

# Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) – prvé skúsenosti na Slovensku: kazuistiky

**Barbora Balažiová<sup>1</sup>, Peter Čižnár<sup>1</sup>, Miroslava Pozdechová<sup>2</sup>, Dušana Genšor<sup>3</sup>, Viktória Halušková<sup>4</sup>, Ivana Hulínková<sup>1</sup>, Peter Švec<sup>2</sup>, Miloš Jeseňák<sup>3</sup>, Hana Grombiříková<sup>5</sup>, Tomáš Freiburger<sup>5</sup>, Eva Froňková<sup>6</sup>, Giorgia Bucciol<sup>7</sup>, Isabelle Meyts<sup>7</sup>, Tomáš Dallos<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup>Transplantačná jednotka kostnej drene Kliniky detskej hematológie a onkológie LF UK a NÚDCH, Bratislava,

<sup>3</sup>Klinika detí a dorastu a Klinika pneumológie a ftizeológie, Jesseniova lekárska fakulta v Martine, Univerzita Komenského v Bratislave, Univerzitná nemocnica Martin, Oddelenie klinickej imunológie a alergológie, Univerzitná nemocnica Martin

<sup>4</sup>Oddelenie detskej onkológie a hematológie Detskej fakultnej nemocnice Košice

<sup>5</sup>Genetická laboratoň Centra kardiovaskulárnej a transplantačnej chirurgie, Brno, Ústav klinickej imunologie a alergologie Lékařské fakulty Masarykovy univerzity, Brno

<sup>6</sup>Klinika detskej hematologie a onkologie 2. lékařské fakulty Univerzity Karlovy a Fakultní nemocnice v Motole, Praha

<sup>7</sup>Laboratory of Inborn Errors of Immunity, Department of Microbiology, Immunology and Transplantation, KU Leuven, Leuven, Belgicko

Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) je autoinflamačné ochorenie, ktoré bolo identifikované v roku 2014 ako monogénová príčina systémovej vaskulitídy charakteru polyarteritis nodosa, s prejavom febrilít, livedo racemosa, periférnych nekróz a skorého vzniku cievnych mozgových príhod. Za ostatných 10 rokov sa poznanie o fenotypovom spektre DADA2 značne rozšírilo. 378 prípadov doposiaľ publikovaných v svetovej literatúre radí DADA2 k zriedkavým ochoreniam, ale reprezentujú iba zlomok z celosvetovo odhadovaných 35 000 postihnutých jedincov (odhadovaná prevalencia ~ 1 : 222 000). Predstavujeme kazuistiky prvých 3 slovenských pacientov s geneticky aj laboratórne potvrdeným ochorením DADA2. Ilustrujú 3 krajné fenotypy tejto choroby – inflamatórne-vaskulopatický, imunodeficientný a hematologický, ktoré sa v niektorých charakteristikách prelínajú. Naša skúsenosť potvrdzuje nutnosť interdisciplinárnej starostlivosti a multimodálnej liečby tohto ochorenia. Vzhľadom na veľmi heterogénny klinický obraz je dôležité zvyšovať povedomie o DADA2, keďže aj v našej populácii je možné predpokladať výskyt doposiaľ nediagnostikovaných pacientov.

**Kľúčová slová:** deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2), vaskulopatia, imunodeficiencia, čistá aplázia červených krviniek (pure red cell aplasia – PRCA).

## Deficiency of adenosine deaminase type 2 (DADA2) – first experiences in Slovakia: case reports

Deficiency of adenosine deaminase type 2 (DADA2) is an autoinflammatory disease identified in 2014 as a monogenic cause of systemic vasculitis resembling polyarteritis nodosa, with fever, livedo racemosa, peripheral necrosis, and early-onset stroke. Over the past 10 years, the knowledge of the phenotypic spectrum of DADA2 has expanded considerably. With 378 cases

published so far in the world literature, DADA2 is considered a rare disease, but known cases represent only a fraction of the estimated 35,000 affected individuals worldwide (estimated prevalence ~ 1:222 000).

We present the first 3 Slovak patients with genetically and biochemically confirmed DADA2. They illustrate 3 very distinct phenotypes of this disease – inflammatory-vasculopathic, immunodeficient and haematological that overlap in some characteristics. Our experience confirms the need for interdisciplinary care and multimodal treatment of this disease. Given the very heterogeneous clinical picture, it is important to raise awareness of DADA2, as more undiagnosed patients can be expected in our population.

**Key words:** deficiency of adenosine deaminase type 2 (DADA2), vasculopathy, immunodeficiency, pure red cell aplasia (PRCA).

## Úvod

Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) je nedávno rozpoznané, autoinflamačné, monogénovo-podmienené ochorenie s autózomovo recesívnou dedičnosťou (1). Vzniká v dôsledku biálelických variantov génu ADA2, ktoré vedú k redukcii až úplnej deficiencii aktivity enzýmu adenosín-deamináza 2 (ADA2) (2, 3). Prejavuje sa veľmi variabilným klinickým obrazom s 3 krajnými klinickými fenotypmi – inflamatórne-vaskulopatickým, imunodeficientným a hematologickým (4, 5). Spektrum príznakov sa môže u postihnutých jedincov značne prelínať (6).

DADA2 sa zvyčajne manifestuje v detstve. K prvým prejavom ochorenia však ojedinele môže dôjsť aj v dospelosti. Spomedzi 378 v literatúre zdokumentovaných prípadov sa 8,5 % pacientov manifestovalo po 18. roku života. Najstarším pacientom bol 59-ročný muž, u ktorého sa ochorenie prejavilo kožnými ulceráciami na dolných končatinách (7).

Vzhľadom na raritný výskyt a rôznorodé klinické prejavy ostáva toto ochorenie často dlho nerozpoznané. Pacienti s DADA2 tak môžu byť sledovaní s inými podobnými diagnózami v rôznych špecializovaných ambulanciách pre deti aj dospelých.

Výskyt DADA2 na území Slovenska nebol doposiaľ opísaný. V tejto práci prezentujeme kazuistiky prvých troch slovenských pacientov, u ktorých sa vďaka medziodborovej spolupráci potvrdila diagnóza DADA2, čo bolo predpokladom adekvátnej liečby a kľúčom k zlepšeniu ich prognózy a kvality života. Ich individuálne príbehy zdôrazňujú potrebu zvážiť diagnózu DADA2 v rámci diferenciálnej diagnostiky rôznych hematologických, imunologických, reumatologických, neurologických, ale aj iných ochorení.

## Kazuistiky

U prvých troch slovenských pacientov sa ochorenie manifestovalo odlišným, ale zároveň typickým fenotypom pre DADA2. U každého pacienta vyslovil podozrenie na toto ochorenie iný špecialista, a tiež sa uplatnili rozdielne terapeutické prístupy špecifické pre daný klinický a laboratórny obraz ochorenia. U každého pacienta išlo o prvý výskyt ochorenia v rodine bez známej konsangvinity. Demografické a klinické údaje pacientov uvádzame v tabuľke 1.

### Kazuistika 1 (inflamatórne-vaskulopatický fenotyp)

Dievča s fyziologickou perinatálnou anamnézou a primeraným psychomotorickým vývojom bolo prvýkrát hospitalizované pre autoimunitnú hemolytickú anémiu ťažkého stupňa (Hb 64 g/l) s viazanou polyšpecifickou anti-erytrocytovou protilátkou vo veku 8 mesiacov.

Liečba systémovými kortikosteroidmi viedla k promptnej úprave anémie a ústupu klinických ťažkostí. Po ukončení kortikoterapie (11. mesiac života) sa objavil generalizovaný makulo-papulózny exantém (Obr. 1), ktorý dermatológ hodnotil ako polymorfo-nodulárnu vaskulitídu. Za účelom bližšej diagnostiky bolo odporúčané histologické vyšetrenie kože, s ktorým rodičia nesúhlasili. Kožné prejavy pretrvávali počas ďalších 10 mesiacov a opakovane recidivovali po ukončení systémovej kortikoterapie.

V 21. mesiaci života sa k exantému pridružila bolesť dlaní a plosiek nôh, pre ktoré dieťa odmietalo chodiť. Súčasne sa potvrdila trvalo zvýšená zápalová aktivita (CRP 50 – 80 mg/l) bez klinických a laboratórnych známk infekcie.

Pacientka bola v 23. mesiaci života hospitalizovaná na ďalšom pediatrickom pracovisku pre intermitentné febrility do 38,5 °C a progresiu bolestí akier spolu so zvýraznením exantému, ktorý nadobudol livedoidný charakter a neskôr bol hodnotený ako livedo racemosa (Obr. 1). Klinicky bola prítomná mierna splenomegália, nález na periférnych kĺboch bol v tom čase detským reumatológom hodnotený ako možná frustná polyartritída. Laboratórne sa zaznamenal ďalší vzostup zápalových parametrov (CRP 109 mg/l), ktoré nereagovali na antibiotickú liečbu. Vzhľadom na febrility, predpokladanú polyartritídu, splenomegáliu a pretrvávajúci systémový zápal bez iného vysvetlenia reumatológ stav hodnotil ako systémovú juvenilnú idiopatickú artritídu (SJIA) a indikoval pulznú intravenóznú terapiu metylprednizolónom a následne pokračujúcu perorálnu kortikoterapiu a antireumatickú liečbu metotrexátom. Po úvodnej dobrej terapeutickej odpovedi došlo pri redukcii dávky kortikoidov opätovne k zvýrazneniu systémového zápalu, ktorý pretrvával aj po zmene antireumatickej liečby na cyklosporín A. Pre netypický priebeh a nedostatočnú odpoveď na liečbu bolo indikované molekulovo-genetické vyšetrenie s podozrením na možnú monogénovo-podmienенú imúnnu dysreguláciu.

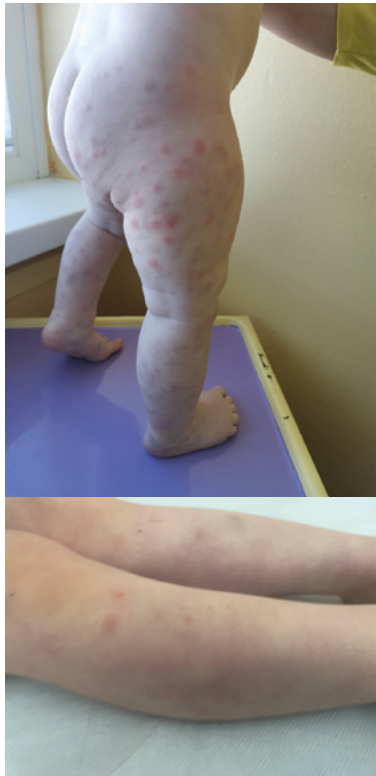
V 28. mesiaci života bolo dieťa s pokračujúcimi intermitentnými subfebrilitami až febrilitami odoslané na hospitalizáciu na ďalšie pracovisko. Napriek pretrvávajúcim bolestiam nebola artritída klinicky ani sonograficky zjavná, akrálne artralgie neurológ prehodnotil ako dysestézie, resp. hyperpatické taktilné reakcie pri pravdepodobnej periférnej neuropatii. Laboratórne pretrvával systémový zápal (CRP 75 mg/l, sérový amyloid – SAA 341 mg/l). Doplnené diferenciálno-diagnostické vyšetrenia boli bez klinicky významných odchýlok (imunofenotypizácia leukocytov periférnej krvi, sonografia brušných orgánov, kardiologický, oftalmologický a ORL nález vrátane vyšetrenia sluchu). Zhodnotením

**Tab. 1.** Charakteristika pacientov s DADA2 (fenotyp, genotyp, enzymatická aktivita enzýmu ADA2 a terapia)

		Pacient 1	Pacient 2	Pacient 3	
POHLAVIE		žena	muž	muž	
DOMINANTNÝ FENOTYP		INFLAMATÓRNE-VASKULOPATICKÝ	IMUNODEFICIENTNÝ (CVID-like)	HEMATOLOGICKÝ (PRCA)	
PRVÉ PREJAVY	klinika	autoimúnná hemolytická anémia	akútna neurologická symptomatológia	kritická anémia so šokovým stavom	
	vek	8 mesiacov	4,4 roka	6 týždňov	
FENOTYP‡	inflatatórne- -vaskulopatický	febrility (do 38,5 °C) systémový zápal (CRP 50 – 109 mg/l) multiformný erytém/livedo racemosa periférna neuropatia artralgie	subfebrility – febrility (37,5 – 38 °C) systémový zápal (CRP 23 – 63 mg/l) livedo racemosa	—	
	imuno-defici- entný	porucha diferenciácie B-lymfocytov s deficitom pamäťových B-lymfocytov	intratekálna reaktivácia VZV s akútnou neurologickou symptomatológiou‡ B-lymfopénia panhypogamaglobulinémia porucha protilátkovej imunity porucha diferenciácie B-lymfocytov s absenciou pamäťových B-lymfocytov ekzém	porucha diferenciácie lymfocytov s deficitom pamäťových B- aj T-lymfocytov	
	hematologický	autoimúnná hemolytická anémia‡ mierna splenomegália	generalizovaná lymfadenopatia splenomegália	čistá aplázia červených krviniek (PRCA) autoimúnná hemolytická anémia	
POTVRDENIE DIAGNÓZY – vek		2,3 roka	5,8 roka	7 mesiacov	
GENOTYP	klinický význam‡	c.140G>C(p.Gly47Ala) (8)	trieda 5	c.1196G>A(p.Trp399*) (11)	trieda 4
		c.881+1G>C	nový variant	c.505C>T(p.Arg169Trp) (10)	trieda 4
AKTIVITA ENZÝMU ADA2		-1U/L (absentujúca)	3,1 U/L (veľmi nízka)	-11,2 U/L (absentujúca)	
EFEKTÍVNA TERAPIA		inhibícia TNF-α (etanercept)	substitúcia IVIG inhibícia TNF-α (etanercept)	transplantácia hematopoetických kmeňových buniek	

ADA2 – enzým adeno­zín-deamináza 2, CVID – bežná variabilná imunodeficiencia, PRCA – „pure red cell aplasia“, čistá aplázia červených krviniek, CRP – C-reaktívny proteín, VZV – varicella zoster vírus, TNF-α – tumor nekrotizujúci faktor-α, IVIG – intravenózne imunoglobulíny. \*delenie fenotypových prejavov adaptované podľa Ken­dall a kol., 2020 (25), †klinický prejav prítomný iba v čase manifestácie, ‡predpokladaný klinický význam genetických variantov podľa ClinVar/Infevers: trieda 5 = pato­génny, trieda 4 = pravdepodobne patogénny, trieda 3 = nejasného významu, trieda 2 = pravdepodobne benigný, trieda 1 = benigný

**Ob­r. 1.** Multiformný erytém a livedo racemosa – obraz kožnej vaskulitídy pri DADA2 u pacientky 1



dovtedajšieho priebehu, klinického obrazu a laboratórnych vyšetrení druhý detský reumatológ diagnózu sJIA u pacientky nepotvrdil a vyslovil klinické podozrenie na DADA2.

Molekulovo-genetická analýza (NGS) identifikovala jeden pato­génny missense variant génu ADA2 c.140G>C(p.Gly47Ala) (8). Pre auto­zómovo recesívnu dedičnosť DADA2 bola pacientka zhodnotená ako nosička jednej patologickej alely. Na základe pretrvávajúceho klinického podozrenia bola indikovaná rozšírená bioinformatická analýza, ktorá odhalila druhý, dovtedy neznámy variant génu ADA2 (c.881+1G>C). Uvedený nový variant bol softvérovo predikovaný ako poškodzujúci mechanizmom zníženia efektivity splicingu génu (o 89 %). Segregačná analýza rodičov potvrdila bialelickú distribúciu variantov. Diagnóza a kauzalita novozisteného variantu bola definitívne potvrdená vyše­trením enzymatickej aktivity enzýmu ADA2, ktorá u pacientky úplne absentovala (-1 U/L).

Za účelom komplexného zhodnotenia ďalších možných feno­typových prejavov pri DADA2 sa realizovali doplnkové vyšetrenia. MRI mozgu nepreukázalo známky prekonanej kliniky nemej cievnej mozgovej príhody. Rozšírený imunologický profil odhalil miernu poru­chu protilátkovej imunity s deficitom pamäťových B-lymfocytov, bez celkovej lymfopénie alebo hypogamaglobulinémie. Klinicky sa však zaznamenal častejší výskyt respiračných infekcií. Zachytený bol taktiež zvýšený podiel CD21low B-buniek.

U pacientky bola indikovaná liečba inhibítorom tumory nekrotizujúceho faktora  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) – etanercept, ktorá už v priebehu 2 mesiacov viedla ku kompletnej úprave zápalových parametrov a regresii vaskulitických prejavov. Po 5 mesiacoch biologickej liečby bolo možné úplné vysadenie kortikoterapie. V priebehu 20 mesiacov liečby bolo dieťa okrem pretrvávajúceho mierneho livedo racemosa bez klinických ťažkostí a nedošlo k vývoju náhlejšej mozgovej príhody.

## Kazuistika 2 (imunodeficientný CVID-like fenotyp)

4,5-ročný chlapec bol akútne hospitalizovaný pre náhly vznik diplopie a poruchy stability. Jeho osobná a rodinná anamnéza boli bez pozoruhodností, za ostatné 4 týždne nemal vážnejší úraz, nebol chorý ani očkovaný. Pred rokom prekonal ovčie kiahne s dominantným kožným prejavom v tvári a na očných mihalniciach. Pri prijíme na hospitalizáciu bol afebrilný, v neurologickom náleze dominoval konvergentný strabizmus, mióza, pravostranný nystagmus s úklonom hlavy doprava. Neurológ stav hodnotil ako paleocerebelárny syndróm s poruchou okulomotoriky aj s centrálnou léziou nervus facialis a nervus hypoglossus vpravo. Laboratórne bola zistená hranične zvýšená zápalová aktivita (CRP 11 mg/l), mierna lymfopénia ( $1,2 \times 10^9/l$ ) bez celkovej leukopénie a prechodná trombocytopenia ľahkého stupňa ( $114 \times 10^9/l$ ). CT mozgu bolo bez nálezu štrukturálnych zmien, ale MRI vyšetrenie odhalilo akútnu mezeencefalickú léziu veľkosti  $6 \times 7 \times 7$  mm parasagitálne vľavo nešpecifického obrazu (Obr. 2), ktorej lokalizácii zodpovedala neurologická symptomatológia. Likvor bol biochemicky negatívny s fyziologickou oligocytózou, nebola prítomná intratekálna oligoklonálna syntéza ani protilátky špecifické pre autoimunitné encefalitídy. U pacienta bola indikovaná pulzná liečba metylprednizolónom s následným prechodom na perorálnu kortikoterapiu. Serologický nález pozitívnej autochtónnej produkcie anti-VZV IgG protilátok v likvore potvrdil intratekálnu reaktiváciu varicella-zoster vírusu, do liečby sa pridal intravenózný acyklovir. Neurologický status sa na liečbe promptne upravil, terapia sa po 2 týždňoch ukončila a na kontrolnom MRI s odstupom 5 mesiacov sa mezeencefalická lézia už nezobrazila.

Po ukončení kortikoterapie sa však u pacienta začali objavovať nepravidelné subfebrility až febrility do  $38^\circ\text{C}$  s trvalo zvýšenou zápalovou aktivitou (CRP 53 – 63 mg/l). V klinickom obraze bola prítomná splenomegália, generalizovaná lymfadenopatia a mierne livedo racemosa. Zvýšená zápalová aktivita pretrvávala aj po empirickom preliečení antibiotikami. V imunologickom profile sa zistila porucha imunity podobná bežnej variabilnej imunodeficiencii (CVID-like) s nálezom B-lymfopénie ( $0,04 \times 10^9/l$ ) a miernej pan-hypogamaglobulinémie (IgG 4,1 g/l, IgM 0,21 g/l, IgA 0,23 g/l) s poruchou protilátkovej imunity. Imunofenotypizácia lymfocytov preukázala poruchu diferenciácie B-lymfocytov s absenciou pamäťových B-lymfocytov. Taktiež sa zachytil zvýšený podiel špecifickej populácie CD21low B-buniek. Imunológ u pacienta začal pravidelnú substitúciu imunoglobulínov, ale súčasne indikoval molekulovo-genetické vyšetrenie panelu génov asociovaných s imunodeficienciou.

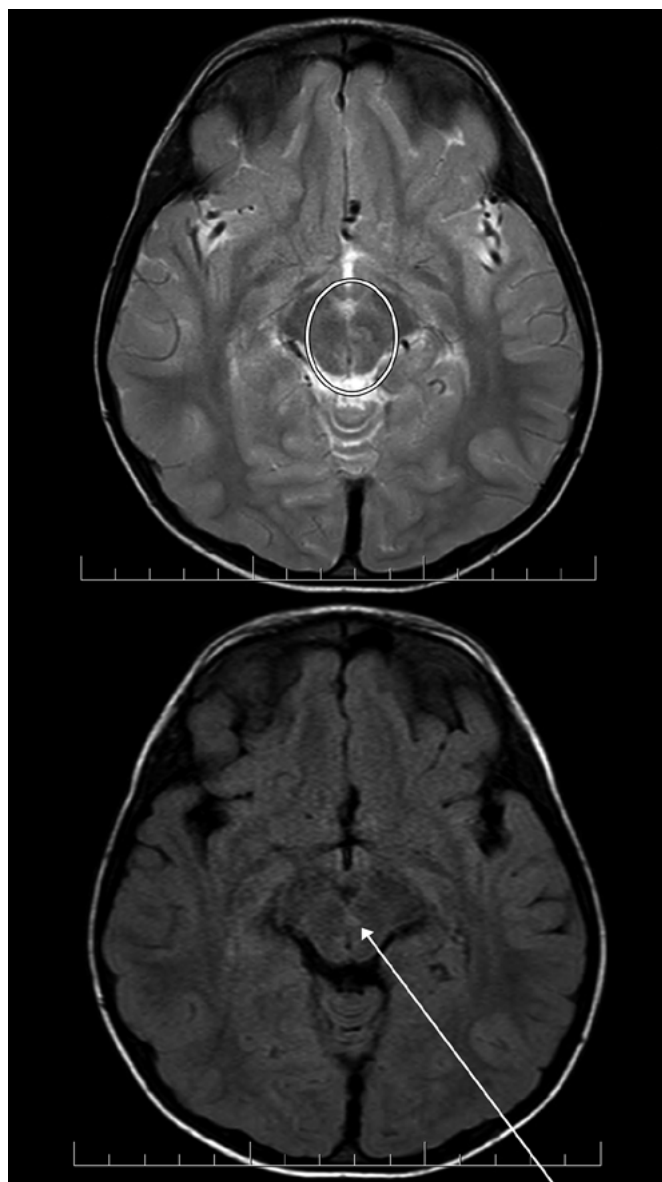
Napriek uvedenej liečbe febrility a systémový zápal pretrvávali. V rámci ďalšej diferenciálnej diagnostiky sa zrealizovala séria vyšetrení

(široké mikrobiologické analýzy, ORL a stomatologické vyšetrenie, biopsia kostnej drene a kontrolná lumbálna punkcia, PET-CT), ktoré nepotvrdili infekčný fokus ani malígny proces. CT-vyšetrenie brucha zobrazilo zväčšenú slezinu (+5 cm) s viacerými drobnými hypodenznými ložiskami charakteru možných septických embolizácií. Negatívne echokardiografické vyšetrenie spolu s opakovane sterilnými hemokultúrami vylúčili infekčnú endokarditídu.

Pacient bol s pretrvávajúcim systémovým zápalom (CRP 23 – 49 mg/l, sérový amyloid – SAA 59 – 188 mg/l) ďalej sledovaný imunológom. Na pravidelnej substitúcii imunoglobulínov bol v ďalšom priebehu afebrilný, klinicky asymptomatický (s výnimkou ekzému na koži), bez zvýšenej chorobnosti.

Molekulovo-genetické vyšetrenie identifikovalo 2 varianty génu ADA2 v heterozygotnom postavení: missense patogénny variant c.506G>A(p.Arg169Gln) (9) a druhý, v tom čase neznámy variant c.505C>T(p.Arg169Trp) (10), ktorý bol podľa ACMG kritérií (11) hodnotený

**Obr. 2.** Akútna mezeencefalická lézia (vľavo MRI T2-váženie – lézia s diskretným zvýšeným signálom, vpravo difúziou vážené MRI zobrazenie – DWI – lézia s reštrikciou difúzie) – primomanifestácia DADA2 u pacienta 2





ako pravdepodobne patogénny. Enzymatická analýza verifikovala veľmi nízku aktivitu enzýmu ADA2 (3,1 U/L), čím sa potvrdila diagnóza DADA2, ako aj kauzalita nového variantu.

U pacienta bola vzhľadom na pretrvávajúci systémový zápal a súčasne aj ako prevencia vývoja cievnych mozgových príhod indikovaná imunosupresívna liečba TNF- $\alpha$  inhibítorom (etanercept). Už po mesiaci biologickej liečby sa zápalové parametre upravili do normy, pacient vzhľadom na dokázanú humorálnu imunodeficienciu pokračoval v pravidelnej substitúcii imunoglobulínov. V priebehu nasledujúcich 4 rokov bol na liečbe TNF- $\alpha$  inhibítorom klinicky bez ťažkostí, nedošlo k vývoju cievnej mozgovej príhody, imunodeficiencia v dôsledku poruchy diferenciácie B-lymfocytov pretrváva.

### Kazuistika 3 (hematologický fenotyp)

Šesťtýždňový chlapec bol akútne hospitalizovaný pre poruchu vedomia (GCS 10 bodov). Išlo o 3. dieťa z 3. fyziologickej gravidity, narodené v termíne, sekciou pre nepostupujúci pôrod, s dobrou popôrodnou adaptáciou. Pri prijíme bolo dieťa chabé, výrazne bledé, tachykardické, tachypnoické, hyposaturované (saturácie O<sub>2</sub> 82 – 85 %), postonkávalo. Klinicky nebola prítomná horúčka ani iné známky infekcie, dieťa nemalo krvácavé prejavy. Fyziognomicky nevykazovalo známky syndromologickej stigmatizácie.

Laboratórne sa zaznamenala kritická normocytová normochrómna anémia (Hb 18 g/l, HtK 0,05 %, Ery 0,51  $\times 10^{12}/l$ ) pri retikulocytopenii, neboli prítomné prejavy hemolýzy, Coombsove testy boli negatívne. Ostatné krvné línie boli vo fyziologickom rozmedzí, leukogram bez neutropénie. V rámci biochemickej analýzy dominoval rozvrat vnútorného prostredia s ťažkou laktátovou acidózou (pH 7,24, laktát 9,8 mmol/l), hyperglykémiou, hepatopatiou, azotémiou a s hypokoagulačným stavom. Echokardiografické vyšetrenie preukázalo dilatáciu ľavej komory srdca. Úvodne bola dieťaťu podaná objemová resuscitácia fyziologickým roztokom, následne transfúzia erytrocytov (0 RhD negat.) a aplikovaná oxygénoterapia. Vzhľadom na šokový stav, respiračné a metabolické zlyhávajúce spolu s obrazom ľavostrannej kardiálnej dekompenzácie bolo dieťa umiestnené na jednotku intenzívnej starostlivosti, kde mu bola podaná druhá transfúzia erytrocytov. Klinický stav ako aj laboratórne parametre pacienta sa po hemosubstitúcii v priebehu niekoľkých dní upravili.

Pre úvodnú metabolickú dekompenzáciu bol konzultovaný metabológ, ktorý vyhodnotil laboratórny rozvrat ako dôsledok tkanivovej hypoxie organizmu pri extrémne ťažkej anémii. Po stabilizácii stavu sa zrealizovalo vyšetrenie kostnej drene, ktoré potvrdilo absenciu erytropoézy, pri fyziologickom vývoji ostatných krvných zložiek a mierne stimulovanej granulopoéze (Obr. 3). Vzhľadom na izolovanú apláziu červených krviniek, vysoké koncentrácie feritínu a erytropoetínu hematológ vyjadril podozrenie na Blackfan-Diamondovu anémiu (DBA); nebola však prítomná typická kraniofaciálna dysmorfia, abnormity palca či urogenitálneho traktu. Molekulovo-genetické vyšetrenie diagnózu DBA nepotvrdilo, hematológ preto indikoval rozšírenie analýzy na NGS panel génov asociovaných s vrodenými poruchami kostnej drene.

Pacient v ďalšom priebehu vyžadoval opakované transfúzie erytrocytov s postupne sa skracujúcimi intervalmi medzi podaniami (až 6

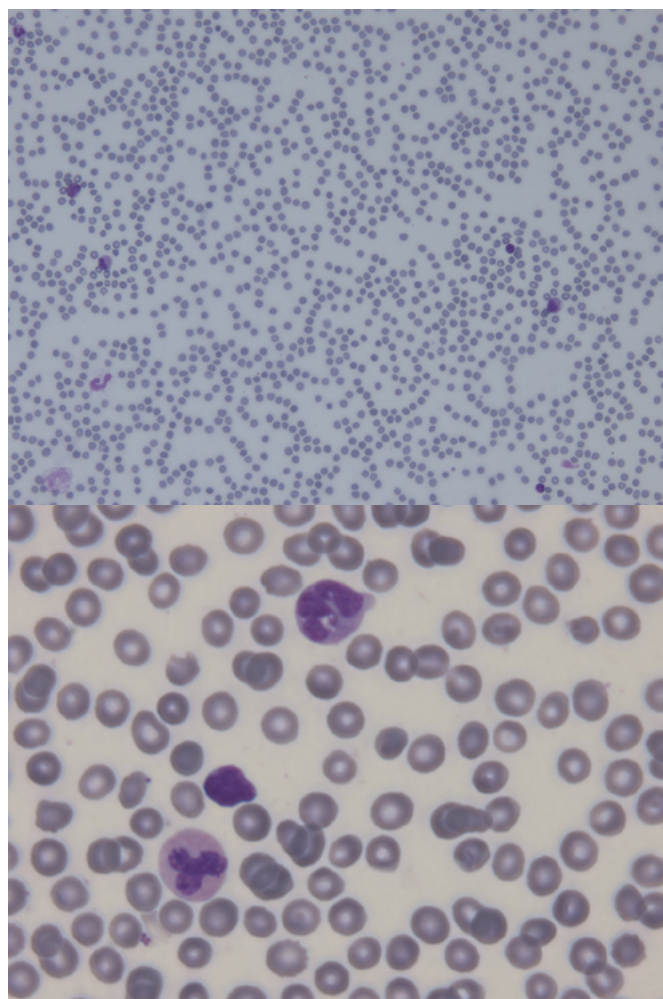
týždňov až na 2 – 3 týždne). V dôsledku preťaženia železom sa aj napriek doplnkovej chelatačnej liečbe postupne vyvíjala sekundárna hyperferitinémia, mierna hepatopatia a nefropatia. Priebeh ochorenia bol hodnotený ako refraktérny.

Vo veku 7 mesiacov pacienta bol doručený výsledok molekulovo-genetickej analýzy, ktorá odhalila homozygotne prítomný pravdepodobne patogénny variant génu ADA2 – c.1196G>A(p.Trp399\*) (12). Absentujúca aktivita enzýmu ADA2 (-11,2 U/L) potvrdila diagnózu DADA2 s fenotypom zlyhania kostnej drene v podobe čistej aplázie červených krviniek.

V rámci prešetrenia fenotypového spektra pri DADA2 sa realizovali ďalšie ciele vyšetrenia: v imunologickom profile sa zaznamenala porucha diferenciácie lymfocytov (deficit pamäťových B- aj T-lymfocytov pri zvýšenom podiele naivných B-lymfocytov) bez celkovej lymfopénie. Tranzitná mierna hypogamaglobulinémia (IgG 3,58 g/l v 11. mesiaci života) sa neskôr spontánne upravila. Pacient nemal známky vaskulopatie, MR-AG vyšetrenie mozgu nevykazovalo známky vaskulitídy veľkých ciev CNS.

Vzhľadom na potvrdenú diagnózu DADA2 bola imunológom indikovaná imunosupresívna liečba TNF- $\alpha$  inhibítorom (etanercept). Tá však podľa očakávania nevedla k zlepšeniu hematologických param-

**Obr. 3.** Čistá aplázia červených krviniek – najčastejší hematologický prejav pri DADA2 (cytomorfologický obraz hypocelulárnej kostnej drene s absenciou prekursorov erytropoézy u pacienta 3 – farbenie May-Grünwald)



trov a pacient bol vzhľadom na refraktérnosť cytopénie po vyčerpaní terapeutických možností indikovaný na alogénnu transplantáciu krvotvorných buniek (HSCT).

Vo veku 2,2 roka pacient dostal alogénny štep kostnej drene s použitím myeloablatívneho prípravného režimu (treosulfan, fludarabin, thiotepa + alemtuzumab). Po konzultácii špecializovaného zahraničného pracoviska (Oddelenie mikrobiológie, imunológie a transplantológie, KU Leuven, Belgicko) bol za vhodného darcu vybraný otec s HLA zhodou 9/10 – heterozygotný nosič patogénneho variantu. Adekvátne prihojenie štepu sa okrem zlepšenia hematologických parametrov a plného darcovského chimérizmu prejavilo aj potransplantačnou úpravou aktivity enzýmu ADA2 (19,7...30,7 U/L).

Už 1 mesiac po HSCT bol zaznamenaný pokles parametrov krvného obrazu, dominovala neutropénia ťažkého stupňa (ANC 230 buniek/ $\mu$ L) s nutnosťou intermitentného podávania granulocyty stimulujúcich rastových faktorov (G-CSF). Zhoršená funkcia štepu korelovala s postupným nárastom autológnej krvotvorby (príjemca 2,8...43 %). Šesť mesiacov po HSCT pacient prekonal infekciu parainfluenzou 4 s následným vývojom fulminantnej autoimunitnej hemolytickej anémie (AIHA), ktorá vyžadovala agresívnu multimodálnu liečbu (kortikosteroidy, rituximab, intravenózne imunoglobulíny, sirolimus, daratumumab). Prevaha autológnej hemopoézy v kostnej dreni (príjemca 71...90,5 %) spolu s opätovným poklesom aktivity enzýmu ADA2 (5,9 U/L) svedčali pre zlyhanie štepu a AIHA bola vyhodnotená ako pravdepodobný prejav reaktívacie základného ochorenia.

U pacienta bola pre sekundárne zlyhanie štepu indikovaná druhá alogénná transplantácia krvotvorných buniek: vo veku 2,9 rokov dostal po prípravnom myeloablatívnom režime štep periférnych krvotvorných buniek od nepríbuzenskej HLA-zhodnej darykyne. Druhý potransplantačný priebeh bol sprevádzaný ďalšími komplikáciami (metapneumovírusová a adenovírusová infekcia, engraftment syndróm, akútna GvHD až s vývojom syndrómu aktivácie makrofágov). Až s pomocou multimodálnej imunosupresívnej liečby (kortikosteroidy, cyklosporín A, anakinra) sa celkový stav postupne stabilizoval. Na 60. deň po HSCT bol prepustený v dobrom klinickom stave na udržiavacej imunosupresívnej liečbe ruxolitínom (inhibitor JAK1 a JAK2-kináz) a cyklosporínom A, antiinfekčnej a doplnkovej terapii. Ďalej je sledovaný ambulantne, aktuálne už po vysadení imunosupresie s vyhovujúcimi parametrami krvného obrazu. Plný darcovský chimérizmus a fyziologická aktivita enzýmu ADA2 (61 U/L) potvrdzujú dobrú toleranciu a plnú funkčnosť darcovského štepu.

## Diskusia

Presnú identifikáciu monogénovo podmienených autoinflamačných ochorení umožnili len relatívne nedávno sofistikované molekulovo-genetické vyšetrovacie metódy. Napriek ich krátkej histórii sú vďaka dostupnosti cielenej liečby (blokáda TNF- $\alpha$  ev. interleukínu 1), ktorá efektívne potláča inak nekontrolovanú zápalovú reakciu, dobrým príkladom úspechov modernej medicíny. Raritný výskyt, a teda aj nízke povedomie o týchto ochoreniach však často bránia včasnemu stanoveniu diagnózy, ktorá umožňuje cielenú, efektívnu, patogenetickú liečbu.

DADA2 je jedno z týchto nedávno rozpoznaných autoinflamačných ochorení (2, 3), ktoré má jedinečnú patogenézu s veľmi rôznorodým fenotypom. Doteraz publikovaných 378 prípadov predstavuje iba zlomok z predpokladaných 35 000 celosvetovo postihnutých jedincov (13). Možno predpokladať, že veľa jedincov s DADA2 ostáva nerozpoznaných, resp. sú kvôli širokej variabilite fenotypu liečení pre inú diagnózu v rôznych špecializovaných ambulanciách pre deti, prípadne aj pre dospelých.

V našej práci sme opísali prvých 3 slovenských pacientov s DADA2 s ich rôznorodými príznakmi a ich komplikovanú cestu k správnej diagnóze. Okrem známych patogénnych variantov sme identifikovali dva nové varianty génu ADA2, pri ktorých sme na základe funkčného deficitu ADA2 preukázali ich patogenitu. Súčasne sme zdokumentovali efektívnosť terapeutických prístupov individuálne cielených na klinické prejavy každého pacienta.

Ochorenie sa u všetkých našich 3 pacientov manifestovalo vo včasnom detskom, resp. predškolskom veku (6 týždňov – 4,4 roka života), čo zodpovedá typicky včasnej manifestácii monogénových autoinflamačných ochorení. Je potrebné mať na pamäti, že prvé symptómy DADA2 sa môžu objaviť aj v dospelosti (8,5 % pacientov sa manifestuje po 18. roku života) (14). Aktuálne najstarším zdokumentovaným pacientom je 59-ročný muž s vývojom kožných ulcerácií na dolných končatinách (7).

V rámci klinického obrazu sa pacienti medzi sebou významne odlišovali, a teda aj boli sledovaní inými špecialistami (reumatológ, imunológ, hematológ). Svojim dominantným klinickým prejavom ilustrujú tri krajné fenotypy klinického spektra pri DADA2 – inflamatórne-vaskulopatický, imunodeficientný a hematologický (Tab. 1). U každého z pacientov však boli v menšej miere zastúpené aj prejavy z iných častí fenotypového spektra. Takéto prelínanie fenotypových prejavov je pre DADA2 do istej miery typické. Recentné práce preto uprednostňujú pohľad na klinické prejavy DADA2 ako na kontinuum celého spektra príznakov (6).

Molekulovo-genetické vyšetrenie bolo u všetkých detí kľúčom k stanoveniu diagnózy. Markantný pokrok v genetickej analýze a dostupnosť NGS-panelov vyšpecifikovaných pre jednotlivé poruchy výrazne zjednodušuje diagnostiku zriedkavých ochorení. DADA2 sa vzhľadom na vysoko variabilný fenotyp stala súčasťou rôznych reumatologických, imunologických či hematologických NGS-panelov (15). Raritný výskyt a s tým súvisiaca chýbajúca klinická skúsenosť v praxi často spôsobujú, že sa na diagnózu DADA2 hneď nemyslí. Naša skúsenosť potvrdzuje, že DADA2 je potrebné zvážiť u pacientov s prejavmi systémového zápalu a vaskulopatie; u jedincov s imunodeficienciou, a to najmä ak sa spája aj s inými fenotypovými prejavmi (v našom prípade systémový zápal, vaskulopatia a benígna lymfoproliféria); ako aj pri rôznych hematologických poruchách, obzvlášť v prípade čistej aplázie červených krviniek a chýbajúcich kongenitálnych malformáciách typických pre Blackfan-Diamondovu anémiu.

Osobitú skupinu tvoria pacienti so vznikom cievnej mozgovej príhody v detstve alebo v adolescencii, ktorý je v tomto veku raritný a vždy by mal viesť k snahe o vylúčenie, resp. potvrdenie diagnózy DADA2 (16). U pacienta 2 sme po potvrdení diagnózy DADA2 vzhľadom na akútne vzniknutú neurologickú symptomatológiu a MRI nález nešpecifickéj

lézie dodatočne zvažovali, či nemohlo ísť o prvý prejav DADA2 v podobe ischemickej cievnej mozgovej príhody. Nakoľko však na kontrolnom MRI vyšetrení nebolo detegované rezíduum v danej lokalite, tento nález ischemickej cievnej lézie nezodpovedal. Intratekálna reaktivácia VZV s prejavom solitárnej vs. zápalovej lézie tak pravdepodobne korešpondovala s následne odhalenou imunodeficienciou u tohto pacienta.

Molekulovo-genetické vyšetrenie je v našich podmienkach aktuálne jedinou dostupnou diagnostickou metódou stanovenia DADA2, nakoľko vyšetrenie aktivity enzýmu ADA2 je dostupné iba vo vybraných zahraničných laboratóriách.

V prípade pacientky s inflamatórne-vaskulopatickým fenotypom sa vzhľadom na pretrvávajúce podozrenie na DADA2 genetická analýza na žiadosť reumatológa prehodnocovala. Až druhé čítanie okrem známeho patogénneho variantu odhalilo aj nový variant génu ADA2 (c.881+1G>C), ktorého kauzalita sa potvrdila analýzou aktivity enzýmu ADA2. Uvedená kazuistika tak demonštruje význam správnej interpretácie laboratórnych výsledkov s ohľadom na fenotyp pacienta a podčiarkuje dôležitosť funkčnej enzýmovej analýzy, ako aj spolupráce medzi klinickým a genetickým pracoviskom.

Práve „mladé“ diagnózy ako je DADA2 môžu skrývať veľa doteraz nepoznaných genetických variantov, ktoré sa môžu najmä pri súbežnom vyšetrovaní viacerých génov prehliadnuť. Podobne sa u pacienta s imunodeficientným fenotypom identifikoval v tom čase neznámy variant génu ADA2 (c.505C>T(p.Arg169Trp)) (10).

Optimálne by malo vyšetrenie aktivity enzýmu ADA2 vždy dopĺňať genetickú analýzu, a to najmä v prípade identifikácie nejednoznačných variantov (17). U oboch spomenutých pacientov sme kauzalitu nových variantov overili potvrdením absentujúcej alebo veľmi nízkej aktivity génového produktu – enzýmu ADA2. Enzymatické vyšetrenie aktivity ADA2 žiaľ aktuálne na Slovensku nie je dostupné a aj u našich pacientov bolo realizované v spolupráci s Oddelením mikrobiológie, imunológie a transplantológie KU Leuven v Belgicku. Metodika stanovenia aktivity enzýmu ADA2 zo suchej kvapky krvi je však aktuálne v procese validácie na laboratórnom pracovisku Kliniky pediatrie a dedičných metabolických poruch 1. lekárskej fakulty Univerzity Karlovy v Prahe, čím by sa diagnostika DADA2 stala dostupnejšou nielen pre pacientov z Českej republiky, ale aj zo Slovenska.

Stanovenie enzymatickej aktivity ADA2 je nemenej dôležité aj z hľadiska manažmentu pacienta. Úplná strata funkcie enzýmu, ako v prípade tretej kazuistiky, sa spája so zlyhaním kostnej drene s typicky rezistentným priebehom, potrebou opakovaných hemosubstitúcií a neodpovedaním na liečbu TNF- $\alpha$  inhibítorom (6). Uvedený hematologický fenotyp je terapeuticky najťažšie ovplyvniteľný. Jedinou aktuálne dostupnou kauzálnou a potenciálne kuratívnu liečbou je transplantácia hematopoetických kmeňových buniek, ktorej účinnosť je možné spoľahlivo kontrolovať aj sledovaním enzymatickej aktivity ADA2 (18). Opätovný pokles aktivity ADA2 potransplantačne môže skoro predikovať zlyhávanie štepu, ako to bolo aj v prípade pacienta s týmto fenotypom.

Na druhej strane, zostatková aktivita enzýmu ADA2 sa spája s „miernejším“ vaskulopatickým alebo imunodeficientným fenotypom (6). Terapiou voľby je v prípade inflamatórne-vaskulopatických prejavov

imunosupresívna liečba TNF- $\alpha$  inhibíciou (18). U uvedených pacientov s prejavmi systémového zápalu (kazuistika 1 a 2) etanercept spoľahlivo viedol ku kontrole zápalovej aktivity. Jedným z najdôležitejších účinkov inhibície TNF- $\alpha$  je prevencia vývoja, resp. opakovania cievnych mozgových príhod, a to aj u pacientov s predominantne imunodeficientným fenotypom (18, 19). V priebehu 20-mesačného a 4-ročného sledovania našich dvoch pacientov na liečbu TNF- $\alpha$  inhibítorom (kazuistika 1 a 2) nedošlo k vývoju neurologickej symptomatológie. Neprítomnosť klinicky nemých infarktů CNS sme u pacientky 1 overili aj MRI vyšetrením. Takáto skúsenosť je v súlade s publikovanými údajmi, ktoré dokumentujú 100 % účinnosť pri prevencii cievnych mozgových príhod, a to aj u dospelých pacientov s DADA2 (4).

Imunodeficiencia pri DADA2, či už čiastočne (kazuistika 1 a 3), alebo úplne (kazuistika 2) vyjadrená, mala prevažne charakter poruchy protilátkovej imunity, a preto sa liečila pravidelnou substitúciou imunoglobulínov (kazuistika 2). V rámci imunofenotypizácie dominoval deficit až úplná absencia pamäťových B-lymfocytov. U pacienta 1 aj 2 sa zachytil aj zvýšený podiel CD21low B-buniek, t. j. B-lymfocytov, ktoré v zníženej miere exprimujú povrchový znak CD21. Zvýšený podiel týchto buniek sa zaznamenal pri viacerých stavoch spojených s chronickým zápalom, napr. pri vybraných infekčných ochoreniach (HIV alebo malária), CVID alebo autoimunitných ochoreniach (reumatoidná artritída, Sjögrenov syndróm) (20), a teda nie je pre DADA2 špecifický.

Uvedené modality liečby (TNF- $\alpha$  inhibícia a substitúcia imunoglobulínov) nemajú vplyv na úpravu aktivity enzýmu ADA2 (19), a preto jej opakované stanovovanie nie je prínosné.

Rodinám s postihnutým jedincom (probandom) je potrebné poskytnúť genetické poradenstvo, ako aj skríning súrodencov probanda, a to vyšetrením aktivity enzýmu ADA2 alebo analýzou génu ADA2 (18), ideálne ich kombináciou. V rámci rodín opísaných pacientov sme doplnili genetické vyšetrenie rodičov a súrodencov probandov. Molekulárne-genetická analýza medzi nimi neodhalila jedincov s bialelickými patogénnymi variantmi. Identifikovali sme viacerých klinicky asymptomatických nosičov jedného variantu alebo zdravých jedincov bez genetickej záťaže pre DADA2 (Obr. 4). Analýzu aktivity enzýmu ADA2 sme u nosičov vzhľadom na nedostupnosť vyšetrenia na Slovensku a neprítomnosť klinických prejavov neiniciovali.

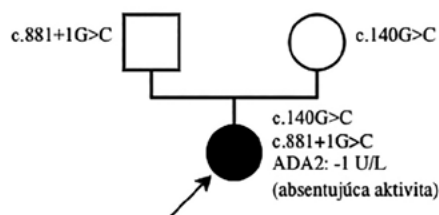
Aktuálne neexistujú žiadne usmernenia, ktoré by objasňovali indikáciu terapeutickú inhibície TNF- $\alpha$  výlučne na základe výsledku genetickej analýzy. Niektorí autori však odporúčajú začať liečbu pri potvrdení bialelických variantov génu ADA2 v korelácii s absenciou katalytickej aktivity enzýmu ADA2, a to v prípade symptomatických aj asymptomatických jedincov, aby sa tak znížilo riziko vývoja cievnej mozgovej príhody a zabránilo sa potenciálnym závažným neurologickým komplikáciám (1, 19). Definitívne rozhodnutie o celoživotnej liečbe u asymptomatického pacienta sa ponecháva na dohodu medzi ošetroujúcim lekárom a pacientom.

V prípade nosičov jedného patogénneho variantu existuje ešte menej dostupných údajov, a preto aj usmernení (18). Niektorí nosiči môžu vykazovať črty typické pre DADA2, opísané boli napr. mierne subklinické imunologické abnormality asociované s DADA2 (21). Avšak, vo všeobecnosti ostávajú nosiči zdraví a bez príznakov, s plazmatickou

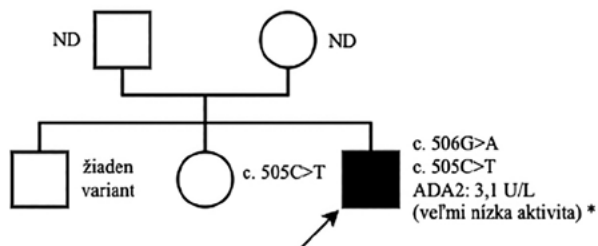


**Obr. 4.** Dedičnosť, genotyp a aktivita enzýmu ADA2 v rodinách opísaných pacientov

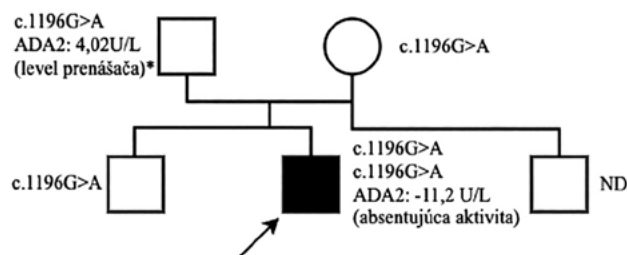
#### Pacient 1:



#### Pacient 2:



#### Pacient 3:



ND – „not done“, nerealizované. \*aktivita enzýmu ADA2 u pacienta je vyhodnocovaná vzhľadom na zdravú kontrolu v rámci jednotlivej analýzy, absolútne hodnoty a teda aj cut-off hodnoty sa preto môžu medzi jednotlivými analýzami líšiť

koncentráciou ADA2 v pásme medzi postihnutými jedincami a zdravými kontrolami (22).

Otázkou ostáva, či možno príbuzného – heterozygotného nosiča patogénneho variantu génu ADA2 v prípade HLA zhody považovať za vhodného darcu krvotvorných buniek. Hashem a kol. v kohorte 30 pacientov transplantovaných pre DADA2 preukázali povzbudivé výsledky použitia štepov od takýchto darcov, avšak predpokladá sa, že v takomto prípade existuje istá minimálna požadovaná hodnota darcovského chi-

mérizmu, ktorá doposiaľ nie je presne stanovená (23). Každý potenciálny príbuzenský darca musí byť bezpodmienečne vyšetrený segregáčnou analýzou, rovnako sa odporúča vyšetrenie plazmatických koncentrácií ADA2 (24). Využitie heterozygotného darcu, a to aj v prípade vyhovujúcej enzymatickej aktivity ADA2, však stále vyvoláva obavy z potenciálneho neskoršieho rozvoja prejavov ochorenia u príjemcu štepu, a to aj v kontexte plného darcovského chimérizmu. U nášho pacienta v kazuistike 3 sa AIHA, ktorú sme hodnotili ako prejav základného ochorenia, rozvinula v čase prevahy autológnej hemopoézy na úrovni 71 % s opätovným poklesom aktivity enzýmu ADA2.

## Záver

S narastajúcim pokrokom v medicíne sme neustále svedkami objasnenia podstaty nových vzácných ochorení. Tie je v rámci explózie pribúdajúcich diagnóz často náročné plne uchopiť. Avšak, poznanie ich patogenézy, možnosti diagnostiky a efektívnej liečby predstavujú obrovskú nádej pre jednotlivých pacientov a ich náročné životné osudy.

Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2) je jedinečným autoinflamačným ochorením mnohých tvárí. Môže sa prejavovať širokou paletou príznakov, od rekurentných febrilít, prejavov kožnej i systémovej vaskulitídy, poruchami imunity až po zlyhanie kostnej drene (5, 14). Cievná mozgová príhoda môže byť zároveň prvým aj izolovaným prejavom tohto ochorenia (25). Vzhľadom na vysokú fenotypovú variabilitu, rôzny vek manifestácie, ako aj pomerne nedávny opis tejto choroby, sa pacienti s DADA2 môžu skrývať pod inými diagnózami v rôznych špecializovaných ambulanciách pre deti i dospelých.

Diagnózu DADA2 je možné určiť na základe vyšetrenia enzymatickej aktivity ADA2 alebo molekulovo-genetickou analýzou (18). Pacienti s DADA2 vyžadujú multidisciplinárnu špecializovanú starostlivosť a nadštandardnú spoluprácu medzi odborníkmi. Potvrdením diagnózy sa pre pacientov otvárajú dvere k efektívnej liečbe, ktorá závisí od fenotypu každého individuálneho pacienta. Sú k dispozícii a ďalej pribúdajú dôkazy o preventívnom účinku TNF- $\alpha$  inhibítorov na vývoj cievnej mozgovej príhody; závažné hematologické a imunologické fenotypy je možné úspešne liečiť iba transplantáciou hematopoetických kmeňových buniek (4, 24). Komplexnou starostlivosťou je aktuálne možné výrazne zlepšiť vyhliadky, celkovú kvalitu života a predísť závažným komplikáciám nielen u pacientov, ale aj u dosiaľ asymptomatických rodinných príslušníkov (19).

**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, Böttcher B, Harmsen S, et al. The Growing Spectrum of DADA2 Manifestations – Diagnostic and Therapeutic Challenges Revisited. *Frontiers in Pediatrics*. 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.
- Balažiová B, Hrkčková G, Dobšínská V, Dallos T. Deficiencia adenosín-deaminázy 2. typu (DADA2): klinický obraz, diagnostika a liečba. *Vnitř Lék*. 2024;70(4):233-240.
- 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.
- Meyts I, Aksentijevich I. Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2): Updates on the Phenotype, Genetics, Pathogenesis, and Treatment. *Journal of Clinical Immunology*. 2018;38(5):569.
- National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000120301.14] [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/120301/>



9. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000120303.32] [Internet]. [cited 2022 May 24]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/120303/>
10. National Center for Biotechnology Information. ClinVar; [VCV000956376.3] [Internet]. [cited 2022 May 23]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar/variation/956376/>
11. Richards S, Aziz N, Bale S, et al. Standards and Guidelines for the Interpretation of Sequence Variants: A Joint Consensus Recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med*. 2015;17(5):405-24.
12. Infevers. ADA2 sequence variants [Internet]. [cited 2023 May 7]. Available from: <https://infevers.umai-montpellier.fr/web/search.php?n=20>
13. Jee H, Huang Z, Baxter S, et al. Comprehensive analysis of ADA2 genetic variants and estimation of carrier frequency driven by a function-based approach. *J Allergy Clin Immunol*. 2022;149(1):379-87.
14. Maccora I, Maniscalco V, Campani S, et al. A wide spectrum of phenotype of deficiency of deaminase 2 (DADA2): a systematic literature review. *Orphanet J Rare Dis*. 2023;18:117.
15. Rakesh Kumar P, Aaqib Zaffar B, Saniya S, et al. Deficiency of Human Adenosine Deaminase Type 2 - A Diagnostic Conundrum for the Hematologist. *Front Immunol*. 2022;13:869570.
16. Belot A, Wassmer E, Twilt M, et al. Mutations in CECR1 associated with a neutrophil signature in peripheral blood. *Pediatr Rheumatol Online J*. 2014;12:44.
17. Caorsi R, Penco F, Grossi A, et al. ADA2 deficiency (DADA2) as an unrecognised cause of early onset polyarteritis nodosa and stroke: a multicentre national study. *Ann Rheum Dis*. 2017;76(10):1648-56.
18. 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.
19. Ombrello AK, Qin J, Hoffmann PM, et al. Treatment Strategies for Deficiency of Adenosine Deaminase 2. *N Engl J Med*. 2019;380(16):1582-4.
20. Thorarinsdottir K, Camponeschi A, Cavallini N, et al. CD21-/low B cells in human blood are memory cells. *Clin Exp Immunol*. 2016;185(2):252-62.
21. Yap JY, Moens L, Lin MW, et al. Intrinsic Defects in B Cell Development and Differentiation, T Cell Exhaustion and Altered Unconventional T Cell Generation Characterize Human Adenosine Deaminase Type 2 Deficiency. *J Clin Immunol*. 2021;41(8):1915-35.
22. Schnappauf O, Zhou Q, Moura NS, et al. Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2): Hidden Variants, Reduced Penetrance, and Unusual Inheritance. *J Clin Immunol*. 2020;40(6):917-26.
23. Hashem H, Bucciol G, Ozen S, et al. Hematopoietic Cell Transplantation Cures Adenosine Deaminase 2 Deficiency: Report on 30 Patients. *J Clin Immunol*. 2021;41(7):1633-47.
24. Hashem H, Dimitrova D, Meyts I. Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation for Patients With Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2): Approaches, Obstacles and Special Considerations. *Front Immunol*. 2022;13:932385.
25. Elbracht M, Mull M, Wagner N, et al. Stroke as Initial Manifestation of Adenosine Deaminase 2 Deficiency. *Neuropediatrics*. 2017;48(2):111-4.