

Telomeerziekte als oorzaak van beenmergfalen bij volwassenen

Telomeropathy as cause of bone marrow failure in adults

drs. J. Rozenberg¹, dr. C.J.M. Halkes² en prof. dr. M.H.G.P. Raaijmakers³

SAMENVATTING

Bij telomeerziekte is sprake van een versneld korter worden van telomeren dat wordt veroorzaakt door een mutatie in een gen betrokken bij het onderhoud van telomeren. Verschijnselen kunnen zich zowel op de kinderleeftijd als op volwassen leeftijd manifesteren. De clinicus moet denken aan telomeerziekte bij beenmergfalen in combinatie met longfibrose, leverfibrose, solide tumoren, prematuur grijze haren of een familiegeschiedenis van cytopenie/aplastische anemie, acute myeloïde leukemie, myelodysplastisch syndroom of solide tumoren.

(NED TIJDSCHR HEMATOL 2018;15:203-7)

SUMMARY

Telomere biology disorder causes accelerated telomere attrition as a result of a gene mutation in children and adults. The clinician should think of a telomere biology disorder in bone marrow failure combined with lung fibrosis, liver cirrhosis, premature grey hairs, aplastic anemia, acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome or solid tumors in patients and/or family.

INLEIDING

Beenmergfalen bij kinderen kan een uiting zijn van een congenitaal syndroom waarbij een genetische afwijking leidt tot een verhoogde gevoeligheid voor chromosomale schade of andere afwijkingen in hematopoëtische stamcellen. Voorbeelden hiervan zijn Fanconi-anemie en dyskeratosis congenita. Bij sommige volwassen patiënten kan beenmergfalen ook een uiting zijn van een onderliggende genetische afwijking. Geschat wordt dat tot 10% van de patiënten met aplastische anemie een onderliggend congenitaal genetisch defect heeft dat resulteert in het versneld korter worden van telomeren.¹ Dit kan leiden tot een wisselend klinisch beeld waarbij behalve het beenmerg ook verschillende andere organen kunnen zijn aangedaan. We illustreren deze entiteit aan de hand van een casus. De beschreven patiënten verleenden geïnformeerde toestemming voor het beschrijven van hun ziektegeschiedenis. Daarnaast geeft dit artikel een

overzicht van de pathogenese, de klinische kenmerken, de diagnostiek en de behandeling van deze aandoening.

CASUS

Een 54-jarige vrouw wordt in 2016 verwezen naar de polikliniek hematologie voor analyse van een pancytopenie, met de vraag of hier sprake kan zijn van een myelodysplastisch syndroom (MDS). Haar medische geschiedenis vermeldt osteoporose en centrilobulair longemfyseem. Haar hematologische geschiedenis betreft een trombose in de vena poplitea en een trombose in de vena porta met oesofagusvarices graad 1 waarvoor ze orale anticoagulantia gebruikt. Sinds 2006 is sprake van een macrocytaire anemie met ontwikkeling van een milde pancytopenie in 2012.

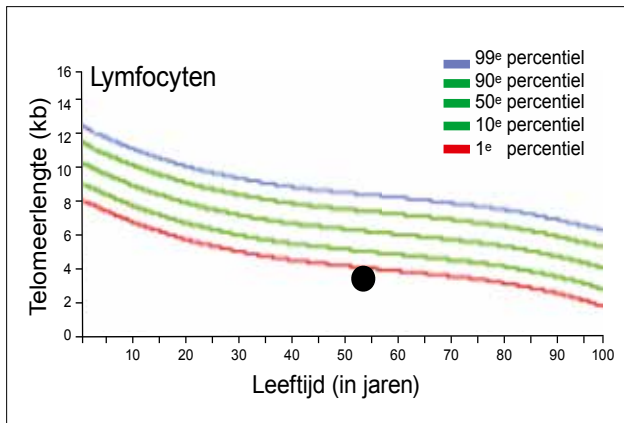
Ze vertelt progressief vermoeid te zijn en is buitengewoon bezorgd en gespannen, wat samenhangt met een bijzondere familieanamnese. Patiënte had twee broers en een zus van

¹aios interne geneeskunde, afdeling Hematologie, Leids Universitair Medisch Centrum, ²internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Leids Universitair Medisch Centrum, ³internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Erasmus MC Kanker Instituut. Correspondentie graag richten aan dhr. prof. dr. M. Raaijmakers, internist-hematoloog, afdeling Hematologie, Erasmus MC Kanker Instituut, dr. Molewaterplein 50, 3015 GE Rotterdam, tel.: 010 703 31 23, e-mailadres: m.h.g.raaijmakers@erasmusmc.nl

Belangenconflict: geen gemeld. Financiële ondersteuning: geen gemeld.

Trefwoorden: androgenen, beenmergfalen, dyskeratosis congenita, telomeerziekte

Keywords: androgens, bone marrow failure, dyskeratosis congenital, telomeropathy



FIGUUR 1. Telomeerlengtemeting in de lymfocyten van de beschreven casus door middel van flow-FISH-analyse. De telomeerlengte van patiënte (zie stip) laat een leeftijd-gecorrigeerde waarde <1% percentiel zien, hetgeen concordant is met de diagnose telomeerziekte.

wie inmiddels de broer en zus zijn overleden ten gevolge van beenmergaandoeningen. Haar broer overleed 20 jaar geleden na een allogene stamceltransplantatie bij acute myeloïde leukemie (AML) en haar zus overleed in 2005 op 43-jarige leeftijd met het beeld van een hypoplastische MDS aan infectieuze complicaties. Daarnaast komen er 'veel vormen van kanker' voor in de familie van haar moeder, terwijl moeder op 53-jarige leeftijd is overleden, mogelijk aan de gevolgen van maagkanker. Patiënte vertelt dat ze 'zichzelf dezelfde kant als haar broer en zus op ziet gaan'.

Bij specifieke navraag blijkt dat zowel haar overleden zus als broer al vroeg (rond het 20^e levensjaar) grijs waren en daarnaast vaak klaagden over hun 'lelijke nagels'. Patiënte verft haar haar sinds een jaar of tien.

Het lichamelijk onderzoek brengt geen verdere bijzonderheden aan het licht. Laboratoriumonderzoek toont een Hb van 7,2 mmol/l, MCV van 101 fL, leukocyten van $2,7 \times 10^9/l$, neutrofielen van $1,14 \times 10^9/l$ en trombocyten van $83 \times 10^9/l$. Morfologie van het beenmerg suggereert een hypocellulair tot normocellulair beenmerg met milde dysplasie (dysplasiescore <10%) in alle lijnen. De erythropoëse vertoont macrocytaire veranderingen; het myeloblastenpercentage is <1%. Het biopt is hypocellulair (20%) met milde dysplastische veranderingen. Immunologisch lijkt er normale differentiatie plaats te vinden in alle lijnen. De cytogenetica is 46XX. Immunologisch onderzoek toont 0,6% myeloïde voorlopercellen met normale differentiatie van alle cellijnen. De cytogenetica en de moleculaire diagnostiek is niet afwijkend. Er is geen PNH-kloon aanwezig.

Geconcludeerd wordt dat er sprake is van cytopenie op basis van aplastische anemie, met onvoldoende aanwijzingen voor

de classificatie hypoplastische MDS. Gezien de AML bij de broer van patiënte en de hypoplastische MDS bij haar zus, werd gedacht aan een erfelijke aandoening met een verhoogde kans op myeloïde neoplasie van het beenmerg, zoals dat kan worden gezien bij bijvoorbeeld Fanconi-anemie of telomeerziekte. Op basis van de beschreven nagelafwijkingen en het vroeg grijs worden, bestond er een sterke verdenking op het bestaan van telomeerziekte en vond aanvullend onderzoek plaats.

Telomeerlengtemeting in de lymfocyten (Repeat Diagnostics, Aken, Duitsland) van patiënte volgens flow-FISH-analyse (zie *Figuur 1*) laat een leeftijd-gecorrigeerde waarde <1% percentiel zien, hetgeen concordant is met deze diagnose.

Vervolgens wordt mutatie-analyse verricht in het Erasmus MC DNA-sequencing leukemie-predispositiepanel (zie artikel 'Genetische predispositie voor myeloïde maligniteiten: diagnostiek en beleid' elders in deze editie). Dit brengt een heterozygote mutatie in *TERC* (n.116C>G) aan het licht (hetgeen wordt bevestigd door mutatieonderzoek op de afdeling klinische genetica van het Radboudumc). De mutatie is niet eerder beschreven, maar ligt op een plaats in het gen dat codeert voor het belangrijke 'pseudoknotdomein' van het eiwit en een vergelijkbare mutatie (n.116C>T) is beschreven bij dyskeratosis congenita. De pathogeniciteit van deze mutatie wordt derhalve omschreven als 'zeer waarschijnlijk pathogeen' (klasse 4).

Gedurende het beloop van deze analyses leidt microscopische hematurie bij patiënte ook nog tot de diagnose urotheelcelcarcinoom (zonder kliermetastasen) waarvoor patiënte een nefro-urethrectomie ondergaat.

Een allogene beenmergtransplantatie (met een niet-gerelateerde donor) wordt overwogen, maar aanvullend onderzoek, gericht op telomeer-gerelateerde comorbiditeit (longfunctie-onderzoek en fibroscan) brengt een matige tot ernstige (periportale) leverfibrosefibrosis (F2) en een matig-ernstig verlaagde diffusiecapaciteit aan het licht.

Het beleid is vooralsnog expectatief bij stabiele bloedwaarden. Bij progressie (en indien de niertumor radicaal geresceerd zal blijken) zal behandeling met danazol worden overwogen. Patiënte wordt geïncludeerd in een solide-tumorsurveillanceprogramma. Dochter van patiënte heeft zich aangemeld voor genetische counseling en bij haar is ook de pathogene mutatie geconstateerd. Ze ondergaat hematologische follow-up en is eveneens geïncludeerd in een tumorsurveillanceprogramma.

PATHOGENESE EN KLINIEK

De casus illustreert de klassieke pathologie zoals gezien in het geval van telomeerziekte. Telomeren zijn repeterende stukken DNA aan het einde van een chromosoom. Deze

telomeren zijn essentieel voor de bescherming van de chromosomen. Telomeren worden korter bij veroudering, maar ook als gevolg van een verhoogde delingsactiviteit van cellen, ontstekingsmechanismen en DNA-schade. Wanneer de telomeren te kort worden, stopt de cel met delen. Deze verkorting van telomeren wordt tegengegaan door het eiwit-complex telomerase, dat de lengte van telomeren in stand houdt en bestaat uit verschillende eiwitten, waaronder het telomerase-enzym (gecodeerd door het gen *TERT*) en een RNA-template (gecodeerd door *TERC*). Mutaties in genen die coderen voor bestanddelen van het telomerasecomplex kunnen resulteren in het versneld korter worden van de telomeren. Dit kan leiden tot kenmerken die passen bij het versneld ouder worden van organen.

Het belang van het behoud van telomeerlengte wordt duidelijk bij kinderen met zeer korte telomeren zoals bij dyskeratosis congenita (DC). Mutaties in het X-gebonden *DKC1*-gen leiden tot zeer korte telomeren op lage leeftijd, waarbij het klinisch beeld wordt bepaald door orale leukoplakie, abnormale huidpigmentatie en nageldystrofie. Deze patiënten hebben een sterk verhoogd risico op beenmergfalen op de kinderleeftijd.^{1,2} Bij DC zijn meerdere mutaties geïdentificeerd die verantwoordelijk zijn voor de zeer korte telomeren. Ook bij volwassen patiënten kan beenmergfalen een uiting zijn van een onderliggende genetische afwijking die leidt tot verkorting van telomeren, ook wel telomeropathie genoemd. Er zijn verschillende mutaties geïdentificeerd (*TERC*, *TERT*, *TINF2*), die ook worden gevonden bij DC. De tot nu toe geïdentificeerde genen waarin mutaties kunnen leiden tot telomeerziekte zijn *DKC1*, *TINF2*, *NOPI0*, *NHP2*, *CTC1*, *RTEL1*, *WRAP53*, *ACD*, *PARN*, *TERC* en *TERT*. Korte telomeren zijn niet alleen geassocieerd met beenmergfalen, maar ook met longpathologie (met name longfibrose, maar ook centrilobulair emfyseem zoals in de gepresenteerde casus), leverfibrose, huidafwijkingen (hypo/hyperpigmentatie), nageldystrofie en een verhoogde kans op bepaalde solide tumoren.³ Ook andere organen kunnen betrokken zijn bij telomeerziekte, wat kan leiden tot enterocolitis, osteoporose of immuundeficiëntie.³ Ook worden frequent prematuur grijze haren gezien. Als een patiënt zowel beenmergfalen heeft als een vorm van de hierboven genoemde pathologie, is dit zeer suspect voor telomeerziekte, zeker in combinatie met een belaste familieanamnese, zoals de casus illustreert.

DIAGNOSTIEK

Diagnostiek naar telomeerziekte wordt alleen gedaan bij een patiënt met beenmergfalen of (pan)cytopenie als er anamnestic of fysisch-diagnostisch ook verdenking bestaat op de ziekte (zie vorige paragraaf en *Figuur 2*, pagina 206).

TELOMEERLENGTE

Het bepalen van de telomeerlengte kan op verschillende manieren. 'Terminal restriction fragment analysis' (TRF) is de gouden standaard, maar is zeer bewerkelijk. De meest gebruikte methode is FISH ('fluorescence in situ hybridization') waarin telomeren tijdens de metafase van de celdeling worden gelabeld en de lengte wordt vergeleken met een controle DNA-sample. De combinatie van FISH met flowcytometrie is momenteel de enige methode die in de kliniek beschikbaar is. Dit wordt gebruikt om de telomeerlengte in leukocyten (lymfocyten en granulocyten) te bepalen (zie *Figuur 1*). De telomeerlengte wordt onderverdeeld in kleiner dan het 1^e percentiel, 1^e-10^e percentiel of >10^e percentiel van het gemiddelde voor de leeftijd van de patiënt.

Bij kinderen die voldoen aan de klinische criteria voor DC wordt meestal een telomeerlengte gevonden van <1^e percentiel, maar de specificiteit en sensitiviteit van deze test in de diagnostiek van telomeropathie bij volwassenen is minder eenduidig.

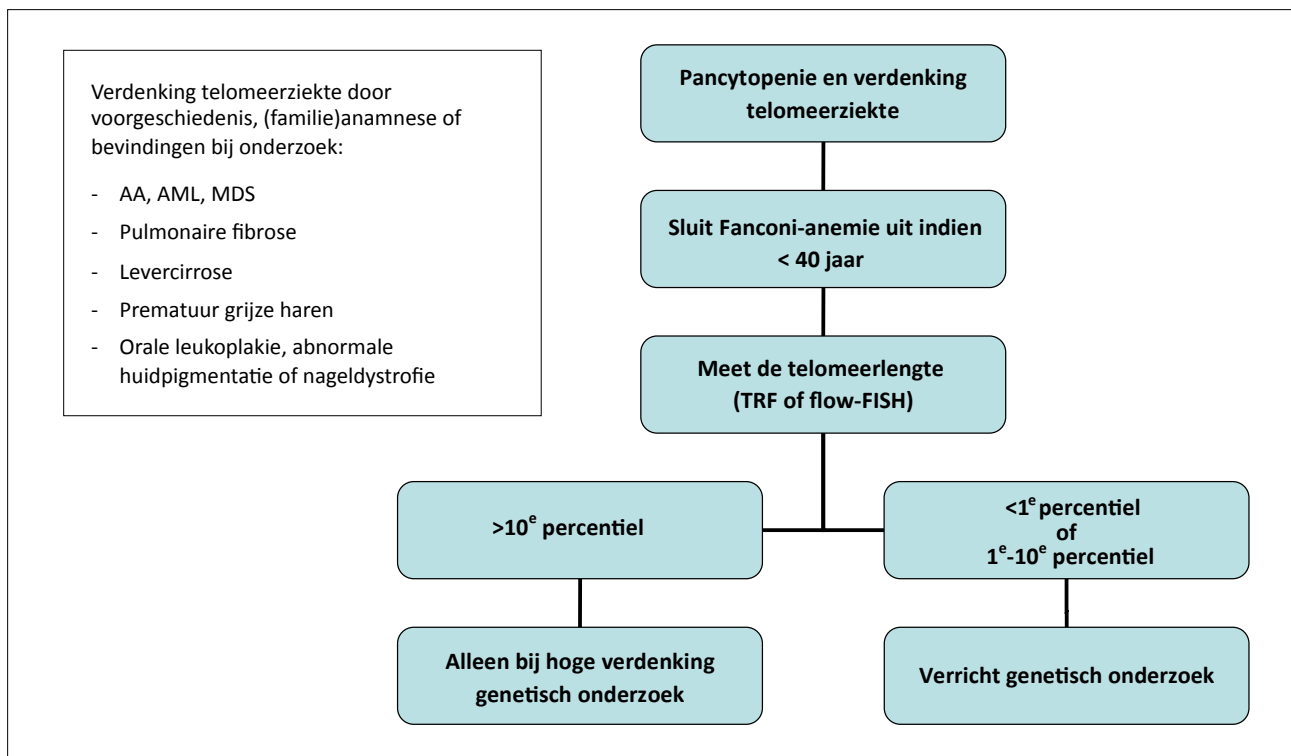
Indien sprake is van een telomeerlengte <1% percentiel in combinatie met een verdachte kliniek kan de diagnose redelijkerwijs worden gesteld. Dit is echter lang niet altijd het geval. In een klein onderzoek bij patiënten met beenmergfalen op volwassen leeftijd als gevolg van een *TERT*-mutatie had slechts 1/7 patiënten een telomeerlengte onder het 1^e percentiel. De meeste patiënten hadden een lengte tussen het 1^e en 10^e percentiel.⁴ Ander onderzoek liet een grote variabiliteit in telomeerlengte zien bij 194 patiënten met telomeerziekte (*DKC1*, *TINF2*, *TERT*, en *TERC*).⁵

Omgekeerd is de telomeerlengte in het geval van aplastische anemie soms verminderd zonder dat sprake is van een genetisch bepaalde telomeerziekte. Dit kan een uiting zijn van een verhoogde celdeling ('replicative stress') ten gevolge van een verkleind stamcelcompartiment, DNA-schade of ontsteking zoals gezien bij verworven (idiopathische) aplastische anemie, andere beenmergfalensyndromen zoals Fanconi-anemie, Diamond-Blackfan-anemie en Shwachman-Diamond-syndroom, en MDS of AML.

Zo wordt bij volwassenen met idiopathische, verworven, aplastische anemie niet zelden een telomeerlengte tussen het 1^e-10^e percentiel gevonden.

GENETISCH ONDERZOEK

Telomeerziekten, waaronder DC, zijn heterogene genetische aandoeningen waarvan een deel van de mutaties autosomaal dominant overerft, een deel autosomaal recessief en een deel X-gebonden. Bij kinderen die voldoen aan de klinische criteria voor DC leidt genetisch onderzoek bij 50-60% tot de identificatie van een of meerdere van de tot nu toe bekende genmutaties die resulteren in telomeerziekte. Maar



FIGUUR 2. Het diagnostisch algoritme voor telomeerziekte zoals gepubliceerd door Townsley et al. waarin de telomeerlengtemeting centraal staat en hiërarchisch boven genetisch onderzoek.³ Echter (zie tekst) valt soms gezien de complexiteit van het interpreteren van telomeerlengtebepaling te verdedigen om bij verdenking op telomeerziekte direct genetisch onderzoek in te zetten.

de klinische kenmerken kunnen ook milder zijn of pas op hogere leeftijd tot uiting komen. Het fenotype kan binnen een familie met dezelfde mutatie variabel zijn. Ook kan sprake zijn van de novo kiemlijnmutaties (zie artikel 'Genetische predispositie myeloïde maligniteiten: diagnostiek en beleid' elders in deze uitgave), waardoor een negatieve familie-anamnese telomeerziekte niet uitsluit.^{1,6} Genetische counseling en onderzoek is dus voor alle familieleden geïndiceerd en niet alleen voor degene met klinische manifestaties.

DIAGNOSTISCH ALGORITME

Al met al is het niet eenduidig aan te geven hoe deze diagnostische mogelijkheden gevat moeten worden in een diagnostisch algoritme. In *Figuur 2* is een algoritme aangehouden zoals eerder gepubliceerd door Townsley et al.³ In dit algoritme staat telomeerlengtemeting centraal en hiërarchisch boven genetisch onderzoek.

Omgekeerd valt, gezien de complexiteit van het interpreteren van telomeerlengtebepaling, te verdedigen om bij verdenking op telomeerziekte direct genetisch onderzoek in te zetten (naast het verrichten van telomeerlengtemeting). Bij een eenduidig positieve uitslag (in combinatie met een verdachte kliniek) staat de diagnose redelijkerwijze vast, ongeacht de

uitkomst van de telomeerlengtemeting. Een negatieve uitslag van de moleculair-genetische test sluit de diagnose evenwel niet uit. In onze praktijk kiezen wij voor deze diagnostische benadering.

BEHANDELING VAN BEENMERGFALLEN BIJ TELOMEERZIEKTE

Een allogene stamceltransplantatie is de enige curatieve behandeling voor beenmergfalen in het kader van telomeerziekte. De geassocieerde comorbiditeit in de vorm van lever- en/of longfibrose staat deze behandelmodaliteit evenwel vaak in de weg, zoals ook het geval in de beschreven casus. Er is bij telomeerziekte geen rol voor immuunsuppressieve therapie met ATG en ciclosporine, omdat deze modaliteit geen gedocumenteerd effect heeft op de telomeerlengte. Androgenen kunnen daarentegen de telomeraseactiviteit verhogen en lijken effectief op klinische eindpunten. In een prospectieve klinische fase 1/2-studie van Townsley et al. in 2016 zijn 27 patiënten met beenmergfalen op basis van telomeerziekte geïncludeerd en gedurende 24 maanden behandeld met danazol in een dosering van 1 dd 800 mg.⁷ Het doel was een reductie van 20% in de verwachte jaarlijkse verkorting van de telomeren. Bij de meeste patiënten werd

AANWIJZINGEN VOOR DE PRAKTIJK

- 1** Telomeerziekte wordt veroorzaakt door congenitale genmutaties en kan zich op kinderleeftijd, maar ook op volwassen leeftijd manifesteren.
- 2** De clinicus moet denken aan telomeerziekte in het geval van aplastische anemie in combinatie met longpathologie (zoals fibrose), leverfibrose, prematuur grijze haren en/of familiair voorkomen van AA, AML, MDS of solide tumoren.
- 3** Let bij lichamelijk onderzoek op de kenmerkende bevindingen bij telomeerziekte (grijze haren, leukoplakie, nageldystrofie en hypo/hyperpigmentatie).
- 4** De diagnose wordt gesteld door een combinatie van telomeerlengtemeting en genetisch onderzoek.
- 5** Het stellen van de diagnose telomeerziekte heeft belangrijke consequenties voor de behandeling en vormt een indicatie voor surveillance op solide tumoren.

dit doel behaald en er was zelfs sprake van toename in lengte van de telomeren. Na de behandeling met danazol was er slechts 1 van de 13 transfusieafhankelijke patiënten nog transfusieafhankelijk. Het Hb-gehalte en het reticulocytenaantal steeg net als het aantal neutrofielen en trombocyten. Drie van de in totaal 27 behandelde patiënten hadden ziekteprogressie tijdens behandeling met danazol. Er zullen studies moeten volgen om te weten wat het effect van danazol is op de lange termijn. De behandeling met een hoge dosering van 800 mg per dag leidde overigens tot aanzienlijke toxiciteit (persoonlijke communicatie Neil Young) en momenteel wordt onderzoek gedaan naar lagere doseringen (400-600 mg).

Omdat de behandeling van beenmergfalen bij telomeerziekte dus verschilt van de standaardbehandeling, is het van groot belang deze entiteit tijdig te herkennen. De behandeling met immuunsuppressieve therapie wordt dan voorkomen en er zal gericht onderzoek naar de telomeerziekte-gerelateerde comorbiditeit zoals lever- of longfibrose plaatsvinden om te bepalen of een patiënt voor een allogene stamceltransplantatie in aanmerking komt. Tot slot is het van belang dat er genetische counseling en screening op solide tumoren plaatsvindt bij patiënt en de familie, omdat telomeerziekte is geassocieerd met een toegenomen risico op MDS, AML en bepaalde solide maligniteiten (zie ook artikel 'Genetische predispositie voor myeloïde maligniteiten: diagnostiek en beleid').

CONCLUSIE

Beenmergfalen bij kinderen en volwassenen kan een uiting zijn van een onderliggende genetische afwijking die leidt tot het versneld korter worden van de telomeren, ook wel telomeerziekte genoemd. Korte telomeren door een stoornis

in telomeeronderhoud is niet alleen geassocieerd met beenmergfalen, maar ook met longpathologie (waaronder longfibrose) en leverfibrose. Een zorgvuldige (familie)anamnese, gericht lichamelijk onderzoek en aanvullend onderzoek zijn de sleutels om tot deze diagnose te komen. De diagnose wordt gesteld door een combinatie van telomeerlengtemeting en genetisch onderzoek. Er zijn intussen verschillende mutaties geïdentificeerd met niet zelden een zeer variabel fenotype van dezelfde mutatie binnen families. Het stellen van de diagnose is van belang voor de behandeling en zal leiden tot genetische counseling en screening op solide tumoren bij patiënt en de familie.

REFERENTIES

1. Savage SA, Bertuch AA. The genetics and clinical manifestations of telomere biology disorders. *Genet Med* 2010;12(12):753-64.
2. Gramatges MM, Bertuch AA. Short telomers: from dyskeratosis congenita to sporadic aplastic anemia and malignancy. *Transl Res* 2013;162(6):353-63.
3. Townsley MD, Dumitriu B, Young S. Bone marrow failure and the telomero-pathies. *Blood* 2014;124(18):2775-83.
4. Yamaguchi H, Calado RT, Ly H, et al. Mutations in TERT, the gene for telomerase reverse transcriptase, in aplastic anemia. *N Engl J Med* 2005;352(14):1413-24.
5. Vulliamy TJ, Kirwan MJ, Beswick R, et al. Differences in disease severity but similar telomere lengths in genetic subgroups of patients with telomerase and shelterin mutations. *PLoS One* 2011;6(9):e24383.
6. Savage SA, Alter BP. Dyskeratosis congenita. *Hematol Oncol Clin North Am* 2009;10:45-61.
7. Townsley MD, Dumitriu B, Liu D. Danazol treatment for telomere diseases. *N Engl J Med* 2016;374(20):1922-31.

ONTVANGEN 29 JANUARI 2018, GEACCEPTEERD 6 APRIL 2018.