

## 29. Dědičná sférocytóza a další poruchy erytrocytární membrány

Jaroslav Čermák

### 29.1. Úvod

Dědičná sférocytóza (HS) představuje autosomálně dominantní (vzácně recesivní) onemocnění vznikající v důsledku defektu tvorby membránových proteinů (nejčastěji  $\alpha$  či  $\beta$  spektrinu, ankyrinu či proteinu pásu 3 nebo 4.2) či poruchy vazby mezi těmito proteiny /1/. Defekt membránových proteinů vede k zmenšení povrchu krvinky (vzniká sférocyt) a ke zvýšené propustnosti membrány pro ionty (zejména Na) a k vysokém nároku na funkci sodíkové pumpy erytrocytu, jež je zodpovědná za zpětný přesun iontů Na extracelulárně. Důsledkem je energetický deficit erytrocytu vedoucí ke zvýšené rigiditě a snížené deformovatelnosti krvinky. Kritický je zejména průchod takto změněné krvinky sinusoidami sleziny, kde dochází k jejich zániku. To je příčinou extravaskulární hemolýzy u HS.

Onemocnění je typické vysokou variabilitou exprese postižených genů, což vede k celé škále projevů od klinicky němých forem se známkami pouze laboratorní hemolýza až po těžkou formu hemolýzy s opakovanými aplastickými krizemi /2/.

### 29.2. Základní diagnostická a diferenciálně diagnostická vyšetření

Základními úkoly v diagnostice HS jsou odlišení imunního původu hemolýzy a vyloučení jiných typů korpuskulární hemolytické anémie (enzymopatie, jiné membránové poruchy - dědičná eliptocytóza, dědičná stomatocytóza, kongenitální dyserythropetická anémie (CDA) II.typu) /2/.

#### Periferní krev:

- KO + manuální diferenciální rozpočet + počet retikulocytů ( $\downarrow$  Hb,  $\downarrow$  MCV,  $\uparrow$  MCHC,  $\uparrow$  RDW,  $\uparrow$  stupeň hemolýzy –  $\uparrow$  počet retikulocytů), morfologické změny (sférocyty)
- Serologická vyšetření
  - jaterní testy + LD (zvýšení LD, přímého a nepřímého bilirubinu), urea, kreatinin, Fe, feritin
- Imunohematologické vyšetření
  - negativní přímý (DAT) a nepřímý antiglobulinový test – k vyloučení imunní příčiny

- Koagulační vyšetření – k vyloučení DIC a trombotické mikroangiopatie  
- vyloučení kongenitální příčiny hemolýzy

### **Speciální vyšetření:**

- Autohemolýza a osmotická rezistence (měření absorbance heparinizované krve při 510 nm v čerstvé krvi a zvýšený nárůst po 24 hod. inkubaci, měření absorbance a určení % hemolýzy při různé koncentraci NaCl) /3/
- PINK test (měření času absorbance při 625 nm v glycerolu při porovnání s časem před přidáním glycerolu) /4/
- EMA (eosin-5-maleimide) vazebný test (snížená fluorescence EMA značených krvinek při měření průtokovým cytometrem) /5/
- Vyšetření hladiny erytrocytárních enzymů (pyruvát kináza, glukóza-6-fosfát dehydrogenáza) – k vyloučení erytrocytárních enzymopatií)
- Vyšetření elfo Hb (screening hemoglobinopatií)

### **Vyšetření ve specializovaných laboratořích:**

- SDS-PAGE (elfo membránových proteinů erytrocytů, kvantifikace deficitu proteinu – u nejasných případů, zejména při indikaci splenektomie) /6/
- Test kryohemolýzy (% kryohemolýzy při 540 nm při ochlazení z 37°C na 0°C po 10 minut)
- Ektacytometrie osmotického gradientu (měření deformability erytrocytu při měnící se osmolalitě pomocí viscometru na bazi laserové difrakce) /7/
- HEMPAS test (negativita Hamova testu s vlastními erytrocyty + pozitivita testu s dárcovskými erytrocyty – vyloučení CDA II. typu)
- Molekulárně genetické vyšetření (zjištění genetického defektu u HS, mutace PIEZO-1 genu u dědičné xerocytózy, mutace *SEC23B* genu u CDA II. typu)

### **Další vyšetření:**

- USG břicha (k posouzení velikosti sleziny a event. přítomnosti cholelitiázy)
- Sternální punkce (výjimečně při suspekci na CDA II. typu – morfologické atypie červené řady)
- Vyloučení Gilbertovy choroby (molekulární genetika)

- Vyloučení hemolýzy způsobené infekcí, mechanicky, oxidačními činidly
- Průtoková cytometrie (k vyloučení PNH)

### Diferenciální diagnostika:

- Dědičná xerocytóza (dehydratovaná forma stomatocytózy) – morfologie-stomatocyty ,  
↑ MCHC, ↑ osmotická resistance, typický profil při ektacytometrii, zvýšená fluorescence při EMA testu, mutace PIEZO-1 genu, zvýšené zásoby Fe, hyperkoagulace /8/
- Hyperhydratovaná forma stomatocytózy – morfologie – stomatocyty, ↓ osmotická resistance při normálním PINK testu, typický profil při ektacytometrii, zvýšená fluorescence při EMA testu, mutace RHAG genu
- Hereditární eliptocytóza (ovalocytóza) – morfologie – eliptocyty, snížená fluorescence při EMA testu, malá deformovatelnost, SDS-PAGE, zvýšená kryohemolýza
- CDA II.typu – hemolytická varianta, pozitivita HEMPAS, vícejadernost erytroblastů v kostní dřeni, molekulární genetika – mutace *SEC23B* genu) /9/.

### 29.3. Léčba

#### a) Splenektomie a cholecystektomie

Splenektomie představuje efektivní metodu, jež redukuje hemolýzu a prodlužuje život červených krvinek. Splenektomie vede k normalizaci anémie a snížení incidence cholelitiázy. Laboratorní parametry, sloužící jako podklad indikace splenektomie jsou uvedeny v tabulce 29.1 /2/. Výskyt opakované aplastické krize zejména v dětském věku je dalším faktorem podporujícím indikaci splenektomie. Nebyl jednoznačně prokázán přínos kombinace splenektomie s profylaktickou cholecystektomií ani cholecystektomie u bezpříznakových nemocných, kteří se podrobují splenektomii, a to jak u dospělých, tak u dětí. U nemocných s klinickými příznaky vyplývajícími z cholelitiázy je naopak cholecystektomie indikována, i když zejména u dětí není indikací k současné splenektomii /10/. U dětí je splenektomie indikována, pokud možno až po 6.roce věku.

Klasifikace/ parametry	Subklinická HS	Mírná forma HS	Středně těžká HS	Těžká forma HS
---------------------------	-------------------	-------------------	---------------------	-------------------

Hb (g/l)	normální	110-150	80-120	60-80
Počet RTC (%)	<3	3-6	>6	>10
Bilirubin ( $\mu\text{mol/l}$ )	<17	17-34	>34	>51
Indikace splenektomie	Není požadována	Většinou není nutná v dětství či během dospívání	Indikována před pubertou	Indikována (pokud možno po 6.roce věku)

**Tabulka 29.1.** Laboratorní parametry pro indikaci splenektomie u HS /podle 2/.

V současnosti je dávána přednost laparoskopické splenektomii /11/, pokud to dovoluje velikost sleziny. Nemocní musí být před splenektomií očkováni (pneumokok, meningokok, hemofilus, chřipka) a dále je jim podávána antibiotická profylaxe během výkonu, v délce podávání antibiotik po výkonu není shoda /3/. Splenektomie musí být zajištěna podáváním antikoagulancií, ale nebyl potvrzen jednoznačný přínos dlouhodobého podávání antikoagulační léčby po splenektomii, pokud nejsou přítomny další trombogenní rizikové faktory /12/. Tzv. parciální splenektomie bývá užívána zejména u dětí k prevenci možné sepse po totální splenektomii/13/, část nemocných se však v dospělosti musí podrobit odstranění zbývající části sleziny. Splenektomie je kontaindikována u nemocných s dědičnou xerocytózou vzhledem k vysokém riziku trombotických komplikací spojených s výkonem /2/, i z tohoto důvodu je důležité odlišení HS od dědičné xerocytózy.

#### **b) Další léčebné přístupy**

- léčba aplastické krize (většinou vyvolána parvovirem B19): transfuze erytrocytů a trombocytů (pokud je třeba), růstové faktory, antibiotická a antimykotická profylaxe, i.v. imunoglobuliny.
- podávání kyseliny listové: je indikováno u nemocných těžkým či velmi těžkým průběhem choroby.

#### **29.4. Dědičná xerocytóza a dědičná stomatocytóza**

Dědičná xerocytóza a stomatocytóza vznikají v důsledku mutací genů regulujících transport iontů přes erytrocytární membránu a tím i hydrataci krvinky. Nejčastější mutace postihují PIEZO-1 gen, podle typu mutace mohou být přítomny stomatocyty, hyperhydratované krvinky

tvaru úst, nebo xerocyty, nedostatečně hydratované krvinky s vysokou koncentrací nerovnoměrně rozloženého Hb /14/.

Klinicky závažné jsou zejména těžší formy dědičné xerocytózy. Na xerocytózu je třeba pomyslet při nálezů extravaskulární hemolytické anémie s výraznou patologií osmotické rezistence a vysokou střední koncentrací Hb (MCHC) v krvince, k potvrzení diagnózy slouží ektacytometrie a molekulárně genetické vyšetření. V léčbě se uplatňuje substituce transfuzemi, doplňkově podávání kyseliny listové a včasná chelatační léčba (u nemocných s dědičnou xerocytózou se rozvíjí přetížení Fe ne zcela jasné etiologie i při transfuzní nezávislosti). Splenektomie není u dědičné xerocytózy indikována vzhledem k vysokému riziku tromboembolických komplikací díky nedostatečné hydrataci krvinek /15/.

## 29.5. Literatura

- 1) Perotta S, Gallagher PC, Mohanadas N: Hereditary spherocytosis. *Lancet* 2008; 372: 1411-1426.
- 2) Bolton-Maggs PHB, Langer JC, Iolascon A et al.: Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis – 2011 update. *Br J Haematol* 2011;156: 37-49.
- 3) Bolton-Maggs PHB, Stevens RF, Dodd NJ et al.: Guidelines for the diagnosis and management of hereditary spherocytosis. *Br J Haematol* 2004; 126: 455-474.
- 4) Bucx MJ, Breed WP, Hofmann JJ: Comparison of acidified glycerol lysis test, Pink test and osmotic fragility test in hereditary spherocytosis: effect of incubation. *Eur J Haematol* 1988; 40: 227-231.
- 5) King MJ, Behrens J, Rogers C et al.: Rapid flow cytometric test for the diagnosis of membrane cytoskeleton-associated haemolytic anaemia. *Br J Haematol* 2000; 111: 924-933.
- 6) Delaunay J: The molecular basis of hereditary red blood cell membrane disorders. *Blood Reviews* 2007; 21: 1-20.
- 7) Clark MR, Mohanadas NM, Shohet SB: Osmotic gradient ektacytometry: comprehensive characterization of the red cell volume and surface maintenance. *Blood* 1983; 61: 899-910.
- 8) Vives Corrons JL, Besson I, Aymerich M et al.: Hereditary xerocytosis: a report of six unrelated Spanish families with leaky red cell syndrome and increased heat stability of the erythrocyte membrane. *Br J Haematol* 1995; 90: 917-822.
- 9) Schwarz K, Iolascon A, Verissimo F et al.: Mutations affecting the secretory COPH coat component SEC23B cause congenital dyserythropoietic anemia type II. *Nature Genetics* 2009; 41: 936-940.
- 10) Sandler A, Winkel G, Kimura K, Soper R: The role of prophylactic cholecystectomy during splenectomy in children with hereditary spherocytosis. *J Ped Surg* 1999; 34: 1077-1078.
- 11) Tanoue K, Okita K, Akahoshi T et al.: Laparoscopic splenectomy for hematologic diseases. *Surgery* 2002; 131: 5318-5323.

- 12) Gordon DH, Schaffner D, Bennett JM, Schwartz SI: Postsplenectomy thrombocytosis: its association with mesenteric, portal and/or renal vein thrombosis in patients with myeloproliferative disorders. *Arch Surgery* 1978; 113: 713-715.
- 13) Bader-Meunier B, Gauthier F, Archimbaud F et al.: Long-term evaluation of the beneficial effect of subtotal splenectomy for management of hereditary spherocytosis. *Blood* 2001; 97: 399-403.
- 14) Andolfo I, Russo R, Gambale A, Iolascon A: Hereditary stomatocytosis: an underdiagnosed condition. *Am J Hematol* 2018;93: 107.
- 15) Archer NM, Shmuckler BE, Andolfo I et al.: Hereditary xerocytosis revisited. *Am J Hematol* 2014; 89:1142.