

Vom Myelodysplastischen Syndrom zur Diagnose eines seltenen DNA Doppelstrangbruch Reparaturdefektes (NHEJ1-Defizienz)

Fiona Poyer¹, Raúl Jimenez Heredia³, Tatjana Hirschmugl³, Ana Krolo³, Petra Zeitlhofer⁵, Oskar Haas^{1,2,5}, Leo Kager^{1,2} und Kaan Boztug^{1,2,3,4}

¹St Anna Children's Hospital, Department of Pediatrics and Adolescent Medicine, Medical University of Vienna; ²Children's Cancer Research Institute, Vienna; ³Ludwig Boltzmann Institute for Rare and Undiagnosed Diseases, Vienna; ⁴CeMM Research Center for Molecular Medicine of the Austrian Academy of Sciences, Vienna; ⁵medgen.at GmbH, Vienna.



Erstvorstellung 2001, 5 Jahre

- Rezidivierende Bronchitiden seit der Geburt
- Familienanamnese: Pakistan, konsanguine Eltern, 2 gesunde Schwestern
- Milde Panzytopenie

Mikrozephalie



Klinodaktylie



HÄMATOLOGISCHE BEFUNDE			
Leukozyten	4.00-12.00	G/l	→ 3.26
Erythrozyten	4.50-5.90	T/l	→ 4.27
Hämoglobin	14.0-17.0	g/dl	→ 10.4
Hämatokrit	43-52	%	32
MCV (Mittl. Zellvolumen)	78-96	fl	75
MCH (mittl. Zell-Hb)	25-35	pg	24
MCHC (mittl. Zell-Hb-Konz.)	30-37	g/dl	32
Erythrozytenverteilungsbreite	11.5-14.5	%	16.9
Retikulozyten	5-15	%o	25
Thrombozyten	140-400	G/l	→ 118
Mittleres Plättchenvolumen	7-11	fl	9
Stabförmige Neutrophile	0.0-5.0	rel %	
Neutrophile	50.0-70.0	rel %	45.7
Lymphozyten	20.0-40.0	rel %	38.4
Monozyten	3.0-10.0	rel %	8.5
Eosinophile	2.0-4.0	rel %	2.4
Basophile	0.0-1.0	rel %	0.6
Lymphatische Reizformen	0.0-6.0	rel %	4.3
Neutrophile	1.90-8.00	abs./G/l	→ 1.49
Stabförmige Neutrophile	0.00-0.50	abs./G/l	
Lymphozyten	0.80-3.50	abs./G/l	→ 1.25
Monozyten	0.15-1.40	abs./G/l	0.28
Eosinophile	0.00-0.40	abs./G/l	0.08
Basophile	0.00-0.20	abs./G/l	0.02
Lymphatische Reizformen		abs./G/l	0.14
Händische Beurteil. diff. BB.			

Immunologie:

IgA Mangel, sonst unauffällige IGs
Lymphozytentypisierung unauffällig

Hämatologie:

DEB Test unauffällig
Pankreasfunktion unauffällig
PNH-Klon nicht nachweisbar
Genetik auf Nijmegen Breakage und
Dyskeratosis congenita negativ

1. KMP:

normale Zellularität,
verminderte CD34+ Stammzellen

2001

Immunologie:

IgA Mangel, sonst unauffällige IGs
Lymphozytentypisierung unauffällig

Hämatologie:

DEB Test unauffällig
Pankreasfunktion unauffällig
PNH-Klon nicht nachweisbar
Genetik auf Nijmegen Breakage
und Dyskeratosis congenita negativ

1. KMP:

normale Zellularität,
verminderte CD34+ Stammzellen

2. KMP:

Bild eines hypozellulären
MDS (**RCC**),
18% Monosomie 7

➤ **HSCT Indikation**

3. KMP:

weiterhin RCC,
keine Monosomie 7

2001

2002

Hb



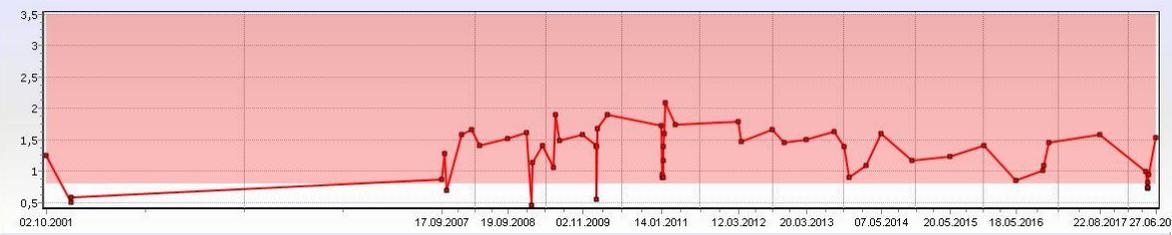
Thrombo



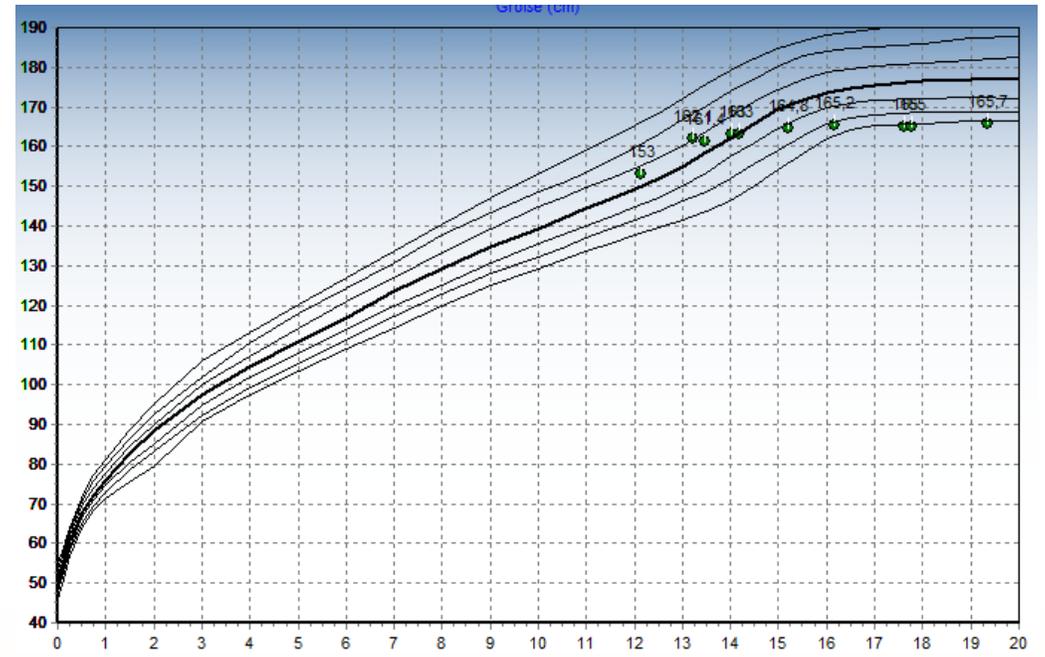
Leuko



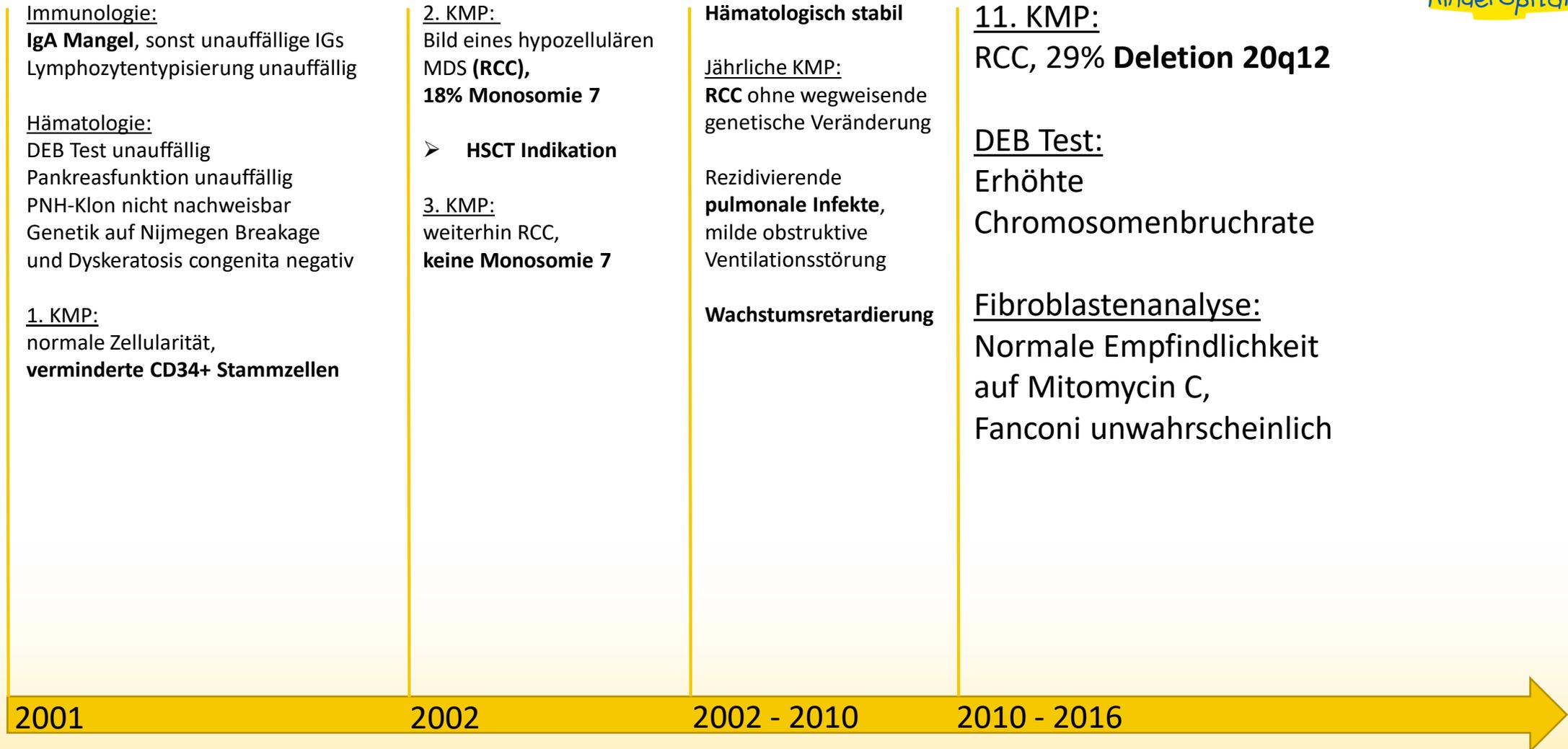
Lympho



ANC



Gestopptes Längenwachstum



Immunologie:
IgA Mangel, sonst unauffällige IGs
Lymphozytentypisierung unauffällig

Hämatologie:
DEB Test unauffällig
Pankreasfunktion unauffällig
PNH-Klon nicht nachweisbar
Genetik auf Nijmegen Breakage
und Dyskeratosis congenita negativ

1. KMP:
normale Zellularität,
verminderte CD34+ Stammzellen

2. KMP:
Bild eines hypozellulären
MDS (**RCC**),
18% Monosomie 7

➤ **HSCT Indikation**

3. KMP:
weiterhin RCC,
keine Monosomie 7

Hämatologisch stabil

Jährliche KMP:
RCC ohne wegweisende
genetische Veränderung

Rezidivierende
pulmonale Infekte,
milde obstruktive
Ventilationsstörung

Wachstumsretardierung

11. KMP:
RCC, 29% **Deletion 20q12**

DEB Test:
Erhöhte
Chromosomenbruchrate

Fibroblastenanalyse:
Normale Empfindlichkeit
auf Mitomycin C,
Fanconi unwahrscheinlich

2001

2002

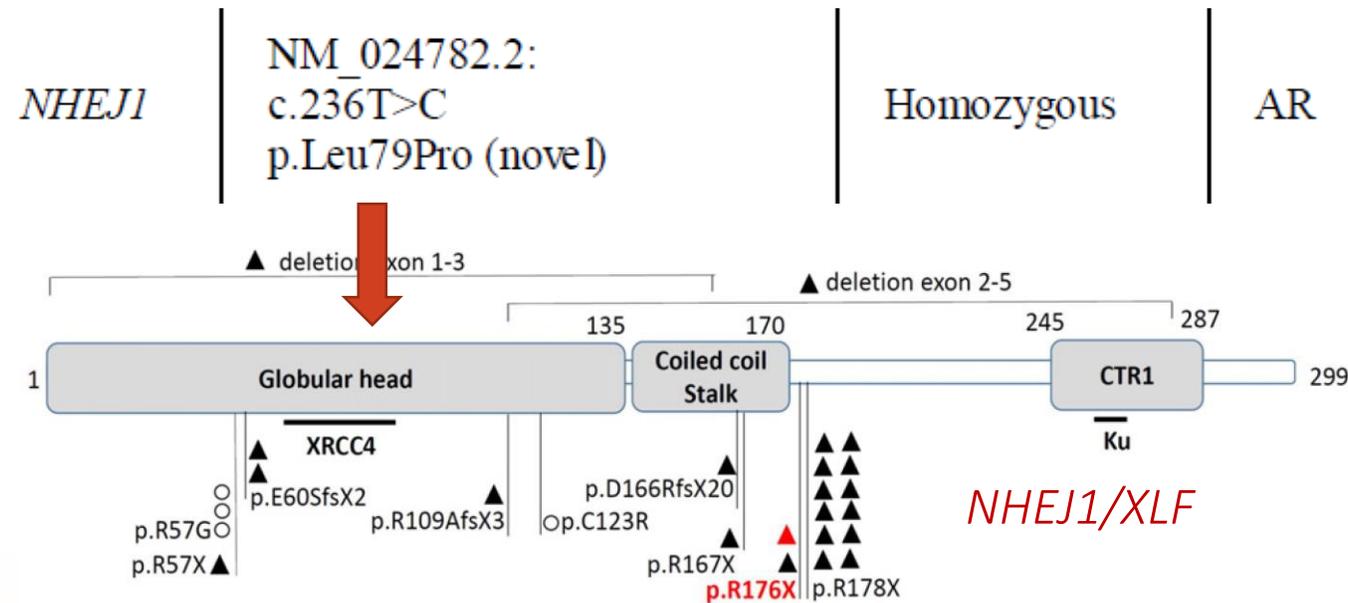
2002 - 2010

2010 - 2016

2016

PANEL

NHEJ1 (alias XLF/Cernunnos) Defizienz

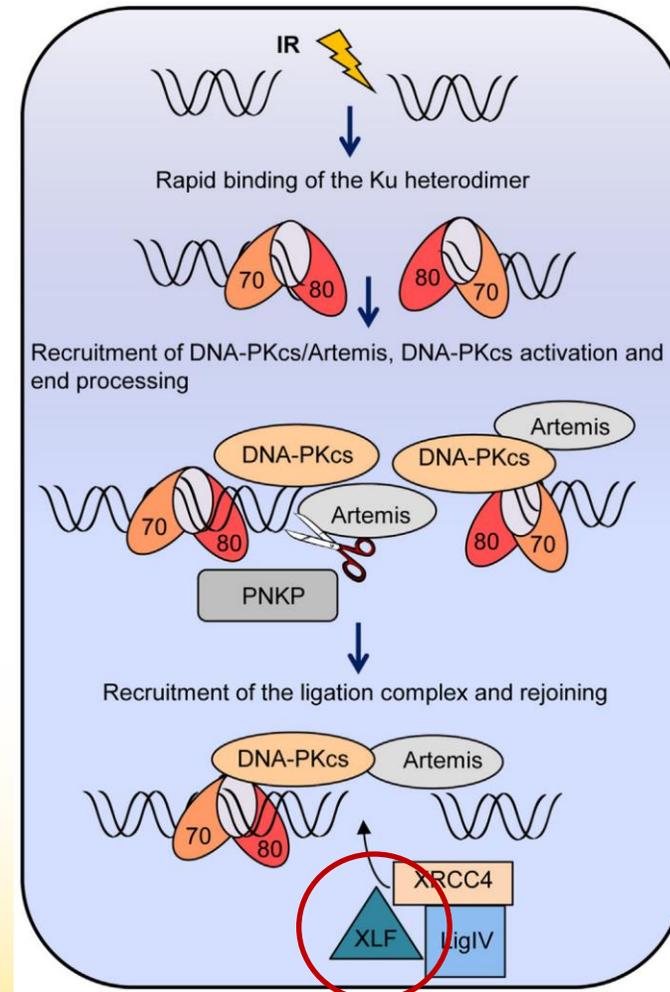


Clinical Immunology 183 (2017) 201–206

- Laut PolyPhen und SIFT intolerabel, CADD Score > 30

DNA non-homologous end-joining

NHEJ1 (XLF/Cernunnos) Defizienz
➤ Kombiniertes Immundefekt



Buck et. al. (2006)
Ahnesorg et. al. (2006)

DNA non-homologous end-joining

- Physiologisch
 - VDJ-Rekombination, Klassenswitch der Immunglobuline
- Defekt → radiosensitiver **T⁻B⁻ SCID**
 - Artemis, DNA Ligase IV, DNA PKcs

NHEJ1 (alias XLF/Cernunnos) Defizienz



- < 20 beschriebene Fälle weltweit
- Funktionelle Redundanz mit PAXX und ATM (*Li et al. 2008, Du et al. 2012, Lescale et al. 2016*) -> **kein SCID**
- **Hypogammaglobulinämie** bei unauffälligem IgM
 - Klassenswitch defekt (*Li et al. 2008*)
- **Progrediente B-Lymphopenie**
 - **Prämaures Altern hämatopoietischer Stammzellen**
 - Progressive Verkürzung der Telomere (*Carillo et al. 2017*)

Erneute Immunphänotypisierung (2016)



LEUKOZYTENTYPISIERUNG (IDV)

MARKER	REAKTIVE ZELLEN/ANTIGENE	REFERENZBEREICH	%WERT	ABS(x10 ⁹ /l)
<u>T-Zell Marker</u>				
CD3	CD3 pos. T-Lymphozyten	46-83%	82% der Lymphozyten (*)	0,82
CD4/3	CD4+ T-Lymphozyten Subset	32-62%	30% der Lymphozyten (!)	0,30
CD8/3	CD8+ T-Lymphozyten Subset	13-45%	44% der Lymphozyten (*)	0,44
CD4/8	CD4/CD8 Ratio			0,68
<u>B-Zell Marker</u>				
CD19	B Lymphozyten	5-19%	2% der Lymphozyten (!)	0,02
<u>NK-Zell Marker</u>				
CD56/3	CD56+CD3- NK Zell Subset	8-22%	16% der Lymphozyten	0,16
<u>Leuko Werte</u>				
LEUKO	Leukozytenzahl	4.3-10.0x10 ⁹ /l		6,70
LY	Lymphozyten (Scatteranalyse)	1.5-4.0x10 ⁹ /l	15%	1,01
MON	Monozyten (Scatteranalyse)	0.2-1.0x10 ⁹ /l	5%	0,34
GRAN	Granulozyten (Scatteranalyse)	1.8-7.3x10 ⁹ /l	80%	5,36
! = ausserhalb des Normalbereichs / * = unterer oder oberer Grenzbereich				
<u>Impfantikörper</u>				
Anti-TT	Anti Tetanus Toxoid IgG		0,85 IU/ml	ipfe.
Anti-DT	Anti Diphtherie Toxoid IgG		0,1 IU/ml	
HiB	Anti Haemophilus Influenzae B IgG		0,01 mg/l	
PCP	Anti Pneumokokken Kapselpolysaccharid IgG		11,4 mg/l	

Warum MDS?

- Bis dato 2 Fälle einer Knochenmarksaplasie bei Patienten mit NHEJ1 Defizienz (*Buck 2006, Carillo 2017*)
 - Erfolgreiche Behandlung mit HSCT
- Beschriebene **mögliche Korrelationen** zwischen MDS und NHEJ1 Defizienz:
 - Akkummulation von DNA Schäden -> Potential zu maligner Entartung hämatopoetischer Stammzellen (*Tilgner 2013*)
 - Stammzellen bei Patienten mit hypozellulärem MDS zeigen DNA Doppelstrangbruch Reparaturdefekte (*Ribeiro 2017*)

Zum Abschluss...

- Erster weltweit beschriebener Patient mit MDS auf dem Boden einer NHEJ1 Defizienz
- 2. Patient weltweit, der ohne HSCT das Erwachsenenalter erreicht hat
- Hämatologische Veränderungen können auch das erste Anzeichen eines primären Immundefektes sein
- Bedeutung des Next Generation Sequencing zur Diagnosefindung unklarer hämatologischer Veränderungen

