN) a interleukínov IL-6, IL-8 a IL-10 (3, 13–15). Dysregulácia NET-ózy a chronická aktivácia neutrofilov môžu prispievať k zníženej integrite endotelových buniek, ktorá spolu s prozápalovým cytokínovým prostredím pravdepodobne tvorí podklad inflamatórne-vaskulopatického fenotypu DADA2 (14). Význam nadprodukcie TNF- α v patogenéze DADA2 nepriamo potvrdzuje aj účinnosť terapeutической inhibície TNF- α , a to najmä u pacientov s vaskulitickým fenotypom (16).

Zvýšené koncentrácie TNF- α však môžu súvisieť aj s mechanizmami manifestácie hematologických porúch pri DADA2, nakoľko úloha TNF- α sa ukázala ako podstatná pri zlyhaní kostnej drene u pacientov s aplastickou anémiou (17).

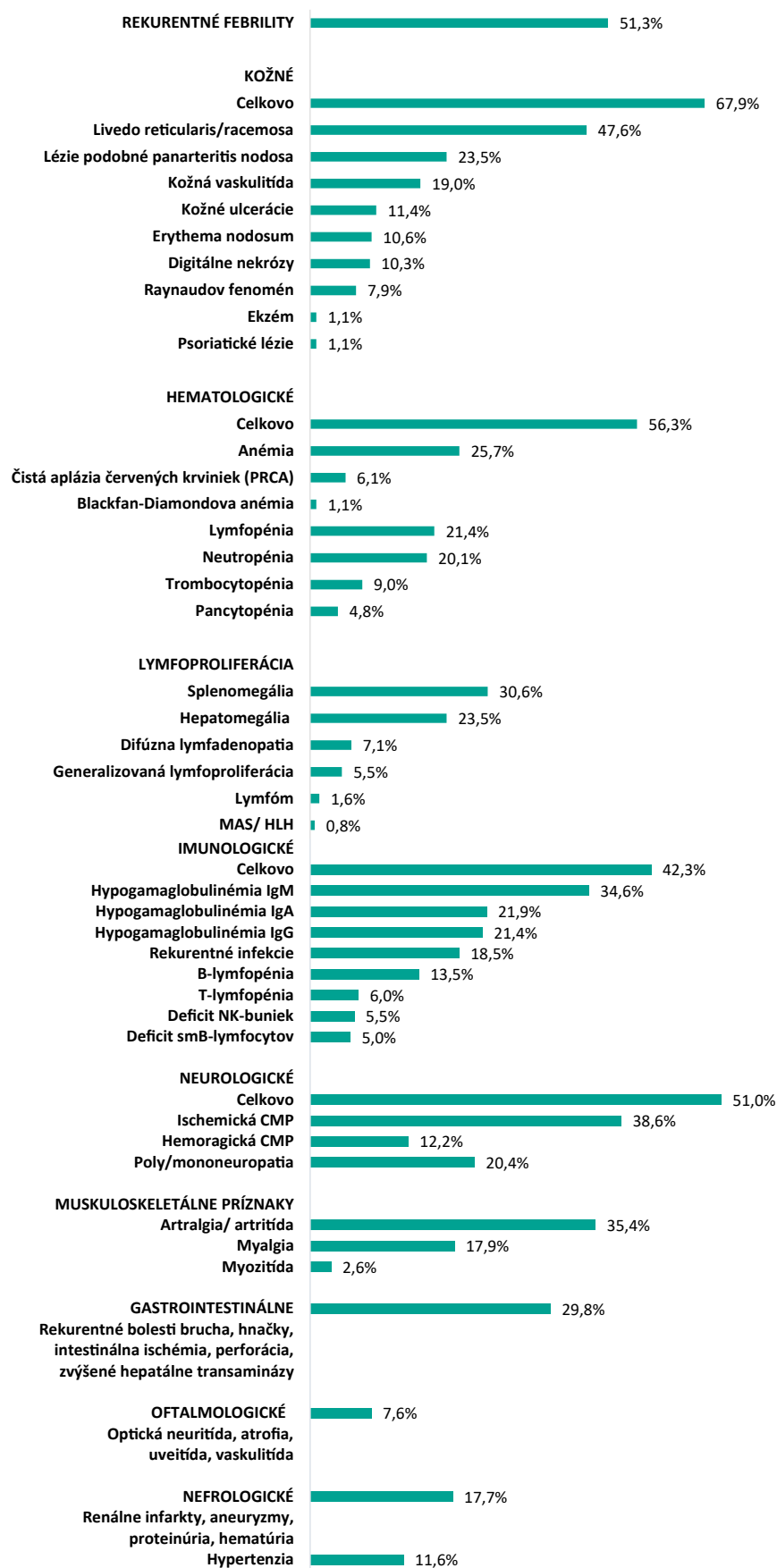
Viacero štúdií poukázalo na depléciu pamäťových B-lymfocytov pri DADA2, zatiaľ čo subpopulácia naivných B-lymfocytov ostáva vo fyziologickom rozmedzí alebo je dokonca relatívne zvýšená. Aberantný vývoj a diferenciácia B-lymfocytov je pravdepodobne súčasťou patogenézy DADA2 a môže viesť k zmenám v tvorbe protilátok (3, 18).

Klinická manifestácia

Ochorenie sa zvyčajne manifestuje v detstve. K prvým prejavom DADA2 však ojedinele môže dôjsť aj v dospelosti (10). Vysoko variabilný fenotyp často znemožňuje včasné stanovenie diagnózy (10), ktoré sa tak môže oddialiť až do dospelosti. Od opisu prvých pacientov s prevládajúcimi vaskulitickými/vaskulopatickými prejavmi sa klinický fenotyp DADA2 významne rozšíril (19) (Obr. 1).

Vaskulitída/vaskulopatia

Vaskulopatia artérií malého a stredného kalibru je najčastejší prejav DADA2. Dominuje postihnutie kože a centrálného nervového systému, variabilne aj iných tkanív a orgánových systémov (gastrointestinálny trakt, pečeň, obličky, koronárne artérie) (10). Klinické prejavy siahajú od lokalizovaného kožného postihnutia až po ťažkú a fatálnu systémovú vaskulitídu charakteru polyarteritis nodosa s multiorgánovým postihnutím (19). Vaskulopatické prejavy sa spájajú s febrilitami a zvýšenými zápalovými parametrami (FW, CRP) (10).

Obr. 1. Fenotypové prejavy pri DADA2 a ich výskyt (adaptované podľa Maccora a kol., 2023) (63)

PRCA – „pure red cell aplasia“, čistá aplázia červených krviniek, MAS – syndróm aktivácie makrofágov, HLH – hemofagocytujúca lymfohistiocytóza, CMP – cievna mozgová príhoda

Najčastejší lokalizovaný kožný prejav je livedo racemosa, vyskytuje sa aj erythema nodosum, Raynaudov fenomén, periférne gangrény a ulcerácie (19). V histologickom náleze livedoidného exantému je viditeľná extenzívna infiltrácia interstícia neutrofilmi a makrofágmi s perivaskulárnou akumuláciou T-lymfocytov, bez evidentnej vaskulitídy (3).

Medzi najzávažnejšie prejavy patrí postihnutie CNS s klinickým obrazom rekurentných cievnych mozgových príhod, ktoré sa môžu prejaviť už v 5. mesiaci života (4). Typickým MRI nálezom sú akútne alebo chronické lakunárne ischemické infarkty lokalizované v hlbokých mozgových jadrách alebo v mozgovom kmeni, ktoré vynechávajú subkortikálnu bielu hmotu (10). Súčasťou klinického spektra môžu byť aj hemoragické cievne mozgové príhody (4). Predpokladalo sa, že intrakraniálne krvácania môžu byť dôsledkom antiagregačnej a/alebo antikoagulačnej liečby ischemickej cievnej mozgovej príhody. Dokumentovaná však bola aj hemoragická mozgová príhoda u pacienta s DADA2 bez predošlej anamnézy ischemickej príhody, a teda bez užívania antiagregačnej/antikoagulačnej medikácie (20).

V niektorých publikovaných prípadoch sa cievna mozgová príhoda prvýkrát manifestovala až v 20. roku života. Navyše, MRI skríningom sa odhalili aj „nemé“ mozgové príhody u pacientov s DADA2, ktorých anamnéza ani klinické vyšetrenie nevzbudzovali podozrenie na mozgovú príhodu (4). U časti pacientov môže dôjsť k obrne hlavových nervov, spastickej diplégii alebo paraplégii, encefalopatii, periférnej neuropatii, senzorineurálnej strate sluchu, labyrintitíde a cerebrálnej atrofii (4, 10, 21, 22).

Bolesti brucha a zápalové postihnutie čreva sú dominujúcimi prejavmi postihnutia gastrointestinálneho traktu, boli však opísané aj prípady intestinálnej perforácie a aneuryziem mezenterických artérií (2, 3, 23). Poškodenie pečene sa prejaví zvýšením hepatálnych transamináz, hepatosplenomegáliou a portálnou hypertenziou. Histopatologickou analýzou možno preukázať nodulárnu hyperpláziu a/alebo hepatoportálnu sklerózu, ktorá potenciálne môže viesť až k hepatálnemu zlyhaniu (3, 21). Medzi renálne prejavy patrí stenóza alebo aneuryzma renálnej artérie a arteriálna hypertenzia. Artralgia, myalgia a artritída malých kĺbov sa manifestuje iba u menšiny pacientov (10).

Imunodeficiencia

Už u prvých pacientov s dominujúcim inflamatórnym fenotypom DADA2 sa zaznamenala aj mierna imunodeficiencia so zníženými koncentráciami imunoglobulínu M (3). Poruchy imunitného systému pri DADA2 však môžu byť rôznorodé.

Okrem hypogamaglobulinémie v ktorejkoľvek triede imunoglobulínov sa pozorovala aj nedostatočná protilátková imunitná odpoveď, v menšej miere B-lymfopénia, defekt terminálnej diferenciácie B-lymfocytov s nízkymi koncentráciami pamäťových prepnutých B-lymfocytov (10, 24). Klinicky významná imunodeficiencia s recidivujúcimi infekciami sa zaznamenala u 15 – 20 % pacientov (25). Klinický fenotyp môže napodobňovať bežnú variabilnú imunodeficienciu (CVID). Preto by genetické vyšetrenie u pacientov s imunodeficienciou charakteru CVID malo zahŕňať aj analýzu génu ADA2, obzvlášť v prípade vaskulopatických prejavov (18, 26, 27).

Klinický obraz môže zriedka imitovať kombinovanú imunodeficienciu s častejšími mykotickými a vírusovými infekciami (28). U pacientov s DADA2 boli zaznamenané aj znížené počty NK-buniek aj T-lymfocytov (24). Lymfopénia sa pozorovala celkovo u 15 % pacientov (10).

Patofyziológia imunodeficiencie pri DADA2 nie je presne známa. Predpokladá sa, že trvalý zápalový stav môže inhibovať diferenciáciu a funkciu B-lymfocytov. V súlade s touto hypotézou Schepp a kol. dokumentovali vzostup sérových koncentrácií IgM po liečbe etanerceptom u jedného pacienta s DADA2 (18).

Hematologické manifestácie

Hypofunkcia kostnej drene, ktorá viedla k erytroidnej, leukopénii/neutropénii a trombocytopénii sa zaznamenala už u prvých pacientov s DADA2 (3). V priebehu ďalších rokov sa medzi najčastejšie hematologické manifestácie zaradila čistá aplázia červených krviniek (pure red cell aplasia – PRCA) alebo obraz podobný Blackfan-Diamondovej anémii (DBA) (19). PRCA je charakterizovaná absenciou prekursorov červených krviniek v kostnej dreni a prejavuje sa normocytovou normochrómnou anémiou s výraznou retikulocytopéniou (29). DBA reprezentuje jednu z vrodených foriem PRCA, ktorá sa zvyčajne manifestuje v ranom detstve makrocytovou/normocytovou normochrómnou anémiou (29, 30).

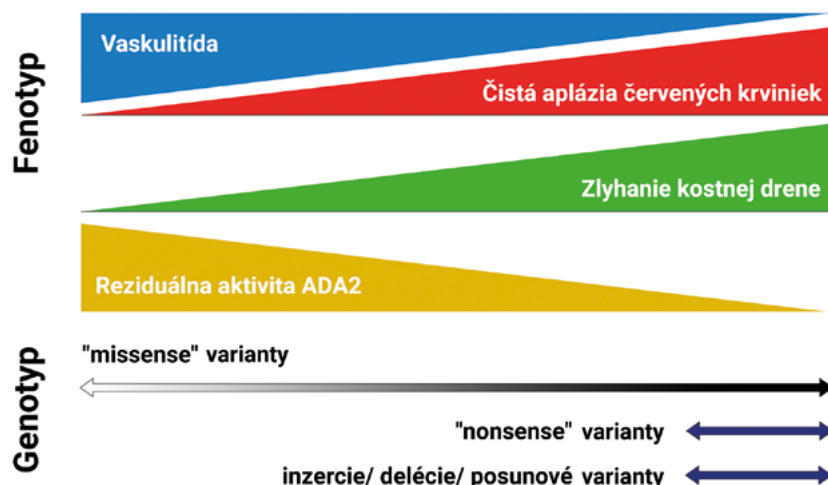
Keďže DADA2 sa ešte donedávna nezvažovala pri poruchách charakteru PRCA/DBA, vo viacerých prípadoch tak pravdepodobne došlo k značnému diagnostickému oneskoreniu, prípadne sa tento súvis ani nerozpoznal (31). Väčšina pacientov s DADA2 s prejavom podobným PRCA/DBA má súčasne aspoň jeden z nasledujúcich imunologických príznakov: benígna lymfoproliferácia (lymfadenopatia, hepatosplenomegália), hypogamaglobulinémia IgM/ IgA/IgG alebo deficiencia B-/CD4+ T-/CD8+ T-lymfocytov alebo NK-buniek, event. aj s prejavom recidivujúcich infekcií. Zriedkavo môže dôjsť aj u týchto pacientov k cievnej mozgovej príhode alebo sa rozvinie livedo racemosa ako vaskulopatický prejav ochorenia (31, 32). Neprítomnosť kongenitálnych malformácií, ktoré sa pozorujú až u cca. 50% pacientov s klasickou formou DBA, by mala viesť k podozreniu na DADA2 (30).

Okrem erytroidnej línie môžu byť postihnuté aj iné zložky kostnej drene v podobe neutropénie, trombocytopénie až pancytopénie. Navyše, u pacientov s DADA2 sa môžu vyskytnúť aj „periférne“ autoimunitné cytopénie, ktoré sa v súčasnosti považujú už za bežný prejav DADA2 (19, 33). Okrem očakávanej erytroidnej hyperplázie s retikulocytózou pri autoimunitnej hemolytickej anémii (AIHA) sa pri DADA2 pozoroval súbežný prejav AIHA a erytroidnej hypoplázie alebo dysplázie (bez retikulocytózy) (34, 35). Ďalšou z primomanifestácií DADA2 môže byť syndróm aktivácie makrofágov/ sekundárna hemofagocytujúca lymfohistiocytóza (MAS/HLH) (32).

Lymfoproliferácia pri DADA2

Benígna lymfoproliferácia manifestujúca sa hepatosplenomegáliou a/alebo lymfadenopatiou je dobre opísaný prejav DADA2, ktorý sa pozoruje približne u tretiny pacientov (19).

Kombinácia benígnej lymfoproliferácie a autoimunitnej cytopénie môže vytvárať obraz podobný autoimúnnemu lymfoproliferatívnemu

Obr. 2. Genotypovo-fenotypové korelácie a enzymatická aktivita ADA2 pri DADA2 (adaptované podľa Lee a kol., 2020 (5))

syndrómu (ALPS) (34, 36, 37). Odlíšenie DADA2 od klasického ALPS môže byť náročné. Pacienti s DADA2 však obvykle nespĺňajú ALPS NIH 2009 kritériá – absentujú relevantné patogénne varianty génov FAS, FASL a CASP10 alebo sú prítomné normálne, resp. nesignifikantne zvýšené koncentrácie dvojito-negatívnych T-lymfocytov a/alebo vitamínu B12 (38). Naopak, prítomnosť vaskulopatie, lymfopénie a hypogamaglobulinémie pri ALPS-fenotype favorizuje diagnózu DADA2 (19).

K malígnej lymfoproliférii alebo k neoplázii dochádza iba veľmi zriedkavo. Doteraz bolo v literatúre opísaných do 10 pacientov s malígnou transformáciou pri DADA2 (T-bunková leukémia z veľkých granulárnych lymfocytov, Hodgkinov lymfóm, kožná forma akútnej myeloblastovej leukémie či difúzny veľkobunkový lymfóm) (19, 22, 24, 39, 40).

Diferenciálna diagnostika

DADA2 sa asocjuje so širokou paletou klinických príznakov. Je preto dôležitou diferenciálnou diagnózou veľmi odlišných klinických prejavov, a to najmä:

- systémových **vaskulitíd/vaskulopatií** (polyarteritis nodosa), ale aj všetkých **cievnych mozgových príhod** v detskom a mladom dospelom veku,
- iných **autoinflamačných ochorení** (monogénové syndrómy periodických horúčok, polygénové autoinflamačné ochorenia),
- **vrodených porúch imunity** (najmä humorálnych imunodeficiencií, vrátane CVID), a imunitných dysregulácií s lymfoprolifériou (ALPS) alebo aktiváciou prirodzenej imunity (MAS/HLH)
- **hematologických porúch** s dysfunkciou kostnej drene (PRCA/DBA), autoimunitných cytopénií a zriedkavo aj hemoblastóz (19).

Genetika

DADA2 je autozómovo recesívne dedičné ochorenie spôsobené bialelickými patogénnymi variantmi v géne ADA2, ktorý kóduje enzým ADA2 (10). Gén ADA2 (v minulosti označovaný CECR1) je lokalizovaný na chromozóme 22q11.1 (11). Doteraz bolo identifikovaných viac ako 100 variantov génu ADA2 asociovaných s DADA2 (19), pričom ich fenotypový prejav zahŕňa široké spektrum, od jedincov asymptomatických až do

dospelosti, až po ťažko postihnutých pacientov so život ohrozujúcimi orgánovými prejavmi (1, 5, 41).

Kauzálné varianty sú spravidla nové alebo už opísané varianty s nízkou alelovou frekvenciou (< 0,001) evidované vo verejných populačných databázach, čo je v súlade s recesívnou dedičnosťou zriedkavých ochorení. Klinický význam nových kandidátnych variantov je potrebné overiť segregačnou analýzou u rodičov, ktorá demonštruje adekvátny dedičný vzorec. Vplyv na funkciu proteínu je nevyhnutné vyhodnotiť stanovením aktivity enzýmu ADA2 (10).

Rodičia pacienta s DADA2 sú typicky bezpríznakoví, nakoľko 50 % normálnej enzymatickej aktivity zabezpečuje dostatočnú funkciu proteínu (10). Súrodencom pacientov s DADA2 je ako potenciálnym prenášačom ochorenia potrebné poskytnúť genetické poradenstvo. Niektorí heterozygotní nosiči patogénnych variantov so zodpovedajúcou zníženou aktivitou enzýmu ADA2, môžu vykazovať mierne alebo neskoro-nastupujúce klinické príznaky (10).

Posúdenie genotypovo-fenotypových korelácií je vzhľadom na veľmi variabilný fenotyp, epigenetické vplyvy, neúplnú penetranciu, environmentálne faktory ovplyvňujúce génovú expresiu, ako aj zloženú heterozygotitu pre dva rôzne varianty, komplikované (16).

Fenotypy s dominujúcou vaskulitídou sú spôsobené najmä missense variantmi s aspoň zostatkovou enzymatickou aktivitou ADA2 (~ 3 %). Na druhej strane, u pacientov s PRCA a zlyhaním kostnej drene sa častejšie vyskytujú nonsense varianty a inzercie/delécie vedúce k úplnej strate funkcie enzýmu, v menšej miere missense varianty spojené s minimálnou reziduálnou aktivitou ADA2 (5) (Obr. 2).

Hoci sa zdá, že niektoré genotypy korelujú s jednou z troch typických fenotypových kategórií, podľa Lee a kol. fenotyp DADA2 predstavuje skôr spektrum príznakov ako jednotlivé odlišné entity. Demonštruje to aj missense variant R169Q, ktorý bol identifikovaný v rámci všetkých fenotypových kategórií (5).

Vzhľadom na frekvenciu alel patogénnych variantov ADA2 možno predpokladať, že DADA2 môže byť oveľa častejšou chorobou, ako sa doposiaľ predpokladalo, a to najmä v špecifických populáciách (10). Nedávna štúdia odhadla frekvenciu nosičov poškodzujúcich variantov génu ADA2, ktoré vedú k menej ako 25 % reziduálnej aktivite enzýmu

ADA2, na minimálně 1 : 236. To zodpovídá očekávané prevalenci ochorenia ~ 1 : 222 000, s odhadovaným celosvetovým výskytom 35 000 jedincov s DADA2 pri aktuálnej svetovej populácii (8, 42). Fínska populácia podľa štatistických výpočtov vykazovala najvyššiu mieru heterozygotných nosičov (1 : 160) s odhadovanou prevalenciou ochorenia ~ 1 : 103 000, a to predovšetkým v dôsledku vysokej alelovej frekvencie variantu R169Q; na druhom mieste boli juhoázijské krajiny. Naopak, africká populácia a aškenázski Židia vykazovali najnižšiu frekvenciu poškodzujúcich variantov génu ADA2 (42).

Diagnostika a skrining DADA2

Diagnózu DADA2 možno určiť stanovením enzymatickej aktivity enzýmu ADA2 v plazme alebo v sére, resp. sekvenovaním génu ADA2. V prípade dostupnosti, je vhodné obe metódy kombinovať, nakoľko každá z nich má svoje výhody aj nevýhody (8).

Enzymatickú aktivitu ADA2 je možné stanoviť spektrofotometricky alebo pomocou kvapalinovej chromatografie – hmotnostnej spektrometrie (LC-MS) zo séra/plazmy/ tkanivovej kultúry alebo zo suchej kvapky krvi (10, 19). Takmer nemerateľné koncentrácie ADA2 sa považujú za diagnostické, zatiaľ čo normálne koncentrácie enzýmu ADA2 diagnózu DADA2 vylučujú. Analýza suchej kvapky krvi sa ukazuje ako rýchla, efektívna a vysoko senzitívna metóda, ktorá môže u pacientov s podozrením na DADA2 slúžiť ako skriningové vyšetrenie pred indikáciou genetického vyšetrenia. Cafaro a kol. dokázali, že aktivita ADA2 zo suchej kvapky krvi bola veľmi nízka ($\leq 0,06$ mU/ml) u všetkých pacientov s geneticky potvrdenou diagnózou DADA2 (43). Nevýhodou ostáva obmedzená dostupnosť vyšetrenia aktivity ADA2 iba vo vybraných výskumných laboratóriách a v nich používané rozdielne jednotky merania a fyziologické rozmedzia (8).

V praxi je aktuálne vyššia dostupnosť genetického vyšetrenia ako stanovenia enzymatickej aktivity. DADA2 sa tak najčastejšie odhalí pri panelovom alebo celoexómovom sekvenovaní novej generácie (NGS), ktoré je tak možné využiť ako prvý krok v prípade nedostupnosti vyšetrenia aktivity ADA2 (44). Pre DADA2 sú diagnostické bi-alelické patogénne alebo pravdepodobne patogénne varianty génu ADA2. V zriedkavých prípadoch však štandardné sekvenčné techniky nezachytia intrónové varianty, zostrihové (splice) varianty a génové štrukturálne varianty (napr. delécie, duplikácie, inverzie) (41). Ak klinicky pretrvávajú podozrenie na DADA2, je potrebné doplniť microarray, kvantitatívnu polymerázovú reťazovú reakciu (qPCR) a/alebo celogenómové sekvenovanie (dostupné vo výskumných podmienkach) (10). Hĺbkové RNA sekvenovanie môže odhaliť nové zostrihové (splice) varianty (41). Funkčné meranie aktivity ADA2 by vždy malo doplniť genetickú analýzu u pacientov s nejednoznačným genotypom (23).

Vzhľadom na pleiotropné prejavy DADA2 sa odporúča zahrnúť gén ADA2 do NGS panelov používaných na diagnostiku zriedkavých hematologických, autoinflamačných, reumatologických ochorení a imunodeficiencií (19).

Terapia

Liečba pacientov s DADA2 primárne závisí od klinického obrazu. Skorá terapia môže zabrániť potenciálne devastujúcim komplikáciám (16).

Imunosupresívna a doplnková liečba

Vysoké dávky kortikosteroidov môžu v akútnej fáze zmierniť zápal, s redukciou dávkovania však často dochádza k vzplanutiam choroby a boli opísané aj steroid-refraktérne priebehy DADA2 (16, 23).

Dostupné retrospektívne štúdie konzistentne preukazujú jednoznačný prínos inhibítorov tumory nekrotizujúceho faktora α (TNF- α), ktoré sú preto terapiou voľby u pacientov s dominujúcim vaskulitickým a zápalovým prejavom (45–47). Inhibícia TNF- α má vysoko protektívny efekt voči ischemickým aj hemoragickým cievnym mozgovým príhodám (8, 47, 48): u 24 pacientov s anamnézou minimálne jednej cievnej mozgovej príhody (76 príhod v priebehu 3 622 paciento-mesiakov pred terapiou) nedošlo na liečbe TNF- α inhibítorom v priebehu 2 027 paciento-mesiakov k vývoju ani jednej ďalšej mozgovej príhody (4). Blokáda TNF- α znižuje aj riziko poškodenia ďalších orgánov v dôsledku vaskulitídy (8).

Aktuálne nie je k dispozícii dostatok údajov, ktoré by preukázali preferenciu konkrétneho TNF- α inhibítora. Najčastejšie sa aplikuje etanercept, ale účinné sú aj monoklonálne protilátky adalimumab alebo infliximab (16, 21, 49), i keď sa najmä v monoterapii spájajú s vyšším rizikom tvorby proti-liekových protilátok (50). Liečba inhibítorom TNF- α nemá vekové obmedzenie a aplikovala sa aj najmladším pacientom s potvrdenou diagnózou DADA2 už od veku 10, resp. 13 mesiacov (4, 51). Inhibítory TNF- α nemajú zjavný vplyv na samotnú aktivitu enzýmu ADA2, a teda neriešia nezápalové komplikácie ochorenia (47). Pre riziko relapsu po ukončení liečby sa aktuálne odporúča dlhodobé až celoživotné užívanie TNF- α inhibítorov, a to najmä u pacientov s vaskulitídou a CNS prejavmi (47).

Otvorenou otázkou ostáva, kedy a či vôbec začať liečiť asymptomatických pacientov. Terapia inhibítormi TNF- α prináša potenciálne riziká plynúce z imunosupresie a dlhotrvajúca liečba môže taktiež viesť k tvorbe protilátok, a tak znížiť účinnosť inhibítora TNF- α (51). Protiargumentom ostáva, že pokiaľ sa bližšie neobjasnia rizikové faktory vzniku cievnych mozgových príhod, je bezpečnejšie liečiť inhibítormi TNF- α všetkých pacientov s potvrdenou diagnózou DADA2, pokiaľ táto liečba nie je kontraindikovaná (4). Tento prístup podporujú aj kazuistiky úspešnej prevencie cievnej mozgovej príhody u liečených asymptomatických súrodencov pacientov s DADA2, u ktorých sa ochorenie potvrdilo biochemicky aj geneticky (52).

V rozvojových krajinách prichádza do úvahy pri liečbe DADA2 aj talidomid, o ktorom je známa jeho anti-TNF aktivita (23). Caorsi a kol. dokumentovali účinnosť talidomidu pri kontrole aktivity ochorenia u 7 pacientov s DADA2. Je však nevyhnutné vziať do úvahy jeho potenciálnu toxicitu, vrátane fetálnej toxicity a periférnej neuropatie (23).

Blokáda IL-6 (tocilizumab) taktiež účinne potláča aktivitu ochorenia; na tejto liečbe však bola zaznamenaná recidíva cievnej mozgovej príhody (46, 53, 54). Naproti tomu, blokáda IL-1 neprinesla významný terapeutický efekt (23, 55). Chorobu modifikujúce anti-reumatické liečivá, menovite azatioprin, cyklosporín A, takrolimus, cyklofosfamid a metotrexát, sa použili u prvých známych prípadov DADA2 iba s malým terapeutickým účinkom (2, 3).

Antiagregačná, antikoagulačná a antitrombotická liečba je vzhľadom na nejasný prínos a potenciálne riziko hemoragickej mozgovej

príhody u pacientov s DADA2 kontroverzná. Nakoľko bola u pacientov s DADA2 zdokumentovaná sekundárna progresia ischemickej cievnej mozgovej príhody do hemoragickej, použitie týchto liečiv sa v súčasnosti neodporúča, resp. by sa takáto liečba mala ukončiť (8).

Liečba imuno-hematologických prejavov

Pacienti s imunologickým alebo hematologickým fenotypom nemusia odpovedať na rovnakú terapiu ako pacienti s vaskulitickým fenotypom (5).

Liečebnou modalitou hypogamaglobulinémie je pravidelná substitúcia imunoglobulínov ako pri iných humorálnych imunodeficienciách, prípadne antibiotická profylaxia (5, 18). Hoci niektoré imunoglobulínové preparáty môžu obsahovať funkčný enzým ADA2, ich použitie nevedlo k zmierneniu iných príznakov ochorenia (26).

Vzhľadom na častú poruchu imunity a užívanie imunosupresívnych liečiv je očkovanie dôležitým preventívnym opatrením u všetkých pacientov s DADA2 (8). Neživé vakcíny možno aplikovať bez ohľadu na podávanú liečbu, pri živých atenuovaných vakcínach existujú isté obmedzenia (napr. biologická liečba, substitúcia imunoglobulínov), a preto je vhodné tieto očkovania realizovať ešte pred začatím danej liečby, ak to stav pacienta umožňuje.

Hematologické prejavy sú zvyčajne refraktérne na glukokortikoidy, použitie iných imunosupresívnych liečiv (azatiopín, mykofenolát-mofetil, cyklosporín A a anti-thymocytárny globulín) vykazovalo variabilnú odpoveď (5, 22, 56). Pri autoimunitných cytopéniách bol dokumentovaný priaznivý efekt rituximabu (57). Mierne hematologické prejavy (napr. lymfopénia) môžu reagovať na inhibítory TNF- α (33, 56), táto liečba však nie je účinná pri závažných hematologických poruchách (napr. zlyhanie kostnej drene vrátane PRCA/DBA) (5, 39).

Transplantácia hematopoetických kmeňových buniek (haematopoietic stem cell transplantation – HSCT) je definitívnou liečbou ťažkých hematologických a imunologických porúch pri DADA2, ale aj vaskulárneho postihnutia refraktérneho voči imunomodulačnej liečbe (8). Úspešnosť HSCT je možné monitorovať pomocou plazmatickej aktivity ADA2, ktorá sa môže obnoviť na normálne hodnoty už 2 týždne po HSCT (39).

Dľa recentných údajov, celkovo 37 pacientov s DADA2 (vrátane 1 slovenského pacienta) podstúpilo v 16 krajinách sveta spolu 47 HSCT (4, 6, 39, 58, 59). Indikáciou HSCT bolo zlyhanie kostnej drene v podobe PRCA, neutropénie alebo pancytopénie, ďalej autoimunitná cytopénia (autoimunitná hemolytická anémia alebo imúnne mediovaná neutropénia v kombinácii s apláziou červených krviniek), imúnna dysregulácia, závažná lymfopénia a malígna lymfoproliferácia (difúzna veľkobunkový lymfóm) (60). Takmer polovica HSCT bola od nepríbuzenských darcov zhodných v HLA systéme. Vo viac ako dvoch tretinách HSCT sa využili myeloablatívne režimy, avšak úspešne sa uplatnili aj režimy s redukovanou intenzitou (60). Všetci pacienti s výnimkou dvoch prežívajú, pričom HSCT viedla k úprave hematologických aj imunologických prejavov u všetkých pacientov (6, 60).

Celkové prežívanie pacientov po transplantácii bolo výborné (> 95 % po 2 rokoch sledovania), niekoľko jedincov však vyžadovalo opakovanú HSCT (6 pacientov jednu retransplantáciu, 2 pacienti dve

retransplantácie). Dominantnou príčinou bolo zlyhanie darcovského štepu. Ešte pred objasnením genetickej podstaty ochorenia sa dvom pacientom neúmyselne transplantoval štep od klinicky zdravého súrodenca, u ktorého sa neskôr potvrdili bialelické patogénne varianty génu ADA2 (39, 60). U ďalších 2 pacientov došlo k tvorbe agregátov CD8+ T-lymfocytov v kostnej dreni s klesajúcim chimérizmom darcovských T-lymfocytov (39). Zaujímavosťou je, že u viacerých pacientov, u ktorých došlo k zlyhaniu štepu, bola indikáciou na HCST imúnne-podmienená neutropénia (4, 39).

Skríning patogénnych variantov génu ADA2 je aktuálne štandardným vyšetrením potenciálnych príbuzenských darcov, v ideálnom prípade by sa taktiež mala vykonať aj enzymatická analýza ADA2 (60). Vzhľadom na autozómovo recesívnu dedičnosť DADA2, je iba zriedka možné nájsť príbuzenských darcov, ktorí nie sú prenášačmi patogénneho variantu. Často sa preto diskutuje otázka, či uprednostniť HLA zhodného nepríbuzenského darcu pred zhodným súrodencom, ktorý nesie jeden patogénny variant. Spomedzi 5 pacientov, ktorí dostali štep od zhodného príbuzenského prenášača, traja darcovský štep plne prihovorili, jeden pacient zomrel bez ďalších známych podrobností a u ďalšieho pacienta došlo k rejekcii štepu s následným plným prihojením nepríbuzenského zhodného štepu pri retransplantácii (6, 60).

Voľba prípravného režimu pred HSCT je ovplyvnená fenotypom ochorenia pacienta a rozsahom orgánového poškodenia. Špecifikom pacientov s DADA2 je hepatálna dysfunkcia, nezriedka prítomná pre preťaženie železom kvôli opakovaným transfúziám už v predtransplantačnom období. Odporúča sa preto použitie menej toxických režimov, ako je nahradenie busulfanu treosulfanom a následne dôkladné monitorovanie možného vzniku venookluzívnej choroby pečene (31, 60). V doteraz publikovaných prípadoch sa najčastejšie použil prípravný režim treosulfan/fludarabin +/- thiotepa so séroterapiou antithymocytárnym globulínom alebo alemtuzumabom. Najmä v skupine DADA2 pacientov s imúnne-podmienenou neutropéniou, ktorí môžu byť náchylnejší na zlyhanie štepu, má použitie séroterapie za účelom robustnej lymfodeplécie pravdepodobne ešte významnejšie postavenie ako samotná myeloablácia. Ďalšou možnosťou ako znížiť riziko zlyhania štepu je využitie periférnych krvotvorných buniek a/alebo štepu s vyššou bunkovitosťou (60).

Odhliadnuc od rôznych modalít HSCT sa ako najdôležitejšia ukazuje skúsenosť tímu v rámci špecializovaného centra pre HSCT a dostupná logistika vrátane rýchlej analýzy chimérizmu. Nemenej podstatné je správne načasovanie HSCT. Tá sa vzhľadom na závažnosť potenciálnych celoživotných následkov, resp. až riziko úmrtia uprednostňuje u pacientov so závažným fenotypom už v ranom veku (60).

Terapeutické vízie

V rámci terapeutických prístupov by sa v budúcnosti mohla uplatniť enzymatická liečba rekombinantným enzýmom ADA2, génová terapia alebo editácia génov (16). Hong a kol. v rámci ex vivo štúdií nedávno ilustrovali úspešné využitie lentivírusového vektora na génový transfer, čo viedlo k obnoveniu produkcie ADA2 (61).

Medzi potenciálne terapeutické ciele patrí aj modulácia adenosínových receptorov, ovplyvnenie adenosín-špecifických NET-óz alebo interakcií medzi mediátormi NET-óz a makrofágmi (15). Recentné štúdie, ktoré hĺbkovo skúmali patofyziologické mechanizmy pri DADA2, poukázali na zvýšenú aktivitu interferónových signálnych dráh typu I aj II, čím nastoľujú otázku potenciálneho terapeutického využitia JAK inhibítorov u pacientov s týmto ochorením (53, 62).

Záver

Od publikovania prvých prípadov DADA2 (2, 3) sa poznatky o tomto zriedkavom ochorení významne rozšírili. Ochorenie sa zvyčajne manifestuje v detstve, ale u 25,4 % pacientov sa prvé príznaky objavujú až po 10. roku života a u 8,5 % dokonca až v dospelosti (63).

Vzhľadom na vysokú fenotypovú variabilitu, ako aj pomerne nedávny opis tejto choroby, ostávajú pacienti s DADA2 často nerozpoznaní, resp. sa môžu skrývať pod inými diagnózami v rôznych pediatrikách, ale aj špecializovaných ambulanciách pre dospelých. Diagnózu DADA2 je potrebné zvážiť u pacientov s rekurentnými horúčkami, kožnými nekrotickými léziami charakteru polyarteritis nodosa a pri livedo racemoso; taktiež u pacientov s hematologickými abnormalitami rezistentnými na liečbu, ako aj s imunologickými zmenami spojenými s kožnou alebo systémovou vaskulitídou (63). Cievná mozgová príhoda môže byť prvým a izolovaným prejavom tohto ochorenia a jej výskyt v detskom veku a u mladých dospelých by mal vždy vzbudiť podozrenie na DADA2 (64). Práve cievné mozgové príhody sa spájajú so závažnou morbiditou a mortalitou.

Včasné stanovenie správnej diagnózy a adekvátnej terapie dokážu zabrániť najzávažnejším neurologickým komplikáciám. Diagnózu je možné potvrdiť stanovením enzymatickej aktivity ADA2 a genetickým vyšetrením. Ideálnou pre budúcnosť sa ukazuje možnosť skríningového vyšetrenia aktivity ADA2 zo suchej kvapky krvi (43), ktorej metodika sa vo viacerých európskych krajinách práve validuje, ale aktuálne ešte v Slovenskej republike ani v Českej republike nie je rutinne dostupná. V našich súčasných podmienkach je najdostupnejšia genetická diagnostika založená na sekvenovaní génu ADA2, ktorú dokážu zabezpečiť pracoviská klinickej genetiky. Ideálne však je, ak sa klinické hodnotenie a genetická analýza pacienta

Tab. 1. Pracoviská s expertízou pre autoinflamačné ochorenia v Českej republike a na Slovensku

Česká republika	Centrum vysoce specializované péče pro vzácná dětská revmatická a autoinflammatorní onemocnění ERN RITA, Klinika pediatrie a dědičných poruch metabolismu, Ke Karlovu 2, 128 08 Praha 2 (Tel.: +420 224 967 770, pavla.dolezalova@vfn.cz)
	Ústav lékařské imunologie 2. LF a FN Motol, V Úvalu 84 150 06 Praha 5 – člen ERN RITA Ambulance pro dospělé pacienty (Tel: +420 224 435 983, e-mail: dospela.imunologie@fnmotol.cz) Ambulance pro dětské pacienty (Tel: +420 224 433 737 E-mail: detska.ambulance@fnmotol.cz)
Slovenská republika	Reumatologická a/alebo Imunologická ambulancia, Detská klinika LFUK – člen ERN RITA, Národný ústav detských chorôb (NÚDCH), Limbová 1, 833 40 Bratislava (Tel: +421 2 59371 577, +421 2 59371 104, e-mail: reuma@nudch.eu)
	Centrum pre periodické horúčky/Centrum pre vrodené poruchy imunity, Klinika detí a dorastu JLFUK, Univerzitná nemocnica Martin, Kollárova 2, 036 59 Martin (Tel: +421 43 4203 305, +421 43 4203 684, e-mail: deti@jfmmed.uniba.sk)

s podozrením na DADA2 uskutočňujú na pracoviskách so skúsenosťami s diagnostikou a liečbou autoinflamačných ochorení (Tab. 1).

TNFA-inhibícia je terapeutickou metódou prvej voľby, nakoľko preukázala vysokú účinnosť pri prevencii cievnych mozgových príhod (4). V prípade závažných hematologických a imunologických prejavov je však nedostatočná; tieto komplikácie je potrebné riešiť transplantáciou hematopoetických kmeňových buniek, ktorá značne zlepšuje prognózu pacientov a zvyšuje ich kvalitu života (60). Podľa klinických prejavov pacienta je liečba v kompetencii reumatológa a/alebo imunológa, vzhľadom na variabilitu klinických prejavov však ideálne na pracoviskách s možnosťou úzkej spolupráce oboch odborov.

V rámci postihnutých rodín je dôležité realizovať vyšetrenia s cieľom odhaliť najmä asymptomatických jedincov s bielikými patogénnymi variantmi, ktorým je potrebné ponúknuť efektívnu liečbu za účelom prevencie komplikácií (52).

PROHLÁŠENÍ AUTORŮ: Prohlášení o původnosti: Publikace byla zpracována s využitím uvedené literatury a nebyla publikována ani zaslána k recenznímu řízení do jiného média. **Střet zájmů:** Žádný. **Financování:** Ne. **Registrace v databázích:** N/A. **Projednání etickou komisí:** N/A.

LITERATÚRA

- Escherich C, Bötticher B, Harmsen S, et al. The Growing Spectrum of DADA2 Manifestations—Diagnostic and Therapeutic Challenges Revisited. *Front Pediatr.* 2022;10:885893.
- Navon Elkan P, Pierce SB, Segel R, et al. Mutant adenosine deaminase 2 in a polyarteritis nodosa vasculopathy. *N Engl J Med.* 2014;370(10):921-31.
- Zhou Q, Yang D, Ombrello AK, et al. Early-onset stroke and vasculopathy associated with mutations in ADA2. *N Engl J Med.* 2014;370(10):911-20.
- Barron KS, Aksentijevich I, Deutch NT, et al. The Spectrum of the Deficiency of Adenosine Deaminase 2: An Observational Analysis of a 60 Patient Cohort. *Front Immunol.* 2021;12:811473.
- Lee PY, Kellner ES, Huang Y, et al. Genotype and functional correlates of disease phenotype in deficiency of adenosine deaminase 2 (DADA2). *J Allergy Clin Immunol.* 2020;145(6):1664-1672.e10.
- Balažiová B, Čížnár P, Pozdechová M, et al. Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) – prvé skúsenosti na Slovensku: kazuistiky. *Vnitř Lék.* 2024;70(4):246-254.
- Sahin S, Adrovic A, Kasapcopur O. A monogenic autoinflammatory disease with fatal vasculitis: deficiency of adenosine deaminase 2. *Curr Opin Rheumatol.* 2020;32(1):3-14.
- Lee PY, Davidson BA, Abraham RS, et al. Evaluation and Management of Deficiency of Adenosine Deaminase 2: An International Consensus Statement. *JAMA Netw Open.* 2023;6(5):e2315894.
- Buckley RH. Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annu Rev Immunol.* 2004;22:625-55.
- Meyts I, Aksentijevich I. Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2): Updates on the Phenotype, Genetics, Pathogenesis, and Treatment. *J Clin Immunol.* 2018;38(5):569.
- Zavialov AV, Engström A. Human ADA2 belongs to a new family of growth factors with adenosine deaminase activity. *Biochem J.* 2005;391(Pt 1):51-7.

Další literatura u autorů
a na www.casopisvnitrnilekarstvi.cz