

Επίκτητη και κληρονομούμενη απλαστική αναιμία στην παιδική ηλικία Νεότερα δεδομένα στη διάγνωση και τους παθογενετικούς μηχανισμούς

Η απλαστική αναιμία (AA) είναι σπάνιο αιματολογικό νόσημα στην παιδική ηλικία, εντάσσεται στην ευρύτερη ομάδα των συνδρόμων μυελικής ανεπάρκειας και διακρίνεται σε επίκτητη και κληρονομούμενη. Οι κυριότερες απόψεις, που επικρατούν σήμερα για την παθογένεια της επίκτητης AA, συμπυκνώνονται στο ότι η νόσος αποτελεί την τελική αιματολογική έκφραση της ποιοτικής ή και ποσοτικής βλάβης που έχουν υποστεί τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (stem cells, SC) του μυελού των οστών, σε άλλοτε άλλο επίπεδο της διαφοροποίησής τους (βλάβη τύπου I και βλάβη τύπου II). Για την εκδήλωση της επίκτητης AA, θεωρητικά ενοχοποιείται προηγηθείσα βλαπτική δράση κάποιου ενδογενούς ή εξωγενούς παράγοντα επί των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων του μυελού των οστών. Τη θεωρητική αυτή βλάβη των αρχέγονων μυελικών κυττάρων, στην πλειοψηφία των περιπτώσεων, ακολουθεί μια ισχυρή αυτοάνοσου τύπου απάντηση του οργανισμού, η οποία στρέφεται καταστροφικά εναντίον των ιδίων αυτού αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων (SC), στα πλαίσια μιας διαταραγμένης και ανώμαλης ανοσιακής αντίδρασης του οργανισμού (απώλεια ανοσιακής ανοχής και αυτοάνοσου τύπου καταστροφή των «προσβληθέντων» από ποικίλους παράγοντες αρχέγονων μητρικών αιμοποιητικών κυττάρων). Ο ρόλος που κατέχει στην όλη παθοφυσιολογική διαδικασία της επίκτητης AA ένας υποκείμενος ισχυρός αυτοάνοσος μηχανισμός είναι μείζονος σημασίας, ενώ ως λιγότερο πιθανή φαίνεται η συμμετοχή της διαταραχής του μικροπεριβάλλοντος του μυελού των οστών (κυττάρων στρώματος, ανεπάρκεια αυξητικών αιμοποιητικών παραγόντων κ.λπ.). Η κλινική εκδήλωση της νόσου ακολουθεί σε άλλοτε άλλο χρονικό διάστημα και στην πλειονότητα των περιπτώσεων ο εκλυτικός παράγοντας δεν απομονώνεται, με αποτέλεσμα, στην πλειοψηφία της, η επίκτητη AA να χαρακτηρίζεται τελικά ως ιδιοπαθής. Η κληρονομική AA της παιδικής ηλικίας, στην οποία περιλαμβάνονται και τα ποικίλα κληρονομούμενα σποραδικά ή οικογενή σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας με ή χωρίς φυσικές ανωμαλίες, εκπροσωπείται κυρίως από την αναιμία Fanconi και τη συγγενή δυσκεράτωση. Φαίνεται ότι οι παθογενετικοί μηχανισμοί γένεσης των νοσημάτων αυτών, ειδικότερα, είναι πολύπλοκοι και το θεωρητικό τους πλαίσιο, μέχρι σήμερα τουλάχιστον, συντίθεται σταδιακά. Ο τύπος και η έκταση της βλάβης των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων καθορίζουν τον αναστρέψιμο ή μη χαρακτήρα του νοσήματος μετά από ανοσοκατασταλτική αγωγή, τη χρονική διάρκεια, την κλινική βαρύτητα και την ποικιλία των κλινικοεργαστηριακών ευρημάτων. Τούτο αφορά τόσο την επίκτητη όσο και την κληρονομούμενη AA, κοινός παρανομαστής των οποίων είναι η τελική, ποικίλου βαθμού απλασία και των τριών αιμοποιητικών σειρών. Στο παρόν άρθρο ανασκόπησης παρουσιάζονται οι σύγχρονες απόψεις για την ταξινόμηση της AA στην παιδική ηλικία, οι παθογενετικοί μηχανισμοί ανάπτυξης του αιματολογικού προβλήματος, οι εκλυτικοί παράγοντες της παθοφυσιολογικής διαδικασίας της νόσου, καθώς και η σχέση που συνδέει την AA με άλλα κληνικού τύπου αιματολογικά νοσήματα (π.χ. οξεία λευχαιμία ή μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα). Τέλος, γίνεται σύντομη αναφορά στις συνήθεις μορφές της κληρονομούμενης AA, η οποία, πλην εξαιρέσεων, διαγιγνώσκεται χρονικά κατά τη διάρκεια του φάσματος της παιδικής και της εφηβικής ηλικίας, ενώ αναφέρονται ορισμένα από τα νεότερα δεδομένα που έχουν προκύψει κατά τη διερεύνηση της παθογένειάς τους.

Σ. Πολυχρονοπούλου-
Ανδρουθακάκη,
Ι.Π. Παναγιώτου

Τμήμα Παιδιατρικής
Αιματολογίας-Ογκολογίας,
Νοσοκομείο Παίδων «Αγία Σοφία», Αθήνα

Acquired and inherited aplastic
anemia in childhood.
Progress in diagnosis
and understanding
of the pathogenetic mechanisms

Abstract at the end of the article

Λέξεις ευρετηρίου

Αιτιολογία
Απλαστική αναιμία
Παθογενετικοί μηχανισμοί
Παιδική ηλικία
Σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας

1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η βιολογική αξία του αίματος και η μείζων συμμετοχή του στην εύρυθμη λειτουργία του οργανισμού είναι γνωστή από αρχαίων χρόνων. Πρώτος ο μεγαλοφυής προσωκρατικός φιλόσοφος, ποιητής και ιατρός Εμπεδοκλής ο Ακραγαντίνος υποστήριξε ότι: «Όργανον της νοήσεως το αίμα και όσον κανονικωτέρα και δικαιότερα είναι η μίξις των στοιχείων, τόσον αρτιωτέρα η φρόνησις» (Υπό ποιητού Κ. Παλαμά),¹ θέλοντας προφανώς να δηλώσει το θεμελιώδη ρόλο του αίματος και της ισορροπίας των επιμέρους στοιχείων του στη βάση της ζωής.

Την απορρύθμιση της ισορροπίας αυτής εκφράζουν, κλινικά και αιματολογικά, τα σύνδρομα ανεπάρκειας μυελού των οστών (ΜΟ), τα οποία αποτελούν νοσολογικές οντότητες που εμφανίζονται τόσο στους ενήλικες όσο και στα παιδιά. Στην ομάδα αυτή των νοσημάτων περιλαμβάνονται ποικίλες και σοβαρές παθολογικές καταστάσεις, με πιο χαρακτηριστικό και δραματικό εκπρόσωπο την ανεπάρκεια και των τριών κυτταρικών σειρών του ΜΟ, δηλαδή της ερυθράς, της μυελικής και της μεγακαρυοκυτταρικής, που είναι γνωστή ως απλαστική αναιμία (ΑΑ).

Η ΑΑ, ως κλινική οντότητα, είναι γνωστή από το 1888, όταν περιγράφηκε για πρώτη φορά από τον Paul Erlich.² Ως όρος όμως είναι γνωστός από το 1904, όπως αποδόθηκε από τον Chauffard,² προκειμένου να χαρακτηριστεί η κλινική αυτή οντότητα. Ο ελληνικός και διεθνώς έκτοτε καθιερωμένος όρος *απλαστική αναιμία* θεωρείται από τους περισσότερους επιστήμονες ετυμολογικά αλλά και παθοφυσιολογικά επιτυχής, γιατί εκφράζει επακριβώς τη λειτουργική διαταραχή που επικρατεί στη νόσο.^{2,3}

Η ΑΑ διακρίνεται σε δύο μεγάλες κατηγορίες, την *επίκτητη* και την *κληρονομούμενη*²⁻⁵ (πίνακες 1, 2).

Η πρώτη εμφανίζεται μετά από έκθεση των μυελικών αιμοποιητικών κυττάρων σε ποικίλους τοξικούς παράγοντες, οι οποίοι προκαλούν, παροδικά ή μόνιμα, διαταραχή της φυσιολογικής διαδικασίας της αιμοποίησης.⁶ Η κατηγορία της επίκτητης ΑΑ κατεχοχίν εκπροσωπείται από τη μεγάλη ομάδα της «ιδιοπαθούς ΑΑ».^{2,3,6,7}

Στη δεύτερη κατηγορία, η νόσος μεταβιβάζεται γενετικά, χωρίς όμως να εκδηλώνεται υποχρεωτικά στη νεογνική, τη βρεφική ή την παιδική ηλικία.² Στην ευρύτερη ομάδα της κληρονομούμενης ΑΑ, η αναιμία Fanconi (FA) αποτελεί τη συχνότερη μορφή της νόσου και το γεγονός αυτό συνέβαλε στη διάκριση της

Πίνακας 1. Κατάταξη επίκτητης απλαστικής αναιμίας.

<i>Ιδιοπαθής</i>
<i>Δευτεροπαθής</i>
Ακτινοβολία
Φαρμακευτικές και χημικές ουσίες
– Κυτταροστατικά
– Βενζένιο
– Χλωραμφενικόλη, μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη, αντιεπιληπτικά
<i>Ιοί</i>
– Λοιμώδους μονοπυρήνωσης (EBV)
– Ηπατίτιδας (μν-Α, μν-Β, μν-С)
– Επίκτητης ανοσιακής ανεπάρκειας (HIV)
<i>Ανοσολογικής αρχής διαταραχές</i>
– Ηωσινοφιλική ελυτρίτιδα
– Υπογαμμασφαιριναιμία
– Θύμωμα
– Νόσος μοσχεύματος κατά ξενιστή
– Παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία
– Εγκυμοσύνη

Πίνακας 2. Κατάταξη κληρονομούμενης απλαστικής αναιμίας και συνδρόμων μυελικής ανεπάρκειας.

Αναιμία Fanconi
Αναιμία Diamond-Blackfan
Συγγενής δυσκεράτωση
Σύνδρομο Shwachman-Diamond
Θρομβοκυτταροπενία με έλλειψη κερκίδων
Σύνδρομο Kostmann
Αμεγακαρυοκυτταρική θρομβοκυτταροπενία
Δικτυωτή δυσγενεσία
Οικογενείς απλαστικές αναιμίες
Σύνδρομο Pearson
Προλευχαιμία (μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα-μονοσωμία 7)
Άλλα μη αιματολογικά σύνδρομα
– Τρισωμία 21
– Σύνδρομο Seckel
– Σύνδρομο Dubowitz κ.ά.

κληρονομικής ΑΑ, για λόγους πρακτικούς, σε Fanconi και μη Fanconi ΑΑ.^{2,4,5,7}

Ο μακρύς κατάλογος κατάταξης των απλαστικών αναιμιών (πίνακες 1, 2) υπογραμμίζει την απιολογική ετερογένεια της νόσου και την ποικίλη φυσική της ιστορία.^{2,5,6} Κοινός όμως παρανομαστής μεταξύ τους παραμένουν οι ίδιοι ή οι ανάλογοι παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί πρόκλησης βλάβης των αιμοποιητικών κυττάρων και οι κοινές πρακτικές θεραπευτικής προσέγγισης. Γι' αυτό άλλωστε και δεν κρίνεται απαραίτητη, κατά την ερευνητική προσπάθεια της ΑΑ, η απόλυτη προσκόλληση στην ονοματολογική κατάταξη που ισχύει μέχρι σήμερα. Αυτό που απαιτείται είναι η ανεύρεση και

διευκρίνιση των κοινών γενετικών γνωρισμάτων των ασθενών, εξαιτίας των οποίων αναπτύσσουν ανεπιτυχείς ανοσιακές απαντήσεις όταν εκτίθενται σε ποικίλους περιβαλλοντικούς παράγοντες, όπως διάφορους ιούς ή φάρμακα, και τελικά οδηγούνται σε μερική ή ολική απλασία του μυελού των οστών.⁷

2. ΕΠΙΚΤΗΤΗ ΑΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

2.1. Ορισμός

Ως επίκτητη ορίζεται η ΑΑ η οποία, ανεξαρτήτως ηλικίας και κλινικής προβολής, δεν συνδέεται με κληρονομικά μεταβιβαζόμενη νόσο.^{5,7}

2.2. Επιδημιολογικά χαρακτηριστικά

Η ΑΑ είναι σχετικά σπάνιο νόσημα στους ενήλικες, αλλά και στα παιδιά και, σε σύγκριση με τη λευχαιμία, εμφανίζεται 30–50 φορές λιγότερο συχνά.⁷ Η ετήσια επίπτωσή της στις ΗΠΑ και την Ευρώπη, ανάλογα με την προέλευση του κέντρου μελέτης, κυμαίνεται από 1 έως και 6 νέα περιστατικά/10⁶ άτομα.^{7,8} Αξίζει πάντως να σημειωθεί ότι η ΑΑ, από τότε που αναγνωρίστηκε, έχει χαρακτηριστεί ως νόσημα των νεαρής ηλικίας ατόμων, δεν παρουσιάζει ιδιαίτερες διαφορές ως προς το φύλο, ενώ, αντίθετα, εμφανίζει σημαντικές γεωγραφικές αποκλίσεις.^{3,7,8}

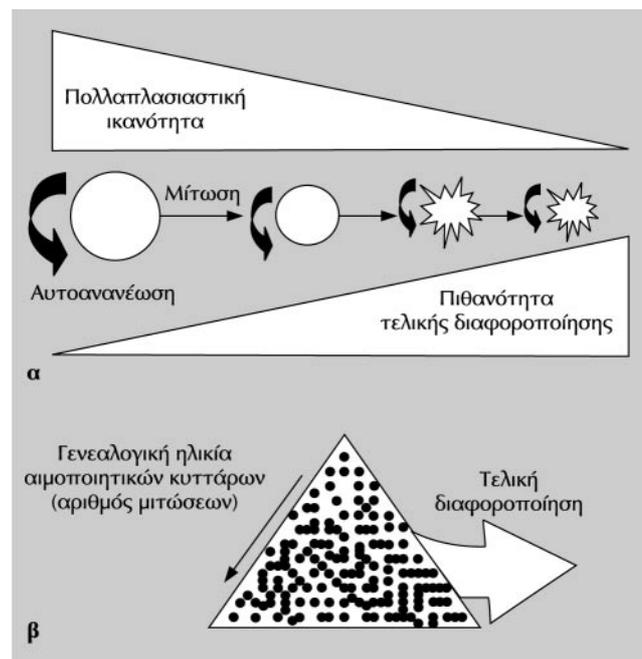
Ειδικότερα, ως προς την ηλικιακή κατανομή της ΑΑ, όπως φαίνεται από τα δεδομένα δύο μεγάλων κέντρων καταγραφής της στις ΗΠΑ, το Seattle και το National Institute of Health (NIH), η επίκτητη ΑΑ παρουσιάζει αυξημένη συχνότητα στη 2η και εν μέρει στην 3η δεκαετία της ζωής και στη συνέχεια δείχνει μια σταθερή άνοδο μετά την ηλικία των 60 ετών.⁷ Αν όμως στα ανωτέρω δεδομένα περιλαμβάνονταν και η κληρονομούμενη ΑΑ, τότε θα σχηματιζόταν μια τρίτη κορυφή στην περιοχή της 1ης δεκαετίας της ζωής και ειδικότερα μεταξύ 5–9 ετών. Η τρίτη αυτή κορυφή, της κληρονομούμενης ΑΑ, δυστυχώς, υποεκτιμάται αριθμητικά και, ουσιαστικά, δεν καταγράφεται πλήρως και είναι εκείνη που σηματοδοτεί τη βασική ιδιαιτερότητα της ΑΑ στην παιδική ηλικία, εφόσον κατεξοχήν διαγιγνώσκεται κατά την ηλικία αυτή.^{5,7}

2.3. Παθοφυσιολογία

Η κατανόηση των μηχανισμών της έκπτωσης της αιμοποίησης στην επίκτητη ΑΑ έχει στηριχθεί στη γνώση που αποκτήθηκε τα τελευταία χρόνια μέσω (α) του συστήματος των κυτταρικών καλλιέργειών (βραχείας και μακράς διάρκειας),^{9–12} (β) των πειραματοζώων που χρησιμοποιήθηκαν για να αναπαράγουν πρότυπα της φύσης

ή πρότυπα νοσημάτων¹² και (γ) της ανάπτυξης των ανοσολογικών και μοριακών τεχνικών.^{13–15} Μέσα από τις γνώσεις αυτές συντέθηκε το θεωρητικό πρότυπο της ιεράρχησης και ανάπτυξης της αιμοποίησης και των αποκλίσεων ή παραλλαγών της από το φυσιολογικό.^{2,5,12}

Σύμφωνα, λοιπόν, με το ισχύον σήμερα θεωρητικό πρότυπο της αιμοποίησης, ένας πολύ μικρός αριθμός αρχέγονων μητρικών αιμοποιητικών κυττάρων (stem cells, SC) [τα οποία, με μελέτες κατανομής του φαινότυπου της γλυκοζο-6-φωσφορικής δεϋδρογενάσης (G-6PD) σε θήλιες ετεροζυγώτες, υπολογίζεται ότι ανέρχονται περίπου σε 10–24^{12,16}] συνθέτουν την αρχέγονη αιμοποιητική πηγή και μόνο αυτά έχουν μεγάλη ικανότητα αυτοανανέωσης, πολλαπλασιασμού και επαναπόικισης.^{5,12–17} Από αναλύσεις κλωνικότητας της διαδοχής σε πειραματόζωα έχει αποδειχθεί ότι μικρός μόνο αριθμός τέτοιων ιδιαίτερα αρχέγονων κυττάρων, των αληθινών SC, αρκεί για την επαναπόικιση του ΜΟ.^{12,18,19} Από τα κύτταρα αυτά, μέσω πολλαπλασιασμού και διαδοχικών μτώσεων, προκύπτει ένας συνεχώς αυξανόμενος αριθμητικά και διαφοροποιούμενος πλη-



Εικόνα 1. Θεωρητικό πρότυπο ιεραρχικής οργάνωσης φυσιολογικής αιμοποίησης. (α) Κατά την πρόοδο ενός αριθμού μιτωτικών κύκλων κάθε αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου επισυμβαίνουν λειτουργικές μετατροπές, που οδηγούν σε μείωση της δυνατότητας αυτοανανέωσης και πολλαπλασιασμού και αύξηση της πιθανότητας τελικής διαφοροποίησης. (β) Μετά από αλληλάλληλες μτώσεις αυξάνεται ο αριθμός των κυττάρων συνεχώς, μέχρι την τελική τους διαφοροποίηση, ενώ παράλληλα αυξάνεται και ο αριθμός των κυττάρων που είναι «ευαίσθητοποιημένα» για να υπακούσουν σε ένα σήμα διαφοροποίησης ή πολλαπλασιασμού.

θυσμός αιμοποιητικών απογόνων, τα οποία, ακολουθώντας πάντοτε μια σοφή ιεραρχική οργάνωση, αποτελούν τελικά το συνολικό ζωτικό αιμοποιητικό χώρο (εικ. 1). Όσο δε αυξάνει, μετά από κάθε μίτωση, ο συνολικός αριθμός των αιμοποιητικών κυττάρων, τόσο το ποσοστό των κυττάρων που είναι «ευαισθητοποιημένα» για να υπακούσουν στη μετάδοση ενός σήματος πολλαπλασιάζεται. Το γεγονός αυτό σημαίνει ότι τα ευαισθητοποιημένα αυτά κύτταρα δέχονται πιο εύκολα επιρροές από ενδογενείς ή εξωγενείς παράγοντες και υπό φυσιολογικές συνθήκες ευοδώνεται η τελική τους διαφοροποίηση, ενώ παράλληλα ελαττώνεται σημαντικά η πολλαπλασιαστική τους ικανότητα.¹²

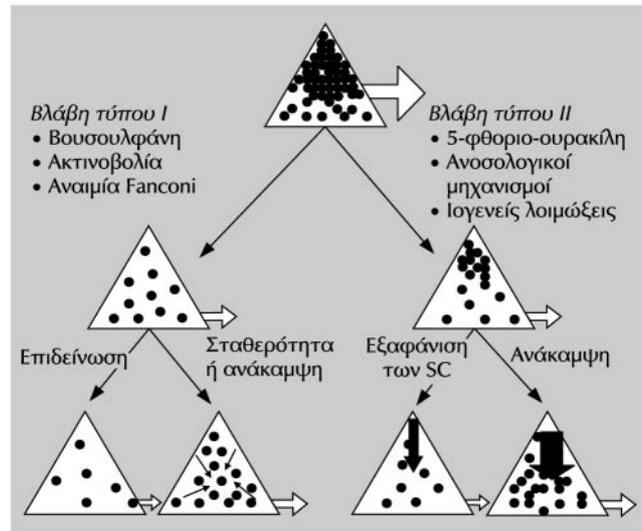
2.4. Παθογενετικοί μηχανισμοί

Οι κυριότερες απόψεις που επικρατούν σήμερα, ως προς την παθογένεια και παθοφυσιολογία της επίκτητης ΑΑ, αφορούν την ποσοτική ή ποιοτική βλάβη των SC, τη διαταραχή του μικροπεριβάλλοντος του ΜΟ, την παρουσία ανώμαλης ανοσιακής απάντησης του οργανισμού και, τέλος, τους συνδυασμούς των ανωτέρω.^{3,5,6,12,13,20}

Η παρουσία της ποσοτικής αλλά και της ποιοτικής διαταραχής των SC στην ΑΑ, υπό την έννοια της ελαττωμένης πολλαπλασιαστικής και επαναποικιστικής τους ικανότητας, σήμερα είναι αναμφισβήτητη.^{14,20,21} Πολλές μελέτες, παλαιότερες αλλά και πρόσφατες, έχουν αποδείξει ελαττωμένη ανάπτυξη αποικιών της ερυθράς και της μυελικής σειράς σε ασθενείς με ΑΑ, τόσο σε βραχείας όσο και σε μακράς διάρκειας κυτταρικές καλλιέργειες,⁹⁻¹² ενώ παράλληλα είναι γνωστό ότι, κατά το χρόνο κλινικής εμφάνισης της ΑΑ, ο απόλυτος αριθμός των SC είναι μικρότερος του 1% του υπό φυσιολογικές συνθήκες συνολικού αριθμού τους.¹²

Μια θεωρητική προσπάθεια ερμηνείας της ετερογένειας της επίκτητης ΑΑ, ανάλογα με τους εκάστοτε εκλυτικούς παράγοντες, τον ποικίλο βαθμό της κυτταρικής του ΜΟ, τη διαφορετική κλινική πορεία, τη σποραδική παρουσία αυτόματης ίασης και, τέλος, την ποικίλη θεραπευτική ανταπόκριση και πρόγνωση, αποτελεί η πρόταση δύο διαφορετικών τύπων βλάβης των SC, του τύπου I και του τύπου II (εικ. 2).

Στη βλάβη τύπου I παραβλάπεται ο κορυφαίος πληθυσμός των πλέον αρχέγονων SC με τις μεγάλες δυνατότητες αυτοανανέωσης και πολλαπλασιασμού, τα οποία στηρίζουν ολόκληρο το οικοδόμημα της αιμοποίησης. Τα κύτταρα αυτά συνήθως βρίσκονται σε φάση ηρεμίας (G0) ως προς τη διαδικασία του αριθμού των μίτωσης και έτσι διαφεύγουν των βλαβών που οι τοξικοί, εξωγενείς κυρίως, παράγοντες προκαλούν. Ο τύπος αυτός της βλάβης συνδυάζεται με δομικές



Εικόνα 2. Σχηματική απεικόνιση των βλαβών τύπου I και II των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων. Βλάβη τύπου I προκύπτει λόγω καταστροφικής δράσης ενός παράγοντα επί όλου του αιμοποιητικού διαμερίσματος κατά τρόπο τυχαίο, με συνέπεια τα ολιγάριθμα και πολύτιμα για τη στήριξη της αιμοποίησης, πλέον αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα, να προσβάλλονται σχετικά σε μεγαλύτερο βαθμό. Βλάβη τύπου II προκύπτει όταν η βλαπτική επίδραση ενός παράγοντα στρέφεται κυρίως εναντίον των μίτωκα δραστηριοποιημένων κυττάρων, ενώ της δράσης αυτής διαφεύγουν τα πλέον άωρα και σχετικά «πυκνάζοντα» αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα (εκτός κυτταρικού κύκλου ή σε G0 φάση). Σημειώτεον ότι και μόνο ποιοτικές διαταραχές των κυττάρων του ζωτικού αιμοποιητικού διαμερίσματος είναι δυνατό και στη βλάβη τύπου I και στη βλάβη τύπου II, σε κάποιο βαθμό, να οδηγήσουν σε μια απόλυτη ποσοτική ελάττωση της αιμοποιητικής δεξαμενής.

αλλοιώσεις του DNA των πλέον άωρων μητρικών αιμοποιητικών κυττάρων, είναι μεγαλύτερης βαρύτητας και συνήθως η επισυμβαίνουσα διαταραχή είναι μη αναστρέψιμη και ανεπανόρθωτη.¹² Παράγοντες που έχουν αιτιοπαθογενετικά συσχετιστεί με την τύπου I βλάβη είναι η ιονίζουσα ακτινοβολία, το βενζένιο, ορισμένα φάρμακα και χημικές ουσίες.^{3,12,22-24}

Αντίθετα, στη βλάβη τύπου II, ο κορυφαίος πληθυσμός των SC παραμένει αλώβητος και βλάπτονται τα διαφοροποιούμενα προγονικά κύτταρα της βάσης της πυραμίδας, τα οποία κατά κανόνα βρίσκονται σε κυτταρική δραστηριότητα. Η βλάβη αυτή αφενός αφορά πιο ώριμα κύτταρα και αφετέρου φαίνεται ότι πιθανότατα στρέφεται εναντίον οργανυλίων ή μακρομορίων του κυτταροπλάσματος, εμποδίζοντας έτσι τη φυσιολογική μεταβολική δραστηριότητα των κυττάρων.¹² Από τα παραπάνω συνάγεται ότι η εν λόγω βλάβη είναι ηπιότερη και αναστρέψιμη και ευτυχώς αφορά την πλειοψηφία των ασθενών με επίκτητη ΑΑ. Βλάβη τύπου II είναι δυνατό να προκληθεί από ιούς, φάρμακα, τοξίνες ή να είναι το

αποτέλεσμα ανοσολογικών μηχανισμών καταστροφής.^{12-14,20-33}

Για να αποκλειστεί το ενδεχόμενο να «φταίει το χόμα και όχι ο σπόρος», μελετήθηκε εκτεταμένα και η πιθανή συμμετοχή του μικροπεριβάλλοντος του ΜΟ στην παθογένεια της επίκτητης ΑΑ.^{10,11,16,20,34} Όπως προκύπτει από πολλαπλές κλινικές *in vivo* μελέτες σε πειραματόζωα και από *in vitro* μελέτες σε μακράς διάρκειας κυτταρικές καλλιέργειες, οι περισσότεροι ασθενείς με επίκτητη ΑΑ παρουσιάζουν φυσιολογική ανάπτυξη και δραστηριότητα των κυττάρων του στρώματος, ενώ εμφανίζουν ανώμαλη και διαταραγμένη λειτουργία των SC.⁹⁻¹² Αυτό είναι ιδιαίτερα προφανές σε μελέτες με διασταυρούμενα πειράματα, όπου κύτταρα στρώματος ασθενών με ΑΑ υποστήριξαν ικανοποιητικά την ανάπτυξη αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων από φυσιολογικούς δότες, ενώ, αντίθετα, τα SC (CD34+) κύτταρα των ασθενών με ΑΑ εμφάνισαν φτωχή ανάπτυξη σε ανάλογες καλλιέργειες με φυσιολογικό στρώμα.^{9-12,16,20,34}

Για πιθανή συμμετοχή της διαταραχής των αυξητικών αιμοποιητικών παραγόντων και της παρουσίας αυτοαντισωμάτων στην παθογένεια της νόσου, έχουν επίσης γίνει διάφορες μελέτες.^{12,13,17,35,36} Τα δεδομένα τους συγκλίνουν στο ότι η συμμετοχή των αυξητικών αιμοποιητικών παραγόντων δεν είναι πρωταρχικής σημασίας στην παθογένεια της ΑΑ και, ως εκ τούτου, στο παρόν άρθρο δεν θα συζητηθούν αναλυτικά. Αξίζει όμως να σημειωθεί ότι η εκάστοτε επάρκειά τους συμβάλλει σημαντικά στο θετικό ισοζύγιο της αιμοποίησης και αντιθέτως.^{37,38}

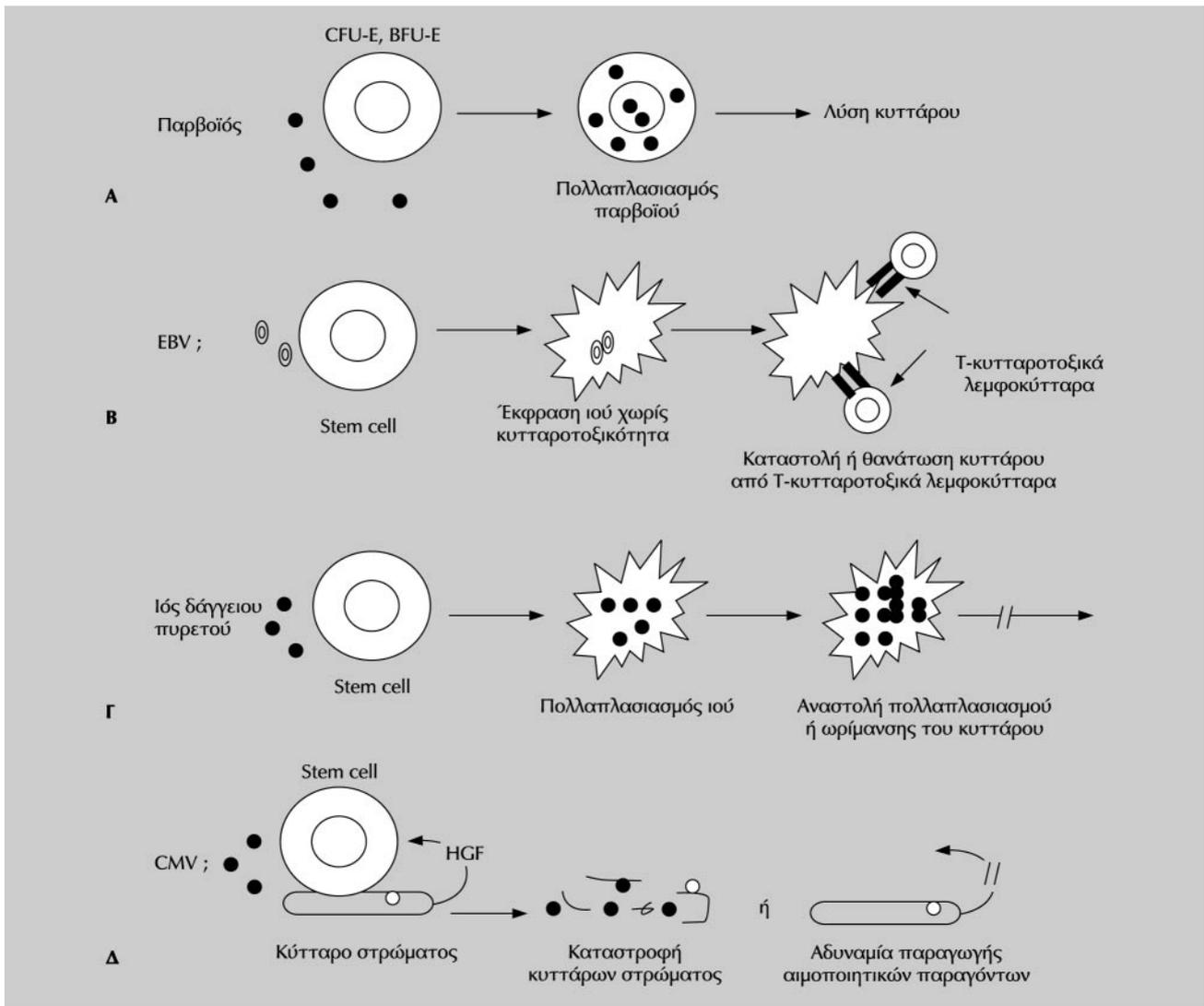
Πέραν όμως της διατύπωσης των ανωτέρω θεωρητικών προτύπων ανάπτυξης της επίκτητης ΑΑ, η παρουσία ενός υποκείμενου ισχυρού αυτοάνοσου μηχανισμού, που σρέφεται καταστροφικά έναντι των αρχέγονων αιμοποιητικών κυττάρων, προβάλλει αναμφισβήτητα.^{13,20,33} Μια σειρά κλινικών παρατηρήσεων, που επιβεβαιώθηκαν στη συνέχεια και πειραματικά, έδωσαν το σίγμα της ισχυρής και δυναμικής παρουσίας διαταραγμένης ανοσιακής αντίδρασης του οργανισμού κατά των SC και, κατ'επέκταση, του θεραπευτικού ρόλου της ανοσοκαταστολής στην εν λόγω διαδικασία.³⁹⁻⁴² Η πρώτη παρατήρηση που έθεσε υπόνοιες για την ύπαρξη υποκείμενου αυτοάνοσου μηχανισμού στην ΑΑ έγινε από τους Mathe et al, όταν παρατήρησαν και περιέγραψαν έναν ασθενή τους με ΑΑ, ο οποίος, ενώ αρχικά υποβλήθηκε σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών και στη συνέχεια απέριψε το αλλογενές μόσχευμα, προς μεγάλη τους έκπληξη προήγαγε αυτόχθονη αιμοποίηση.⁴³ Το γεγονός αυτό αποδόθηκε στην ανοσοκατασταλτική δράση του χημειοθεραπευτικού σχήματος προετοιμασίας, στο οποίο

είχε υποβληθεί ο ασθενής (conditioning regimen) στα πλαίσια της επικεί-μενης μεταμόσχευσης.^{43,44}

Η δεύτερη ισχυρή ένδειξη παρουσίας υποκείμενης αυτοάνοσου τύπου καταστροφής στην επίκτητη ΑΑ προέκυψε από την παρατήρηση ότι για την επανεμφάνιση της αιμοποίησης, σε μεταμοσχεύσεις μεταξύ μονογονικών διδύμων, δεν αρκεί μόνο η χορήγηση ποιοτικά ακέραιων SC, αλλά απαιτείται επιπλέον, σε ποσοστό μεγαλύτερο του 50% των ασθενών, ανοσοκατασταλτικό προπαρασκευαστικό σχήμα.^{13,45} Τέλος, σε άλλες μελέτες παρατηρήθηκε ότι, σε μεγάλη πλειοψηφία ασθενών, συντελείται επανάκαμψη της αιμοποίησης μόνο μετά τη χορήγηση αντιλεμφοκυτταρικού ορού ή κυκλοφωσφαιμίδης.^{39,41,46-48}

Το θεωρητικό πρότυπο που αφορά τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ανοσιακού συστήματος και των αιμοποιητικών κυττάρων αποδίδεται σχηματικά στην εικόνα 3.²⁰ Αναλυτικότερα, τα αιμοποιητικά «κύτταρα-στόχοι» βάλλονται από τα ενεργοποιημένα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα και υφίστανται βλάβη, η οποία προκαλείται μέσω συνεχών αλληλεπιδράσεων υποδοχέων και συνδεδετικών μορίων τους (receptors-ligands), μέσω αύξησης της μεταβίβασης ενδοκυττάρων σημάτων και μέσω ενεργοποίησης διαφόρων γονιδίων. Ο καταστροφικός ρόλος των Τ-κυτταροτοξικών λεμφοκυττάρων επί των κυττάρων κατά κανόνα ασκείται μέσω των εκκρινόμενων λεμφοκινών και κυρίως της ιντερφερό-νης-γ (IFN-γ) και του παράγοντα νέκρωσης του όγκου (TNF). Οι λεμφοκίνες αυτές αναστέλλουν την αιμοποίηση με τους εξής μηχανισμούς:^{13,20,47,49}

- α. Αλληλοενισχύοντας την έκφραση των κυτταρικών τους υποδοχέων και του υποδοχέα του γονιδίου *Fas*, με παράλληλη προαγωγή της πολυκλωνικής αύξησης των Τ-λεμφοκυττάρων μέσω παραγωγής ιντερλευκίνης-2 (IL-2). Στη συνέχεια, η ενεργοποίηση του *Fas*-υποδοχέα στο κύτταρο-στόχο, μέσω του συνδεδετικού μορίου του *Fas*, ο οποίος υπερεκφράζεται από τα αυξημένα Τ-κυτταροτοξικά λεμφοκύτταρα, οδηγεί σε απόπτωση τα κύτταρα-στόχους.^{20,50,51}
- β. Αναστέλλοντας τη μεταγραφή κυτταρικών γονιδίων και εμποδίζοντας έτσι την ομαλή είσοδο σε κύκλο και κίνηση του αιμοποιητικού κυττάρου, επηρεάζοντας με τον τρόπο αυτόν και τη βιωσιμότητά του.^{13,20,21,49} Ο μηχανισμός αυτός αφορά την IFN-γ και επηρεάζεται διά του ρυθμιστικού της ιντερφερόνης παράγοντα (IRF-1).
- γ. Προάγοντας την αυξημένη σύνθεση νιτρικών οξειδίων και την παραγωγή του τοξικού για τα κύτταρα μονοξειδίου του αζώτου, καθώς και άλλων ουσιών. Οι ουσίες αυτές είναι τοξικές όχι μόνο για το



Εικόνα 4. Μηχανισμοί μέσω των οποίων, θεωρητικώς, δρουν διάφοροι ιοί που έχουν συνδεθεί με εμφάνιση απλαστικής αναιμίας. Α: Άμεση κυτταροτοξικότητα. Ενδοκυτταρική δράση του παρβοϊού επί των προγονικών κυττάρων της ερυθράς σειράς, αποδεδειγμένη και πειραματικά. Β: Ανοσοπροκλητική κυτταροτοξικότητα. Γ: Αναστολή βασικών λειτουργιών του κυττάρου. Δ: Αναστολή λειτουργίας βοηθητικών κυττάρων. Στους μηχανισμούς Β, Γ και Δ, παρότι υπάρχουν ισχυρές ενδείξεις για τη σχέση τους με την εμφάνιση της απλαστικής αναιμίας, χρειάζονται και άλλα πειραματικά δεδομένα για να επαληθευθεί η δράση τους.

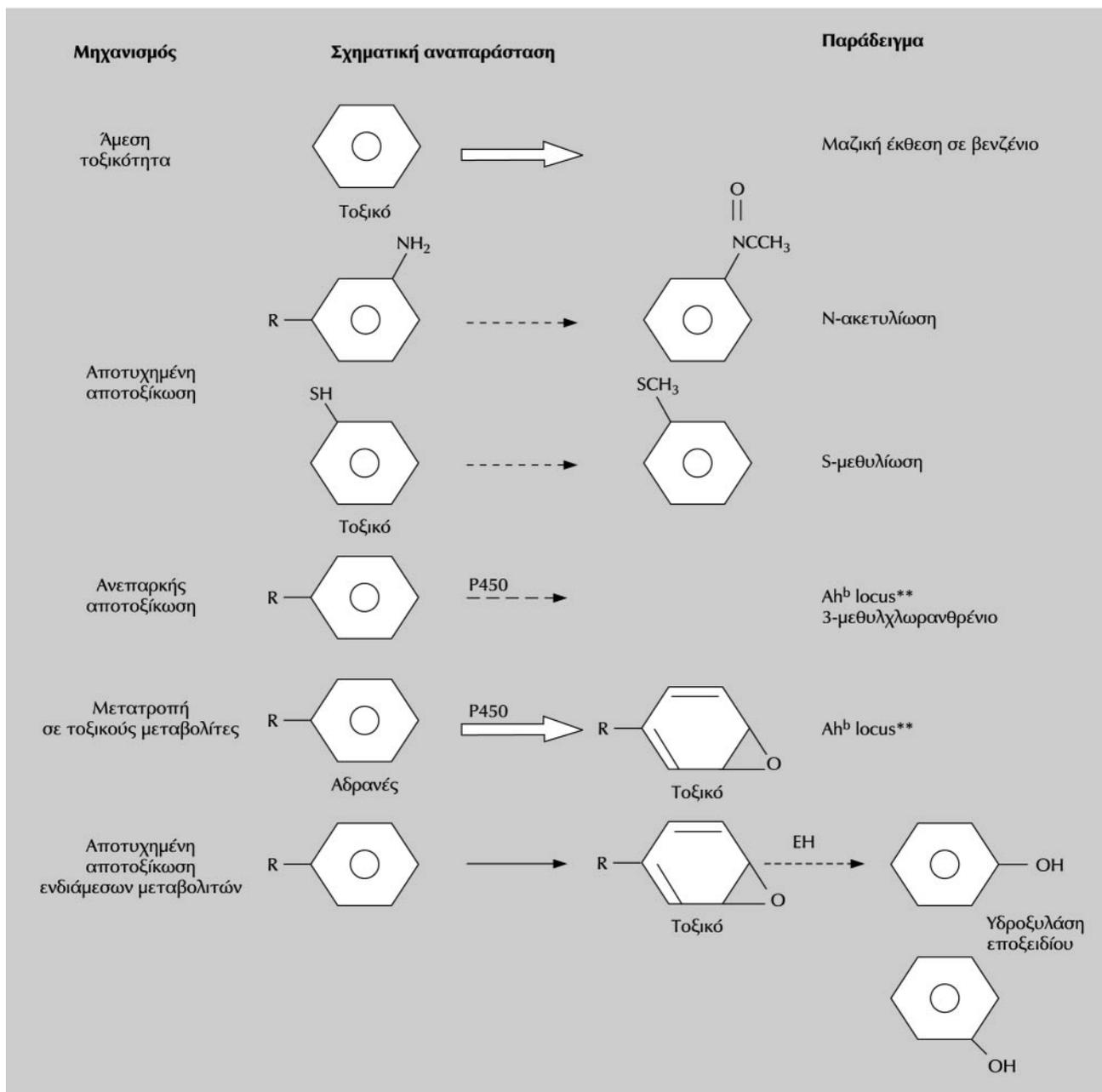
πρωτεΐνες και το DNA του αιμοποιητικού κυττάρου.²³ Ακολουθεί η απώλεια της ανοσιακής ανοχής, δεδομένου ότι το ανοσιακό σύστημα αναγνωρίζει ως ξένα τα παραλλαγμένα αιμοποιητικά κύτταρα, και έπεται η αυτοάνοση διαδικασία της καταστροφής.²⁰

Ευτυχώς, πολλοί είναι οι ρυθμιστικοί παράγοντες που καθορίζουν την ιδιοσυστασιακή απάντηση στα φάρμακα.^{20,23} Στο γεγονός αυτό οφείλεται όχι μόνο η πολυπλοκότητα της δράσης τους, αλλά και η σπανιότητα φαρμακευτικής πρόκλησης επίκτητης ΑΑ. Συνοπτικά, οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ μεταβολικών των φαρμάκων και

αιμοποιητικών κυττάρων, που οδηγούν στην ιδιοσυστασιακή τους δράση, η οποία τελικά καταλήγει σε μυελική ανεπάρκεια, αφορά άμεση γενετική ή μεταβολική βλάβη, με επακόλουθη μετάλλαξη του DNA και τελικά πρόκληση αυτοάνοσης καταστροφής (αλλοίωση της ανοσιακής ρύθμισης).²³

2.6. Κλινική εικόνα

Η κλινική εικόνα της επίκτητης ΑΑ σχετίζεται με το βαθμό της υφιστάμενης πανκυτταροπενίας. Αιμορραγικές εκδηλώσεις, αναιμία, ουδετεροπενία, συχνές και σοβαρές λοιμώξεις, είναι η συνήθης κλινική προβολή



Εικόνα 5. Ορισμένα πρότυπα φαρμακολογικών μηχανισμών τοξικότητας προκαλούμενης από χημικές και φαρμακευτικές ουσίες. (Ah^b locus**=γονιδιακός τόπος ρυθμιστικός της παραγωγής ενζύμων υπεύθυνων για το μεταβολισμό φαρμακευτικών ουσιών).

της νόσου στα παιδιά και στους ενήλικες.²⁻⁵ Ορισμένες φορές η έναρξη της νόσου είναι τόσο βαριά, ώστε θέτει σε άμεσο κίνδυνο τη ζωή του ασθενούς. Άλλωστε, η δραματικότητα της κλινικής προβολής, όπως και η απογοητευτική μέχρι πριν από λίγα χρόνια πορεία της βαριάς ΑΑ, υπήρξε ίσως ο κυριότερος μοχλός που κινητοποίησε διαχρονικά μια τεράστια σε έκταση κλινική και βασική έρευνα, η οποία είναι εμφανώς δυσανάλογη της συχνότητας της νόσου. Σήμερα, πάντως, με την

έγκαιρη διάγνωση και με τη βελτίωση της υποστηρικτικής αγωγής, οι άμεσοι θάνατοι τείνουν συνεχώς να περιορίζονται και η ζωή των πασχόντων διατρέχει μικρότερο κίνδυνο.

2.7. Στοιχεία βαρύτητας νόσου – Διάγνωση

Σε μια προσπάθεια κοινής εκτίμησης της σοβαρότητας της ΑΑ μεταξύ των ποικίλων ομάδων των ασθενών, οι Camitta et al οριοθέτησαν τη βαρύτητα της νόσου,

Πίνακας 3. Διαγνωστικά κριτήρια βαριάς απλαστικής αναιμίας.⁵⁴

Αναιμία με δικτυοερυθροκυτταρικό δείκτη <1%
Απόλυτος αριθμός πολυμορφοκυττάρων <200/μL
Τιμή αιμοπεταλίων <20.000/μL
Κυτταροβρίθεια μυελού των οστών <25% της αναμενόμενης για την ηλικία του ασθενούς
Κυτταροβρίθεια μυελού των οστών μεταξύ 25–50% της φυσιολογικής, αλλά με ποσοστό αιμοποιητικών κυττάρων <30%

στηριζόμενοι στα ευρήματα από τη γενική αίματος και το μυελόγραμμα κατά τη διάγνωση.^{53,54} Ως εκ τούτου, σήμερα, ανεξαρτήτως των επιμέρους κλινικών ή επιδημιολογικών στοιχείων της κάθε μορφής, ως βαριά ΑΑ θεωρείται η νόσος που περιλαμβάνει τουλάχιστον 2 από τα διαγνωστικά κριτήρια του πίνακα 3.⁵⁴

Η αιματολογική-μορφολογική εικόνα της βαριάς ΑΑ είναι τραγικά απλούστατη: ομοιόμορφη πανκυτταροπενία στο περιφερικό αίμα και εικόνα ερήμωσης του ΜΟ. Πλην όμως, αυτής της ακραίας, και δυστυχώς συχνής στην παιδική ηλικία αιματολογικής εικόνας, μπορεί να ανευρίσκεται άλλοτε άλλου βαθμού ανεπάρκεια του ΜΟ, με ποικίλου βαθμού ποσοτική ελάττωση των επιμέρους κυτταρικών σειρών στα επιχρίσματα του ΜΟ και του αίματος.^{2-5,55}

Η οστεομυελική βιοψία θεωρείται εκ των ων ουκ άνευ στοιχείων ελέγχου της ΑΑ, γιατί σε αυτή εκτιμώνται αντιπροσωπευτικά η ποσοτική και η ποιοτική διαταραχή των στοιχείων της αιμοποίησης.^{56,57} Με τον τρόπο αυτόν περιορίζονται τυχόν λάθος εκτιμήσεις προερχόμενες είτε από τεχνικούς λόγους (π.χ. αραίωση των εμμόρφων στοιχείων από πρόσμιξη αίματος) ή από εγγενείς και σύμφυτες με την ιδιαιτερότητα της νόσου λανθασμένες εκτιμήσεις, όπως για παράδειγμα η μορφολογική εντόπιση και εσφαλμένη εκτίμηση εστιών υπολειμματικής αιμοποίησης, που είναι δυνατό να αποπροσανατολίσουν από τις πραγματικές διαστάσεις του προβλήματος.^{2,5,56,57} Οι δυσκολίες αυτές, τεχνικές και αντικειμενικές, πολλαπλασιάζονται στην παιδική ηλικία, γεγονός που οφείλεται στο μικρό δέμας των παιδιατρικών ασθενών.

Τα χαρακτηριστικά παθολογοανατομικά ευρήματα των οστεομυελικών βιοψιών στη βαριά ΑΑ αφορούν παρουσία υποκυτταρικότητας και κενών μυελοχώρων, αύξηση του λίπους και αύξηση των δικτυοενδοθηλιακών κυττάρων, των πλασματοκυττάρων και των μαστοκυττάρων. Ευρήματα μέτριων δυσερυθροποιητικών και ήπιων μεγαλοβλαστικών αλλοιώσεων μπορούν να συνυπάρχουν με την ΑΑ.^{2,4,5,55,58} Επιπλέον, δυσμενή προγνωστικό ρόλο φαίνεται να έχει, όπως στους ενήλικες και στα παιδιά, η παρουσία λεμφοκυτταρικής διήθησης του ΜΟ σε ποσοστό άνω

του 70%, η βαριά υποκυτταρικότητα ή και η απόλυτη απουσία των αιμοποιητικών κυττάρων στο ΜΟ.²⁻⁵

Στα πλαίσια της τρέχουσας κλινικής πράξης, η περαιτέρω διαγνωστική εκτίμηση της ΑΑ γίνεται με τον κυτταρογενετικό έλεγχο των κυττάρων του αίματος (δηλαδή, του ελέγχου του συστηματικού καρυοτύπου και της αναζήτησης θραυσμάτων των χρωμοσωμάτων χωρίς ή και με μιτογόνα ερεθίσματα) και τον έλεγχο των κυττάρων του ΜΟ για αναζήτηση ελλειμμάτων, μεταθέσεων ή άλλων συμπλόκων χρωμοσωματικών ανωμαλιών. Οι ανωτέρω κυτταρογενετικές ανωμαλίες δυνατόν να εντάσσονται στις σταθερά επαναλαμβανόμενες ή στις τυχαίες και να είναι κλωνικού ή μη κλωνικού τύπου.^{2,5,59,60}

Ειδικότερα για το σκέλος της ερυθροποιητικής λειτουργίας στην ΑΑ, γίνεται μελέτη της κινητικής του Fe⁶¹ και σπινθηρογράφημα του ΜΟ με Indium-111 συνδεδεμένου με τρανσφερίνη,⁶² που επιβεβαιώνει τη μεγάλη ελάττωση της ερυθροκυτταρικής μάζας. Απεικονιστικές μέθοδοι που μπορούν να βοηθήσουν στην εκτίμηση της κυτταρικότητας του ΜΟ σε δυσδιάγνωστες περιπτώσεις είναι η μαγνητική τομογραφία^{56,63} και η τομογραφία με εκπομπή ποζιτρονίων (positron emission tomography, PET).⁶⁴ Η πρώτη, και πιο γνωστή μέθοδος, έχει την ικανότητα να διακρίνει το λίπος από τα κυτταρικά στοιχεία με βάση την πυκνότητά τους. Η δεύτερη απεικονιστική μέθοδος, η οποία δεν είναι ακόμη ευρείας χρήσης, μπορεί να υπολογίσει την κυτταρικότητα του ΜΟ μέσω της καταμέτρησης του μεταβολισμού των ιστών, χρησιμοποιώντας ραδιενεργά σεσημασμένο οξυγόνο.

Τέλος, την πλέον εξειδικευμένη σήμερα *in vitro* μελέτη των διαταραχών της αιμοποίησης στην ΑΑ αποτελούν οι βραχείας και μακράς διάρκειας κυτταρικές καλλιέργειες των μυελικών κυττάρων, με προσθήκη συνδυασμού ή μεμονωμένων αυξητικών αιμοποιητικών παραγόντων (TPO, SCF, IL-3, G- και GM-CSF, EPO κ.λπ.). Στις καλλιέργειες αυτές εκτιμώνται οι ποσοτικές ή και ποιοτικές διαταραχές της ανάπτυξης συνολικά ή μεμονωμένων αιμοποιητικών σειρών, καθώς και οι πιθανές διαταραχές του στρώματος, χρησιμοποιούνται δε κυρίως για εξυπηρέτηση ερευνητικών σκοπών.^{9-12,14,39,65}

2.8. Διαφορική διάγνωση

Η διαφορική διάγνωση της πανκυτταροπενίας σε ένα παιδί, σε θεωρητική βάση, αφορά ένα μακρύ κατάλογο νοσημάτων. Πλην της επίκτητης ΑΑ, περιλαμβάνει, κυρίως, τα μυελοδυσπλαστικά σύνδρομα, την υποκυτταρική ή απλαστική μορφή της οξείας λευχαιμίας, ορισμένα λεμφώματα, τον υπερσπληνισμό, τα αυτοάνοσα νοσήματα, με κύριο εκπρόσωπο το συστηματικό ερυθρο-

ματώδη λύκο, ορισμένες λοιμώξεις (π.χ. φυματίωση, πυρετός Q, νόσος των λεγεωναρίων), τις στερητικές καταστάσεις (π.χ. πείνα, anorexia nervosa στους εφήβους) ή, τέλος, την εγκυμοσύνη της εφηβικής ηλικίας.^{2-8,56,58,66}

Ιδιαίτερη δυσκολία δυνατόν να εμφανίζει η μορφολογική εικόνα της ΑΑ, όταν παράλληλα με τη μυελική απλασία συνυπάρχουν στο μυελόγραμμα στοιχεία δυσποίησης μίας ή περισσοτέρων κυτταρικών σειρών. Στις περιπτώσεις αυτές, η διαφορική διάγνωση μεταξύ υποκυτταρικού μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου (ΜΔΣ) και ΑΑ, με κριτήρια μορφολογικά, καθίσταται προβληματική.^{24,67} Αξίζει δε να σημειωθεί ότι, γενικά, το 10–15% των ΜΔΣ προβάλλουν με υποκυτταρικό μυελό, ενώ το 4% των περιπτώσεων της ΑΑ ή και περισσότερο παρουσιάζουν στοιχεία μυελοδυσπλασίας.²⁴ Οι διαγνωστικές αυτές δυσκολίες προκύπτουν συχνά και στους παιδιατρικούς ασθενείς με εικόνα μέτριας ή βαριάς μυελικής απλασίας και τότε πρέπει να διευκρινίζεται αν η παρουσία υποκυτταρικού ΜΟ σχετίζεται με τη δράση ενός εξωγενούς τοξικού παράγοντα ή περιλαμβάνεται στα πλαίσια ιδιοπαθούς επίκτητης ΑΑ ή, τέλος, ανήκει σε κάποιο από τα άλλα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας (π.χ. μυελοδυσπλαστικό σύνδρομο, στερητικό ή αυτοάνοσου τύπου νόσημα κ.ά.).²⁻⁵

Η διάκριση μεταξύ των ανωτέρω καταστάσεων στηρίζεται στο ιστορικό του ασθενούς (π.χ. μεγάλης ηλικίας άτομα και έρπουσα πορεία συνηγορεί υπέρ ΜΔΣ· αντίθετα, κεραυνοβόλος εικόνα, σε νεαρά άτομα και εφήβους, συνηγορεί υπέρ ΑΑ), ενώ σημαντική βοήθεια προσφέρουν τα επιμέρους ευρήματα από τη μορφολογία και την κατανομή των κυττάρων στις οστικές δοκίδες (κύτταρα ALIP, Abnormal Localization of Immature Precursors) της οστεομυελικής βιοψίας, η παρουσία μικρομεγακαρουκυττάρων, η παρουσία ειδικών κυτταρογενετικών ανωμαλιών που κατεξοχήν χαρακτηρίζουν τα ΜΔΣ και ο αυξημένος βαθμός λεμφοκυτταρικής διήθησης του ΜΟ, που συνήθως απαντάται στην ΑΑ.^{2,4,5,24,58,59}

2.9. Απλαστική αναιμία και κλωνικού τύπου αιματολογικά νοσήματα

Πέραν όμως των διαγνωστικών θεμάτων, που ανακύπτουν στην κλινική πράξη, υπάρχουν στο ερευνητικό πεδίο της ΑΑ αρκετά ακόμη δυσνόητα σημεία. Σήμερα, τα κυριότερα από αυτά συνοψίζονται στα εξής:

- Ποια είναι η σχέση της επίκτητης ΑΑ με άλλα γνωστά, κλωνικής φύσης, κακοήθη αιματολογικά νοσήματα, όπως τα ΜΔΣ και η οξεία λευχαιμία;
- Υφίσταται κλωνική αιμοποίηση στην επίκτητη ΑΑ;

γ. Θα μπορούσε η επίκτητη ΑΑ να θεωρηθεί ως μια προ-προλευχαιμική διαταραχή;

Τα ανωτέρω ερωτήματα, πλην των θεραπευτικών, που επίσης δεν έχουν οριστικά απαντηθεί, είναι ίσως από τα σημαντικότερα που απασχολούν σήμερα τους ερευνητές στον τομέα της απλαστικής αναιμίας.

Αξιοπίστες όμως απαντήσεις έχουν ήδη αρχίσει να δίνονται, υπό τη μορφή των κλινικών αλλά και των βιολογικών ενδείξεων και κατωτέρω αναφέρονται ορισμένες από αυτές.^{8,24,66-71}

Οι κλινικές ενδείξεις βασίζονται σε δύο μελέτες της Severe Aplastic Anemia Working Party του European Group for Blood and Bone Marrow Transplantation, όπου βρέθηκε ότι το 15% των πασχόντων από ΑΑ ασθενών, στα 7 έτη από τη διάγνωση, θα εμφανίσουν ΜΔΣ ή οξεία λευχαιμία.^{47,72} Ειδικότερα, οι ασθενείς που λαμβάνουν μόνο ανοσοκατασταλτική αγωγή θα αναπτύξουν κάποιο κακόηθες νόσημα σε ποσοστό 18,8%, συμπεριλαμβανομένων στο ποσοστό αυτό των ΜΔΣ (9,6%) και της οξείας λευχαιμίας (6,6%).^{71,72} Αντίθετα, το αντίστοιχο ποσοστό αιματολογικών κακοηθειών που αναπτύσσουν οι ασθενείς με ΑΑ που έχουν υποβληθεί θεραπευτικά σε αλλογενή μεταμόσχευση μυελού των οστών, είναι μόνο 3,1%.^{47,71} Όταν, μάλιστα, η σύγκριση αυτή γίνει με το γενικό πληθυσμό, τότε διαπιστώνεται ότι οι ασθενείς με ΑΑ έχουν πολλαπλάσια πιθανότητα εμφάνισης οξείας λευχαιμίας, ενώ, επιπλέον, ο λόγος της παρατηρηθείσας προς την αναμενόμενη συχνότητα ανάπτυξης αιματολογικής κακοήθειας στους ασθενείς με ΑΑ υπό ανοσοκατασταλτική αγωγή ανέρχεται σε 115 ($P < 0,001$), ενώ μετά από αλλογενή μεταμόσχευση ΜΟ είναι μόνο 28,6 ($P < 0,001$).^{24,47,71}

Οι βιολογικές ενδείξεις βασίζονται σε πολλαπλές μελέτες, οι οποίες συγκλίνουν στο συμπέρασμα ότι η επίκτητη ΑΑ συσχετίζεται με τα ΜΔΣ, την οξεία λευχαιμία και την παροξυσμική νυκτερινή αιμοσφαιρινουρία (PNH).^{47,67,75}

Από μελέτη των μορφολογικών ευρημάτων της γενικής αίματος και του μυελογράμματος, σε ασθενείς με ΑΑ που αντιμετωπίστηκαν με αντιλεμφοκυτταρικό ορό (ALG), φαίνεται ότι διατηρούνται προοπτικά χαμηλοί αριθμοί αιμοπεταλίων και επίμονη άτυπη μονοκυττάρωση, ενώ όσοι από τους ασθενείς αυτούς ανέπτυξαν στη συνέχεια ΜΔΣ, παρουσίαζαν σε πρώιμη φάση αυξημένο αριθμό δακτυλιοειδών σιδηροβλαστών.⁴⁷

Επιπλέον, κυτταρογενετικές μελέτες, που έγιναν αρχικά στο Seattle των ΗΠΑ, έδειξαν κλωνικού τύπου κυτταρογενετικές ανωμαλίες κατά τη διάγνωση ασθενών μιας τυπικής κατά τα άλλα ΑΑ, γεγονός το οποίο φάνηκε καταρχήν να εντάσσει τη νόσο στα κλωνικού τύπου

αιματολογικά νοσήματα.^{47,71} Επιπρόσθετα, μια προκαταρκτική μελέτη της Ευρωπαϊκής Ομάδας Μεταμόσχευσης Μυελού των Οστών (EBMT), που βρίσκεται σε εξέλιξη, αναφορικά με τα κυτταρογενετικά δεδομένα ασθενών με ΑΑ, ανεβάζει το ποσοστό των κλωνικού τύπου διαταραχών σε 6%.⁷¹

Τέλος, φαίνεται να εντοπίζεται κλωνικού τύπου αιμοποίηση σε ασθενείς με ΑΑ μέσω ειδικών μοριακών μελετών.⁶⁷⁻⁶⁹ Η πρώτη ανακοίνωση έγινε το 1991, από την ομάδα του Leiden Ολλανδίας, όπου 13/18 ασθενείς με ΑΑ βρέθηκαν να παρουσιάζουν ετερόπλευρη απενεργοποίηση του Χ χρωμοσώματος, ευρήματος συμβατού με κλωνικότητα.⁶⁸ Άλλοι όμως μελετητές, στη συνέχεια, έδωσαν πολύ μικρότερα αντίστοιχα ποσοστά.^{67,69,73}

Θα πρέπει, στο σημείο αυτό, να τονιστεί ότι όλα αυτά τα στοιχεία περί κλωνικής αιμοποίησης στην ΑΑ πρέπει να αναλυθούν με περίσκεψη, για την πιθανή κλινική σημασία τους, ιδιαίτερα υπό το φως των νεότερων συγκλονιστικών δεδομένων της ανεύρεσης μονοκλωνικών προτύπων αιμοποίησης και σε φυσιολογικά άτομα.^{74,75}

Μια υπόθεση, λοιπόν, που θα υποστήριζε ότι η ΑΑ μπορεί να είναι μια προ-προλευχαιμική διαταραχή, θα πρέπει να λάβει υπόψη της όλες τις υπάρχουσες κλινικές και βιολογικές ενδείξεις που ενισχύουν ή αποδυναμώνουν την ανωτέρω εκδοχή. Εφόσον δε θα συνηγορούσε υπέρ μιας προ-προλευχαιμικού τύπου διαταραχής της αιμοποίησης, τότε το θεωρητικό πρότυπο ανάπτυξης της τελικής λευχαιμογένεσης θα ήταν δυνατό να ακολουθεί, σχηματικά, τα βήματα μιας πολυσταδιακής διαδικασίας, όπως φαίνεται στην εικόνα 6.⁴⁷ Συγκεκριμένα, υπάρχουν συνεχώς αυξανόμενες ενδείξεις ότι στην ΑΑ η αιμοποίηση διαταράσσεται ποσοτικά αλλά και ποιοτικά, όχι μόνο λόγω της παρέμβασης του ανοσιακού συστήματος, αλλά και λόγω υποκείμενης γενετικής βλάβης των αιμοποιητικών κυττάρων, η οποία ή προϋπάρχει της ανοσιακής αντίδρασης ή ακολουθεί. Η διαταραγμένη αυτή αιμοποίηση, σε ορισμένες περιπτώσεις, αλλά όχι σε όλες, φαίνεται να είναι κλωνικού τύπου. Το ανοσιακό σύστημα καταρχήν παρεμβαίνει επιπρόσθετα, με τις γνωστές συνέπειες. Ακολουθώντας, η θεραπευτική δράση της χορηγούμενης ανοσοκατασταλτικής αγωγής περιορίζει την ένταση της αυτοάνοσης καταστροφής. Όμως, ήδη υπάρχει ή εμφανίζεται μετά από κάποιο χρονικό διάστημα ένας παθολογικός κυτταρικός κλώνος, ο οποίος φαίνεται να έχει ένα προβάδισμα ανάπτυξης πάνω στον απλαστικό μυελό.^{20,47} Στη συνέχεια, η τυχόν συσσώρευση επιπρόσθετων μεταλλάξεων στα γονίδια *N-ras*, *fms* και *p53* ή σε άλλα άγνωστα μέχρι στιγμής γονίδια, καθώς επίσης και η προσθήκη ανώμαλων κλωνικών κυτταρογενετικών ανω-

μαλιών, όπως για παράδειγμα της μονοσωμίας 7, μπορεί να οδηγήσει στην πρόοδο του μεταλλαγμένου αιμοποιητικού κυτταρικού κλώνου, με επακόλουθο την εμφάνιση μυελοδυσπλαστικού συνδρόμου ή οξείας λευχαιμίας.^{20,47,67-69,71}

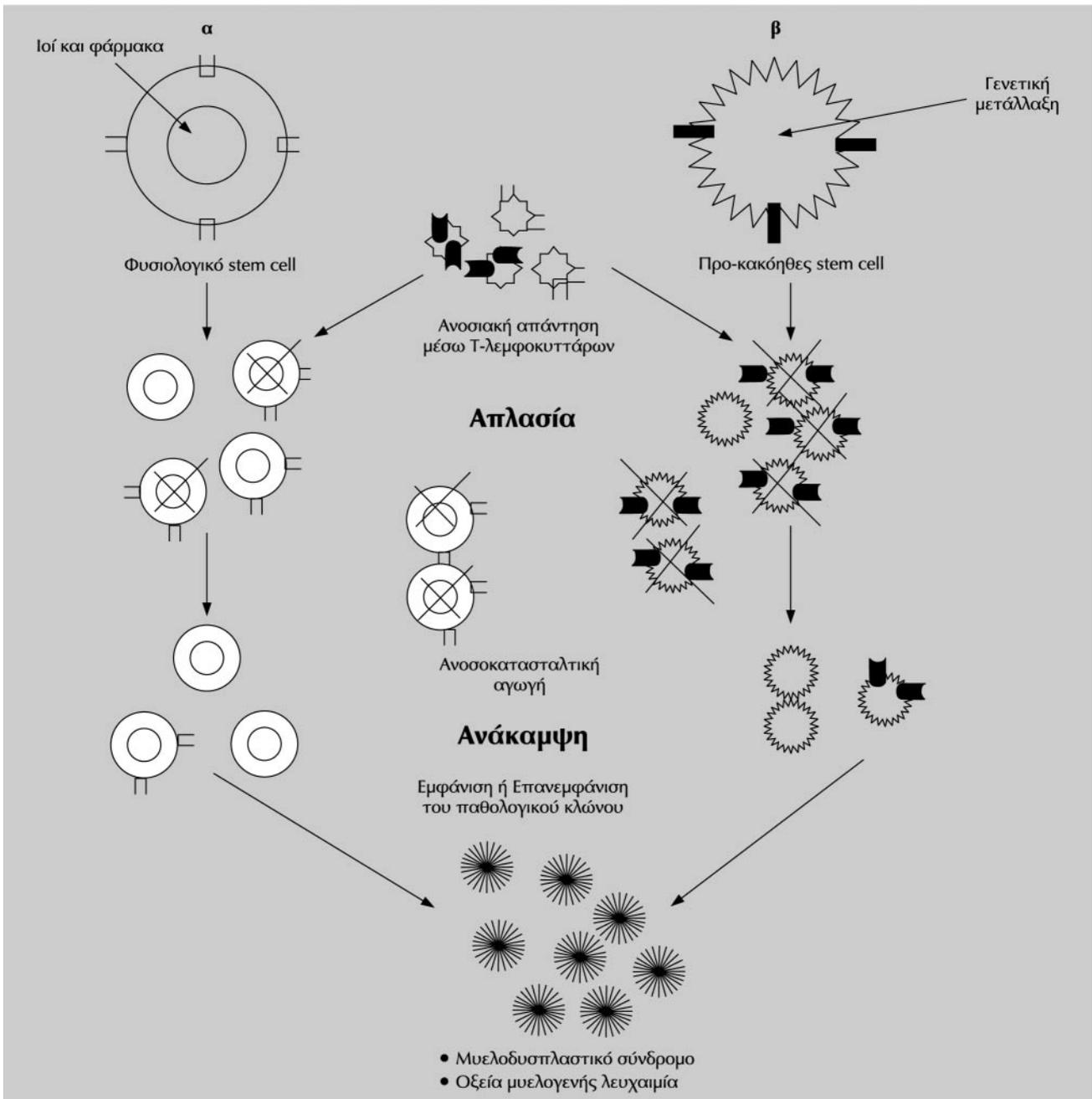
3. ΚΛΗΡΟΝΟΜΟΥΜΕΝΗ ΑΠΛΑΣΤΙΚΗ ΑΝΑΙΜΙΑ

Οι ασθενείς με κληρονομούμενα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας (πίν. 2) συχνά παρουσιάζουν συγγενείς ανωμαλίες.^{60,76,77} Η επισήμανση των ανωμαλιών αυτών (παρά το γεγονός ότι δεν θεωρούνται υποχρεωτικές για τη διάγνωση του συνδρόμου) είναι δυνατό να βοηθήσει στον έγκαιρο καθορισμό του γενετικού προβλήματος και των περαιτέρω διαταραχών της αιμοποίησης, με τις οποίες συνδέεται εκάστοτε το σύνδρομο, πολύ πριν εκδηλωθεί η πλήρης αιματολογική παθολογική εικόνα.⁷⁸ Τις περισσότερες όμως φορές συμβαίνει η σύνδεση αυτή να διαλανθάνει της προσοχής επί μακρόν, εφόσον πολλοί ασθενείς με κληρονομούμενα σύνδρομα μυελικής ανεπάρκειας επισκέπτονται αρχικά για το προέχον πρόβλημα άλλες ειδικότητες (π.χ. ορθοπαιδικούς, πλαστικούς χειρουργούς κ.λπ.), πριν τελικά καταλήξουν στον παιδίατρο-αιματολόγο ή τον αιματολόγο ενηλίκων.⁶⁰ Αλλά και τότε ακόμη, συχνά θεωρείται η υποκείμενη κλωνική νόσος ως *de novo* υποκυτταρικό ΜΔΣ ή οξεία λευχαιμία, διότι έχει διαλαθεί η προηγηθείσα περίοδος της κληρονομούμενης απλασίας.^{5,60,76}

Είναι εμφανείς, λοιπόν, ορισμένοι τουλάχιστον από τους λόγους για τους οποίους η τελική συχνότητα και η σημασία των κληρονομούμενων συνδρόμων μυελικής ανεπάρκειας συχνά υποεκτιμάται σοβαρά! Ενδεικτικά, τρεις μόνο αριθμοί είναι ικανοί να δώσουν το μέγεθος του προβλήματος, που προσομοιάζει με το παγόβουνο κάτω από το νερό. Συγκεκριμένα:

- Το 25–30% του συνόλου της παιδικής απλαστικής αναιμίας πιθανότατα συμβαίνει επί «διαταραγμένου» γενετικού υποστρώματος, το οποίο τελικά φαίνεται να ενέχεται στην πρόκληση μυελικής ανεπάρκειας.^{60,76-79}
- Το 5–10% των ασθενών μεγάλων διαγνωστικών και θεραπευτικών κέντρων, με διαγνωσμένη επίκτητη ΑΑ, έχει διαπιστωθεί ότι πάσχουν τελικά από αναιμία Fanconi.⁷⁶
- Υπάρχει έντονη αίσθηση ότι η συχνότητα των ετεροζυγωτών της αναιμίας Fanconi στο γενικό πληθυσμό, στις ΗΠΑ και την Ευρώπη, δυνατόν να ανέρχεται σε 1/300.^{5,76,80}

Ειδικότερα, η αναιμία Fanconi είναι νόσημα μεταβιβαζόμενο με το σωματικό υπολειπόμενο χαρακτήρα και προσβάλλει τα άρρενα σε σχέση με τα θήλεα



Εικόνα 6. Δύο θεωρητικά πρότυπα εξέλιξης της απλαστικής αναιμίας σε κλωνικού τύπου κακότηες αιματολογικό νόσημα. (α) Η πρωταρχική διαταραχή αφορά το ανοσοακό σύστημα και η όλη διαδικασία εξελίσσεται γύρω από το δίπολο «ανάπτυξη αυτοανοσίας-διαταραχή ανοσιακής ανοχής». (β) Η πρωταρχική διαταραχή αφορά ποιοτική βλάβη (π.χ. γενετική μετάλλαξη) του μητρικού αιμοποιητικού κυττάρου, ενώ το ανοσοακό σύστημα, στην προκειμένη περίπτωση, εμπλέκεται δευτερογενώς και η όλη διαδικασία εξελίσσεται γύρω από το δίπολο «διαταραχή της ανοσιακής επιτήρησης-διαφυγή της προσοχής του συστήματος» γενετικά διαταραγμένων κυττάρων και, συνεπώς, επισυμβαίνει ανάπτυξη και πολλαπλασιασμός τους, με τελική εκδήλωση την αιματολογική κακοήθεια. Σημειωτέον ότι μια άλλη συνιστώσα της διαδικασίας εκτροπής της φυσιολογικής αιμοποίησης προς κακοήθη, στην απλαστική αναιμία, είναι η επιδεκτικότητα της ανακάμπτουσας και ταχέως αυξανόμενης αιμοποιητικής δεξαμενής σε μεταλλαξιγόνα ερεθίσματα, με επακόλουθη την κακοήθη μετατροπή.

άτομα σε αναλογία 1,3:1.⁵ Η μέση ηλικία εμφάνισης για μεν τα αγόρια είναι τα 7,9 έτη, ενώ για τα κορίτσια ανέρχεται στα 9 έτη.^{5,76,80} Η τυπική εικόνα της αναιμίας Fanconi αφορά κοντό ανάστημα, ανώμαλους αντίχειρες,

cafe au lait κηλίδες, μικροκεφαλία, χαρακτηριστικό προσώπείο και υπογοναδισμό των αρρένων.^{5,80}

Από τον εργαστηριακό έλεγχο διαπιστώνεται πανκυταροπενία, της οποίας κατά κανόνα προηγείται χρονικό

διάστημα μεμονωμένης θρομβοπενίας ή λευκοπενίας. Στο επίχρισμα του περιφερικού αίματος υπάρχει μακροκυττάρωση με συνοδό ήπιου βαθμού ανισοκυττάρωση και ποικιλοκυττάρωση. Επιπλέον, διαπιστώνεται αύξηση της αιμοσφαιρίνης F, του αντιγόνου i και των επιπέδων της ερυθροποιητίνης, ενώ, παράλληλα, φαίνεται ότι η επιβίωση των ερυθρών αιμοσφαιρίων είναι σχετικά ελαττωμένη. Μελέτες της κινητικής του Fe υποδεικνύουν μη αποδοτική ερυθροποίηση και ανεπαρκή μυελική λειτουργία. Ο μυελός των οστών είναι λιπώδης, υποκυτταρικός, με λίγα αιμοποιητικά στοιχεία και σχετικά αυξημένο αριθμό λεμφοκυττάρων, μαστοκυττάρων, πλασματοκυττάρων και δικτυοενδοθηλιακών κυττάρων.^{5,60,80}

Η αναιμία Fanconi χαρακτηρίζεται από μεγάλη αστάθεια του γενετικού υλικού των κυττάρων, η οποία αναδεικνύεται μετά από καλλιέργεια των λεμφοκυττάρων με μιτογόνους παράγοντες, όπως η μιτομυκίνη και η dieryoxybutane.^{5,80-84} Με τη μέθοδο αυτή διαπιστώνονται τα πλέον χαρακτηριστικά εργαστηριακά ευρήματα της νόσου, που είναι τα θραύσματα, οι μεταθέσεις και η ανταλλαγή γενετικού υλικού στα χρωμοσώματα των λεμφοκυττάρων του αίματος. Επιπρόσθετα, ο έλεγχος του αίματος με κυτταρομετρία ροής αποδεικνύει τη συσσώρευση των κυττάρων στο μεταίχμιο μεταξύ των φάσεων G2 και M του κυτταρικού κύκλου.^{80,81}

Σε μοριακό επίπεδο, μέσω μελετών υβριδισμού σωματικών κυττάρων, έχει βρεθεί ότι μέχρι σήμερα η νόσος σχετίζεται με τουλάχιστον 8 ομάδες συμπληρωματικών γονιδίων (*FAA, FAB, FAC, FAD, FAE, FAG, FAH...FAX*), των οποίων η συχνότητα στο σύνολο των ασθενών με αναιμία Fanconi, η χρωμοσωματική εντόπιση και το αντίστοιχο παθολογικό πρωτεϊνικό τους παράγωγο, αναφέρονται στον πίνακα 4.^{81,85,86} Από πειραματικά δεδομένα υποστηρίζεται ότι οι γονιδιακές αυτές ομάδες λειτουργούν κατά ένα συμπληρωματικό τρόπο, όσον αφορά τη βελτίωση ή την επαναφορά στο φυσιολογικό των επιδιορθωτικών μηχανισμών του DNA των αιμοποιητικών κυττάρων, με αποτέλεσμα συγκεκριμένοι συνδυασμοί τους *in vitro* να αποκαθιστούν φυσιολογική αιμοποίηση σε ασθενείς με αναιμία Fanconi.^{81,85-92} Στην όλη παθοφυσιολογική, όμως, διαδικασία της νόσου, πλην των ανωτέρω μοριακών βλαβών, φαίνεται να συνεισφέρουν και ορισμένες κυτταροκίνες, όπως η IFN- γ ^{49,91} και ο TNF, τα αυξημένα επίπεδα του οποίου είναι γνωστό ότι οδηγούν σε καταστολή της αιμοποίησης. Εκτός από τα παραπάνω, η ανευρεθείσα σε ορισμένες μελέτες μείωση των επιπέδων της IL-6 στην αναιμία Fanconi υποδηλώνει

Πίνακας 4. Συμπληρωματικές ομάδες γονιδίων και συχνότητα εμφάνισής τους σε ασθενείς με αναιμία Fanconi.⁸⁶

Ομάδα γονιδίων	Συχνότητα εμφάνισης (%)	Χρωμοσωματική εντόπιση	Παθολογική πρωτεΐνη
FAA (Ευρωπαίοι)	66	16q 24.3	163 kD
FAB	4	;	;
FAC	13	9q 22.3	63 kD
FAD	4	3p 22-26	;
FAE	13	;	;
FAF	;	;	;
FAG	;	;	;
FAH	;	;	;
FAX...	;	;	;

ότι η IL-6 συμμετέχει στην παθογένεια της νόσου, αυξάνοντας την απόπτωση των μυελικών κυττάρων και επιτείνοντας, κατ' αυτόν τον τρόπο, το βαθμό της μυελικής ανεπάρκειας.^{49,81-83,86-92}

Γενικά, λοιπόν, η παθοφυσιολογία της αναιμίας Fanconi είναι αρκετά πολύπλοκη, παραμένει ακόμη σε πολλά σημεία αδιευκρίνιστη, παράλληλα όμως εμφανίζει συνεχώς αυξανόμενο ερευνητικό ενδιαφέρον. Συνολικά, οι σύγχρονες απόψεις για την παθογένειά της εστιάζονται στην παρουσία αστάθειας του γενετικού υλικού και αδυναμίας των κυττάρων να επιδιορθώσουν τις βλάβες τους σε επίπεδο DNA, ιδιότητες από τις οποίες προκύπτουν όχι μόνο οι διαταραχές της αιμοποίησης, αλλά και η αυξημένη πιθανότητα ανάπτυξης κακοηθειών, γενικότερα.^{83,84,88,89}

Μετά την αναιμία Fanconi, το επόμενο, πλέον συχνά κληρονομούμενο σύνδρομο μυελικής ανεπάρκειας, αποτελεί η συγγενής δυσκεράτωση, της οποίας έχουν περιγραφεί στη βιβλιογραφία 200 περίπου περιπτώσεις, μέχρι σήμερα.^{93,94} Από αυτές, το 50% περίπου προβάλλει με κλινική και εργαστηριακή εικόνα AA, ενώ ένα σημαντικό ποσοστό ασθενών, που ανέρχεται στο 10%, εκδηλώνουν στη συνέχεια κάποιο κακόηθες νόσημα.⁹³ Η πλειονότητα των ασθενών (91,6%) αφορά άρρενα άτομα, δεδομένου του φυλοσύνδετου χαρακτήρα του νοσήματος. Στους ασθενείς με συγγενή δυσκεράτωση, το γονίδιο που έχει αιτιοπαθογενετικά συνδεθεί με τη νόσο είναι το *DKC1* και εντοπίζεται στο Xq28 χρωμόσωμα, όπως έχει φανεί από μελέτες με ανάλυση γενετικής σύνδεσης (linkage analysis).⁹⁵

4. ΕΠΙΛΟΓΟΣ

Σήμερα αναγνωρίζεται μια συνεχώς αυξανόμενη ποικιλία συνδρόμων κληρονομούμενης μυελικής ανεπάρκειας με οικογενειακή ή μη εντόπιση, με την παρουσία ή μη φυσικών ανωμαλιών. Είναι πολύ πιθανό, το αρνητικό στοιχείο της ύπαρξης και διάγνωσης τέτοιων συνδρόμων σε ένα παιδί, έφηβο ή νεαρό ενήλικα να αντισταθμιστεί μελλοντικά από τα επιστημονικά επιτεύγματα στο επίπεδο διερεύνησης της παθογένειας όχι

μόνο αυτών των ίδιων, αλλά και άλλων αιματολογικών νοσημάτων (π.χ. λευχαιμίες, ΜΔΣ), όπου τα σύνδρομα αυτά φαίνεται ότι κατευθύνουν. Θεωρητικά, λοιπόν, θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι η φύση, μέσω των γενετικών αυτών μοντέλων διαταραχής της αιμοποίησης, δηλαδή των κληρονομούμενων συνδρόμων μυελικής ανεπάρκειας, είναι δυνατό να οδηγήσει στην ικνηλασία όχι μόνο των δύσκολων μονοπατιών της διαταραχής της αιμοποίησης, αλλά και των σημείων που αυτή γενετικά διασταυρώνεται με την ανάπτυξη κακοηθειών.

ABSTRACT

Acquired and inherited aplastic anemia in childhood. Progress in diagnosis and understanding of the pathogenetic mechanisms

S. POLYCHRONOPOULOU-ANDROULAKAKI, J.P. PANAGIOTOU

Department of Pediatric Hematology-Oncology, "Aghia Sophia" Children's Hospital, Athens, Greece

Archives of Hellenic Medicine 2000, 17(3):256-272

Aplastic anemia (AA) of childhood represents a rare nosologic entity which belongs to the bone marrow failure syndromes and is classified as acquired and inherited, either congenital or not. The bulk of evidence regarding the pathogenesis of AA indicates a severe defect of the stem cell (SC) compartment resulting in a disturbance of the SC populating capacity, proliferation, division and differentiation rate and in a substantial reduction of SC numbers. Two pathways of bone marrow damage are hypothesized: Type I involves DNA impairment of the most primitive hematopoietic SC at the top of hierarchy of hematopoiesis, by irradiation, radiomimetic agents such as busulphan and other drugs, while Fanconi's anemia is an inherited example of type I damage with inability to repair DNA defects. Type II is due to damage at the level of the more mature hematopoietic cell, involving the cell membrane or metabolism, by a variety of drugs, viruses and immune mechanisms. For most cases of acquired AA an underlying mechanism of immune destruction of hematopoietic progenitors is prevalent (loss of immune tolerance leading to an abnormal reaction and immune mediated SC catastrophe). The participation of alterations of stromal factors, such as defect of stromal cells or inadequate local action of hematopoietic growth factors, in the pathophysiological process, seems to be of minor importance. Theoretically, overt clinical manifestation of the acquired disease is preceded by a toxic effect on bone marrow stem cells exerted by a specific factor. In the majority of cases however, no etiologic factor is isolated, and most of the cases of acquired AA are categorized as idiopathic. In the inherited form of the disease, the clinical manifestations of bone marrow aplasia of one or more cell lines may develop at any age. Moreover, there is diversity regarding the SC defect and the underlying pathogenetic mechanisms. Fanconi's anemia and dyskeratosis congenita represent the most common types of inherited AA. The onset of the disease can be insidious or acute, and patients may have an acute, transient or chronic course. The clinical features and laboratory findings are in most cases common to both types of AA, acquired or inherited, depending on whether the defect involves one or all cell lines. The severity of the disease, its symptoms and signs depend on the degree of anemia, the neutropenia, and thrombocytopenia. In inherited AA (e.g. Fanconi's anemia), physical examination often, but not always, reveals characteristic findings related to the underlying nosologic entity (malformations of the skeleton and urinary tract, growth retardation etc.). In this review current data on the classification, etiology, pathogenetic mechanisms, and association of acquired AA with other clonal diseases (e.g. myelodysplastic syndromes or leukemia) are discussed. Brief reference is made to the most frequent types of inherited AA diagnosed during childhood and recent research development concerning their pathogenesis.

Key words: Aplastic anemia, Bone marrow failure syndromes, Childhood, Etiology, Pathogenetic mechanisms

Βιβλιογραφία

1. ΔΡΑΝΔΑΚΗΣ Π. *Μεγάλη Ελληνική Εγκυκλοπαίδεια*. 2η έκδοση. Εκδόσεις Φοίνιξ, ΙΑ:59–61
2. YOUNG NS, ALTER BP. Introduction to aplastic anemia: History, differential diagnosis, and classification. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:3–11
3. ΠΟΛΥΧΡΟΝΟΠΟΥΛΟΥ-ΑΝΔΡΟΥΛΑΚΑΚΗ Σ. Σύγχρονες απόψεις για την αιτιοπαθογένεια και τη θεραπευτική αντιμετώπιση της απλαστικής αναιμίας στην παιδική ηλικία. *Παιδιατρική* 1993, 56:38–47
4. FONSECA R, TEFFERI A. Practical aspects in the diagnosis and management of aplastic anemia. *Am J Med Sci* 1997, 313:159–169
5. ALTER BP, YOUNG NS. The bone marrow failure syndromes. In: Nathan DG, Orkin SH (eds) *Nathan and Oski's Hematology of Infancy and Childhood*. 5th ed. WB Saunders Co, USA, 1998: 237–335
6. FREEDMAN MH. Aplastic anemia in children: New concepts in etiology and therapy. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990, 12:383–384
7. YOUNG NS, ALTER BP. Epidemiology of acquired aplastic anemia. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:24–31
8. LIANG R, CHAN TK, TODD D. Childhood acute lymphoblastic leukemia and aplastic anaemia. *Leuk Lymphoma* 1994, 13:411–415
9. THIERRY SD, RICHARD P, GLUCKMAN E. Long-term bone marrow culture in Fanconi's anaemia. *Br J Haematol* 1993, 83:554–559
10. MARSH JC. Long-term bone marrow cultures in aplastic anaemia. *Eur J Haematol* 1996, 60(Suppl):75–79
11. MARSCH JCW, CHANG J, TESTA NG, HOWS JM, DEXTER TM. *In vitro* assessment of marrow "stem cell" and stromal cell function in aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1991, 78:258–267
12. YOUNG NS, ALTER BP. Pathophysiology I: Stem cells, stroma, and growth factors. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:32–45
13. YOUNG NS, ALTER BP. Pathophysiology II: Immune suppression of hematopoiesis. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:68–99
14. LIU H, DING R, JIANG S, YANG J, CHENY H, LU D ET AL. Suppression of haematopoiesis by sera from patients with aplastic anemia. *Tokushima J Exp Med* 1996, 43:107–111
15. NAKAO S, TAKAMI A, TAKAMATSU H, ZENG W, SUGIMORI N, YAMAZAKI H ET AL. Isolation of a T-cell clone showing HLA-DRB10405-restricted cytotoxicity for hematopoietic cells in a patient with aplastic anemia. *Blood* 1997, 89:3691–3699
16. GORDON MY. Stem cells and the microenvironment in aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1994, 86:190–192
17. KOJIMA S, MATSUYAMA T, KODEERA Y. Plasma levels and production of soluble stem cell factor by marrow stromal cells in patients with aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1997, 99:440–446
18. BOGGS DR, BOGGS SS, SAXE DF, GRESS LA, CANFIELD DR. Hematopoietic stem cells with high proliferative potential. Assay of their concentration in marrow by the frequency and duration of cure of W/Wv mice. *J Clin Invest* 1981, 70:242–253
19. NACANO T, WAKI N, ASAI H, KITAMURA Y. Long-term monoclonal reconstitution of erythropoiesis in genetically anemic W/Wv mice by injection of 5-fluorouracil-treated bone marrow cells of P_{gk}-1b/P_{gk}-1a mice. *Blood* 1987, 70:1758–1763
20. YOUNG NS, MACIEJEWSKI J. The pathophysiology of acquired aplastic anemia. *N Engl J Med* 1997, 336:1365–1372
21. LAVEDER F, MACROLONGO R. Uncontrolled triggering of programmed cell death (apoptosis) in haematopoietic stem cells: a new hypothesis for the pathogenesis of aplastic anaemia. *Immunol Cell Biol* 1996, 74:159–162
22. MALKIN D, KOREN G, SAUNDERS EF. Drug induced aplastic anemia: Pathogenesis and clinical aspects. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990, 12:402–410
23. YOUNG NS, ALTER BP. Drugs and chemicals. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:100–132
24. YOUNG NS, ALTER BP. Bone marrow failure secondary to genetic injury: radiation, myelodysplasia, and related syndromes. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:46–67
25. YOUNG NS, ALTER BP. Viruses as agents of marrow failure. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:133–158
26. BROWN KE, WONG S, YOUNG NS. Prevalence of GBV-C/HGV, a novel "hepatitis" virus, in patients with aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1997, 97:492–496
27. BROWN KE, TISDALE J, BARRETT AJ, DUNBAR CE, YOUNG NS. Hepatitis-associated aplastic anemia. *N Engl J Med* 1997, 336:1059–1064
28. PAQUETTE RL, KURAMOTO K, TRAN L, SOPHER G, NIMER SD, ZELDIS B. Hepatitis C virus infection in acquired aplastic anemia. *Am J Hematol* 1998, 58:122–126
29. MORIYAMA K, OKAMURA T, NAKANO S. Hepatitis GB virus C genome in the serum of aplastic anaemia patients receiving frequent blood transfusions. *Br J Haematol* 1997, 96:864–867
30. KIEM HP, STORB R, McDONALD GB. Hepatitis-associated aplastic anemia (letter). *N Engl J Med* 1997, 337:424–425
31. BROWN KE, YOUNG NS. Parvoviruses and bone marrow failure. *Stem Cells* 1996, 14:151–163
32. BERTONI E, ROSATI A, ZANAZZI M, AZZI A, ZAKRZEWSKA K, GUIDI S ET AL. Aplastic anemia due to B19 parvovirus infection in cadaveric renal transplant recipients: an underestimated infectious disease in the immunocompromised host. *J Nephrol* 1997, 10:152–156
33. YOUNG NS. Immune pathophysiology of acquired aplastic anemia. *Eur J Haematol* 1996, 60(Suppl):55–59
34. GORDON MY. Stem cells and the microenvironment in aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1994, 86:190–192
35. WANG W, ZHANG S, TAN H. The changes of BPA level in 31 cases of children with aplastic anaemia and its clinical significance. *Cell Tissue Kinet* 1990, 23:391–400
36. OMORI F, OKAMURA S, SHIMODA K, OTSUKA T, HARADA M, NIHO Y. Levels of human serum granulocyte colony-stimulating factor and granulocyte-macrophage colony-stimulating factor under pathological conditions. *Biotherapy* 1992, 4:147–153
37. KAWANO Y, TAKANE Y, HIRAO A, WATANABE T, ABE T, SHIMIZU T ET AL. Production of interleukin 3 and granulocyte colony stimulating factor from stimulated blood mononuclear cells in patients with aplastic anaemia. *Exp Hematol* 1992, 20:1125–1128
38. HORITA S, KOIZUNI S, MIURA M, NAKARAI T, KATAYAMA Y, TANIGUCHI N. Impaired ability of T4+ lymphocytes in the active stage of congenital hypoplastic anemia to promote *in vitro* growth of blood

- erythroid burst forming units (BFU-E). *Acta Haematol Jpn* 1988, 51:985-993
39. TERAMURA M, KOBAYASHI S, IWABE K, YOSHINAGA K, MIZOGUCHI H. Mechanism of action of antithymocyte globulin in the treatment of aplastic anaemia: *in vitro* evidence for the presence of immunosuppressive mechanism. *Br J Haematol* 1997, 96:80-84
 40. LAWLOR ER, ANDERSON RA, DAVIS JH, FRYER CJ, PRITCHARD SL, ROGERS PC ET AL. Immunosuppressive therapy: a potential alternative to bone marrow transplantation as initial therapy for acquired severe aplastic anemia in childhood. *J Pediatr Hematol Oncol* 1997, 19:115-123
 41. MARSH JC, GORDON SMITH EC. Treatment of aplastic anaemia with antilymphocyte globulin and cyclosporin. *Int J Hematol* 1995, 62:133-144
 42. LOCASCIULLI A, VAN'T VEER L, BACIGALUPO A, HOWS J, VAN LINT MT, GLUCKMAN E ET AL. Treatment with marrow transplantation or immunosuppression of childhood acquired severe aplastic anemia: a report from the EBMT SAA Working Party. *Bone Marrow Transplant* 1990, 6:211-217
 43. MATHE G, AMIEL JL, SCHWARZENBERG L, CHOAG J, TROLARD P, SCHNEIDER M ET AL. Bone marrow graft in man after conditioning by antilymphocytic serum. *Br Med J* 1970, 2:131-136
 44. THOMAS ED, STORB R, GIBLETT ER, LONGPRE B, WEIDEN PL, FEFER A ET AL. Recovery from aplastic anemia following attempted marrow transplantation. *Exp Hematol* 1976, 4:97-102
 45. CHAMPLIN RE, FEIG SA, SPARKES RS, GALE RP. Bone marrow transplantation from identical twins in the treatment of aplastic anaemia: Implication for the pathogenesis of the disease. *Br J Haematol* 1984, 56:455-463
 46. BRODSKY RA, SENSENBRENNER LL, JONES RJ. Complete remission in severe aplastic anemia after high-dose cyclophosphamide without bone marrow transplantation. *Blood* 1996, 87:491-494
 47. YOUNG NS, ALTER BP. Definitive treatment of acquired aplastic anemia. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:159-200
 48. MATLOUB YH, SMITH C, BOSTROM B, KOERPER MA, O' LEARY M, KHUDER S ET AL. One course versus two courses of antithymocyte globulin for the treatment of severe aplastic anemia in children. *J Pediatr Hematol Oncol* 1997, 19:110-114
 49. ZOUMBOS N, DJEN J, YOUNG N. Interferon is the suppressor of hematopoiesis generated by stimulated lymphocytes *in vitro*. *J Immunol* 1984, 133:769-774
 50. GOILLOT E, RAINGEAUD J, RANGER A, TEPPER RI, DAVIS RJ, HARLOW E ET AL. Mitogen-activated protein kinase-mediated Fas apoptotic signaling pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997, 94:3302-3307
 51. NAGATA S, GOLSTEIN P. The Fas death factor. *Science* 1995, 267:1449-1456
 52. FRICKHOFEN N, LIU JM, YOUNG NS. Etiologic mechanisms of hematopoietic failure. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1990, 12:385-395
 53. CAMITTA BM, STORB R, THOMAS ED. Aplastic anemia: Pathogenesis, diagnosis, treatment, and prognosis. *N Engl J Med* 1982, 306:645-712
 54. CAMITTA BM, THOMAS ED, NATHAN DG, SANTOS G, GORDON-SMITH EC, GALE RP ET AL. Severe aplastic anemia: a prospective study of the effect of early marrow transplantation on acute mortality. *Blood* 1976, 48:63-70
 55. ELGHETANY MT, HUDNALL SD, GARDNER FH. Peripheral blood picture in primary hypocellular refractory anemia and idiopathic acquired aplastic anemia: an additional tool for differential diagnosis. *Haematologica* 1997, 82:21-24
 56. YOUNG NS, ALTER BP. Clinical features of acquired aplastic anemia. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:12-23
 57. FONG TP, OKAFOR LA, SCHMITZ TH, THOMAS W, WESTERMAN MP. An evaluation of cellularity in various types of bone marrow specimens. *Am J Clin Pathol* 1979, 72:812-816
 58. ORAZI A, ALBITAR M, HEEREMA NA, HASKINS S, NEIMAN RS. Hypoplastic myelodysplastic syndromes can be distinguished from acquired aplastic anemia by CD34 and PCNA immunostaining of bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol* 1997, 107:268-274
 59. MIKHAILOVA N, SESSAREGO M, FUGAZZA G, CAIMO A, DE FILIPPI S, VAN LINT MT ET AL. Cytogenetic abnormalities in patients with severe aplastic anemia. *Haematologica* 1996, 81:418-422
 60. ALTER BP. Arms and the man or hands and the child. Congenital anomalies and hematologic syndromes. *J Pediatr Hematol Oncol* 1997, 19:287-291
 61. CAZZOLA M, POOTRAKUL P, HUEBERS HA, ENG M, ESCHBACH J, FINCH CA. Erythroid marrow function in anemic patients. *Blood* 1987, 69:296-301
 62. CHUNG JK, YEO J, LEE DS, PARK S, LEE MC, KIM BK ET AL. Bone marrow scintigraphy using technetium-99m-antigranulocyte antibody in hematologic disorders. *J Nucl Med* 1996, 37:978-982
 63. STEINER RM, MITCHELL DG, RAO VM, MURPHY S, RIFKIN MD, BURK DL ET AL. Magnetic resonance imaging of bone marrow: Diagnostic value in diffuse hematologic disorders. *Magn Reson Q* 1990, 6:17-34
 64. AMANO Y, KUMAZAKI T. Proton MR imaging and spectroscopy evaluation of aplastic anemia: three bone marrow patterns. *J Comput Assist Tomogr* 1997, 21:286-292
 65. KOJIMA S, MATSUYAMA T. Stimulation of granulopoiesis by high-dose recombinant human granulocyte colony-stimulating factor in children with aplastic anemia and very severe neutropenia. *Blood* 1994, 83:1474-1478
 66. OOSTERKAMP HM, BRAND A, KLUIN-NELEMANS JC, VANDENBROUCKE JP. Pregnancy and severe aplastic anaemia: causal relation or coincidence? *Br J Haematol* 1998, 103:315-316
 67. BAGBY GC. The preleukemic syndrome (hematopoietic dysplasia). In: Shahidi NT (ed) *Aplastic Anemia and other Bone Marrow Failure Syndromes*. New York, Springer-Verlag, 1990:199-223
 68. VAN KAMP H, LANDEGENT JE, JANSEN RPM, WILLENZE R, FIBBE WF. Clonal hematopoiesis in patients with acquired aplastic anemia. *Blood* 1991, 78:3209-3214
 69. OHARA A, KOJIMA S, HAMAJIMA N, TSUCHIDA M, IMASHUKU S, OHTA S ET AL. Myelodysplastic syndrome and acute myelogenous leukemia as a late clonal complication in children with acquired aplastic anemia. *Blood* 1997, 90:1009-1013
 70. KNUUTILA S. Lineage specificity in haematological neoplasms. *Br J Haematol* 1997, 96:2-11
 71. SOCIE G. Could aplastic anaemia be considered a pre-preleukemic disorder? *Eur J Haematol* 1996, 60(Suppl):60-63
 72. DE PLANQUE MM, BACIGALUPO A, WURSH A, HOWS JM, DEVERGIE A, FRICKHOFEN N ET AL. Long term follow-up of severe aplastic

- anaemia patients treated with antithymocyte globulin. *Br J Haematol* 1989, 73:121–126
73. PADUA RA, PETERSON T, WAGSTAFF M, CULLIGAN D, WARREN N, TICHELLI A. Detection of RAS mutations in patients with aplastic anaemia (Abstract). *Blood* 1992, 80(Suppl 1):157a
 74. GALE RE, LINCH DC. Interpretation of X-chromosome inactivation patterns (letter). *Blood* 1994, 84:2376–2377
 75. GALE RE, WHEADON H, BOULOS P, LINCH DC. Tissue specificity of X-chromosome inactivation patterns. *Blood* 1994, 83:2899–2905
 76. YOUNG NS, ALTER BP. Inherited bone marrow failure syndromes: Introduction. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:271–274
 77. EVANS DG, REES HC, SPREADBOROUGH A, CAMPBELL DJ, GAU GS, PICKERING E ET AL. Radial ray defects, renal ectopia, duodenal atresia and hydrocephalus: the extended spectrum for Fanconi anaemia. *Clin Dysmorphol* 1994, 3:200–206
 78. YOUNG NS, ALTER BP. Rare syndromes with bone marrow failure. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:352–360
 79. ZATTERALE A, CALZONE R, RENDA S, CATALANO L, SELLERI C, NOTARO R ET AL. Identification and treatment of late onset Fanconi's anemia. *Haematologica* 1995, 80:535–538
 80. YOUNG NS, ALTER BP. Clinical features of Fanconi's anemia. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:275–309
 81. JOENJE H, MATHEW C, GLUCKMAN E. Fanconi anaemia research: current status and prospects. *Eur J Cancer* 1995, 31A:268–272
 82. CLARKE AA, PHILPOTT NJ, GORDON-SMITH EC, RUTHERFORD TR. The sensitivity of Fanconi anaemia group C cells to apoptosis induced by mitomycin C is due to oxygen radical generation, not DNA crosslinking. *Br J Haematol* 1997, 96:240–247
 83. YOUNG NS, ALTER BP. Pathophysiology of Fanconi's anemia. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:310–324
 84. ALTER BP. Fanconi's anemia and malignancies. *Am J Hematol* 1996, 53:99–116
 85. GIBSON RA, FORD D, JANSEN S, SAVOIA A, HAVENGA C, MILNER RD ET AL. Genetic mapping of the FAC gene and linkage analysis in Fanconi anaemia families. *J Med Genet* 1994, 31:868–871
 86. D'APOLITO M, ZELANTE L, SOWIA A. Molecular basis of Fanconi anemia. *Haematologica* 1998, 83:533–542
 87. CLARKE AA, MARSH JC, GORDON-SMITH EC, RUTHERFORD TR. Molecular genetics and Fanconi anaemia: new insights into old problems. *Br J Haematol* 1998, 103:287–296
 88. KRUYT FA, DIJKMANS LM, VAN DER BERG TK, JOENJE H. Fanconi anemia genes act to suppress a cross-linker-inducible p53-independent apoptosis pathway in lymphoblastoid cell lines. *Blood* 1996, 87:938–948
 89. KUPFER GM, D'ANDREA AD. The effect of the Fanconi anemia polypeptide, FAC, upon p53 induction and G₂ checkpoint regulation. *Blood* 1996, 88:1019–1025
 90. GILLIO AP, VERLANDER PC, BATISH SD, GIAMPIETRO PF, AUERBACH AD. Phenotypic consequences of mutations in the Fanconi anemia FAC gene: an International Fanconi Anemia Registry study. *Blood* 1997, 90:105–110
 91. RATHBUN RK, FAULKNER GR, OSTROSKI MH, CHRISTIANSON TA, HUGHES G, JONES G ET AL. Inactivation of the Fanconi anemia group C gene augments interferon-gamma induced apoptotic responses in haematopoietic cells. *Blood* 1997, 90:974–985
 92. LIU JM. Gene transfer for the eventual treatment of Fanconi's anemia. *Semin Hematol* 1998, 35:168–179
 93. YOUNG NS, ALTER BP. Dyskeratosis congenita. In: *Aplastic Anemia, Acquired and Inherited*. WB Saunders Co, USA, 1994:325–339
 94. KNIGHT S, VULLIAMY T, COPPLESTONE A, GLUCKMAN E, MASON P, DOKAL I. Dyskeratosis Congenita Registry: identification of new features. *Br J Haematol* 1998, 103:990–996
 95. HEISS NS, KNIGHT SW, VULLIAMY TJ, KLANCK SM, WIEMANN S, MASON PJ ET AL. X-linked dyskeratosis congenita is caused by mutation in a highly conserved gene with putative nucleolar functions. *Nat Genet* 1998, 19:32–38

Corresponding author:

S. Polychronopoulou-Androulakaki, 14A Ioannou Gennadiou street, GR-115 21 Athens, Greece