

# Molekulární patofyziologie ribozomopatií – onemocnění s narušenou funkcí ribozomů

## Molecular pathophysiology of ribosomopathies – disorders of ribosome dysfunction

Jahoda O.<sup>1</sup>, Kureková S.<sup>1</sup>, Hlušíčková Kapralová K.<sup>1</sup>, Pospíšilová D.<sup>2</sup>, Horváthová M.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Ústav biologie, LF UP, Olomouc

<sup>2</sup> Dětská klinika LF UP a FN Olomouc

**SOUHRN:** Ribozomy jsou buněčné struktury zodpovědné za syntézu proteinů. Utvářejí se během složitého procesu, který se nazývá biogeneze ribozomů. Vrozené ribozomopatie jsou heterogenní skupinou onemocnění, jejichž příčinou jsou genetické abnormality způsobující narušení biogeneze a funkce ribozomů. Mutovány mohou být geny ribozomálních proteinů i dalších faktorů podílejících se na ribozomální biogenezi. Charakteristickým znakem vrozených ribozomopatií jsou tkáňově specifická poškození a zvýšené riziko rozvoje nádorových onemocnění. Nedávný výzkum navíc odhalil, že klinicky významné jsou i somatické mutace v genech pro ribozomální proteiny, jelikož se podílejí na procesu nádorové transformace. V tomto souhrnném článku je popsáno patofyziologické působení ribozomálních defektů na buněčné a molekulární úrovni i možné mechanismy podporující onkogenezi. Článek dále pojednává o léčbě ribozomopatií a představuje nové terapeutické možnosti.

**KLÍČOVÁ SLOVA:** ribozomopatie – biogeneze ribozomů – translace – Diamondova-Blackfanova anémie

**SUMMARY:** Ribosomes are cellular structures responsible for protein synthesis. They are formed during a complex process called ribosome biogenesis. Congenital ribosomopathies are a heterogeneous group of diseases caused by genetic abnormalities that disrupt ribosome biogenesis and function with causative mutations affecting genes encoding for ribosomal proteins or other factors involved in ribosome biogenesis. A hallmark of congenital ribosomopathies is tissue-specific damage and an increased risk of cancer development. In addition, recent research has revealed that somatic mutations in genes for ribosomal proteins are also clinically relevant as they are involved in the process of malignant transformation. In this review article, we describe the pathophysiological effects of ribosome dysfunction at the cellular and molecular level, as well as possible mechanisms promoting oncogenesis. The article also discusses current treatment of ribosomopathies and presents new therapeutic options.

**KEY WORDS:** ribosomopathies – ribosome biogenesis – translation – Diamond-Blackfan anaemia

### ÚVOD

Ribozomy jsou složité ribonukleoproteinové struktury, které v buňkách plní esenciální úlohu v procesu translace zabezpečujícím syntézu proteinů. Pro proteosyntézu ribozomy využívají molekuly mediátorové RNA (mRNA), jejichž nukleotidovou sekvencí prostřednictvím transferové RNA (tRNA) překládají podle pravidel genetického kódu do aminokyselinové sekvence proteinu. Proces tvorby samotných ribozomů zvaný biogeneze ribozomů je jedním z nejrozmanitějších a energeticky nejnáročnějších procesů v buňce. Ribozomopatie jsou

nedávno ustavenou skupinou onemocnění, která je charakterizována narušenou biogenezí ribozomů a jejich dysfunkcí. První odhalenou ribozomopatií byla Diamondova-Blackfanova anémie (DBA). Toto vzácné onemocnění, patřící do skupiny vrozených syndromů selhání kostní dřeně, bylo popsáno již v roce 1938, avšak k odhalení jeho genetické podstaty došlo teprve na sklonku 20. století. V roce 1999 Draptchinskaja et al. popsali u pacientů s DBA rekurentní heterozygotní mutaci v genu *RPS19*, který kóduje ribozomální protein (RP) S19 [1]. *RPS19* je integrální součástí malé ribozo-

mální podjednotky a mutace jeho genu byla identifikována přibližně u 25 % pacientů postižených DBA. Později byly u DBA pacientů objeveny kauzální mutace i v dalších genech kódujících jiné ribozomální proteiny (RPs). Tento pozoruhodný nálezn vedl k poměrně neočekávanému zjištění, že za fenotyp DBA zodpovídají mutace, které vedou k narušení samotné biogeneze ribozomů. V následujících letech byly odhaleny další mutace způsobující poruchy v ribozomální biogenezi i u jiných vzácných vrozených syndromů, což vedlo k definování zcela nové skupiny onemocnění

zvaných RIBOZOMOPATIE. Syndromy zahrnuté mezi ribozomopatie jsou klinicky různorodé. Existují ovšem dvě významné charakteristiky společné pro většinu těchto onemocnění. První spočívá ve zvýšené citlivosti některých tkání k narušení ribozomální biogeneze. Charakteristickým příkladem takové tkáně je kostní dřevina, jejíž selhání doprovází většinu ribozomopatií. Druhým společným rysem je pak významné zvýšení náchylnosti postižených pacientů k rozvoji nádorových onemocnění. Přestože byl termín ribozomopatie původně zaveden pouze pro označení syndromů způsobených vrozenými (germinálními) mutacemi, nové poznatky nádorové biologie poukazují na výrazný podíl a kauzální charakter obdobných získaných (somatických) mutací u řady nádorů. Tyto nálezy tak vedly k rozšíření celé problematiky ribozomopatií i o tzv. somatické ribozomopatie, které vznikají až během života [2].

### Ribozomy a jejich biogeneze

Eukaryotické ribozomy se skládají z malé 40S a velké 60S ribozomální podjednotky. Nacházejí se volně v cytoplasmě nebo jako součást endoplazmatického retikula. U člověka je malá ribozomální podjednotka tvořena 18S ribozomální RNA (rRNA) a 33 RPs a velká podjednotka je tvořena třemi rRNA (28S, 5S a 5.8S) a 47 RPs. Biogeneze ribozomů je nekaskupňový, komplexní a koordinovaný proces, který z velké části probíhá v jadéru a jehož výsledkem je tvorba funkčních ribozomů v cytoplasmě (obr. 1). Jednotlivé kroky zahrnují tvorbu zralých rRNA, syntézu jednotlivých RPs, jejich asociaci do 90S pre-ribozomu, který se rozdělí na nezralé 40S a 60S ribozomální podjednotky vstupující do cytoplazmy, kde následně asociují za vzniku funkčního ribozomu. K narušení biogeneze ribozomů může docházet na všech úrovních tohoto komplexního procesu, od počáteční transkripce rRNA až po závěrečné maturační kroky v cytoplasmě, a to v důsledku mutací v genech pro RPs, rRNA nebo genech kódujících tzv. zračí

faktory jako např. treacle, dyskerin nebo TSR2 (obr. 1).

### VROZENÉ RIBOZOMOPATIE

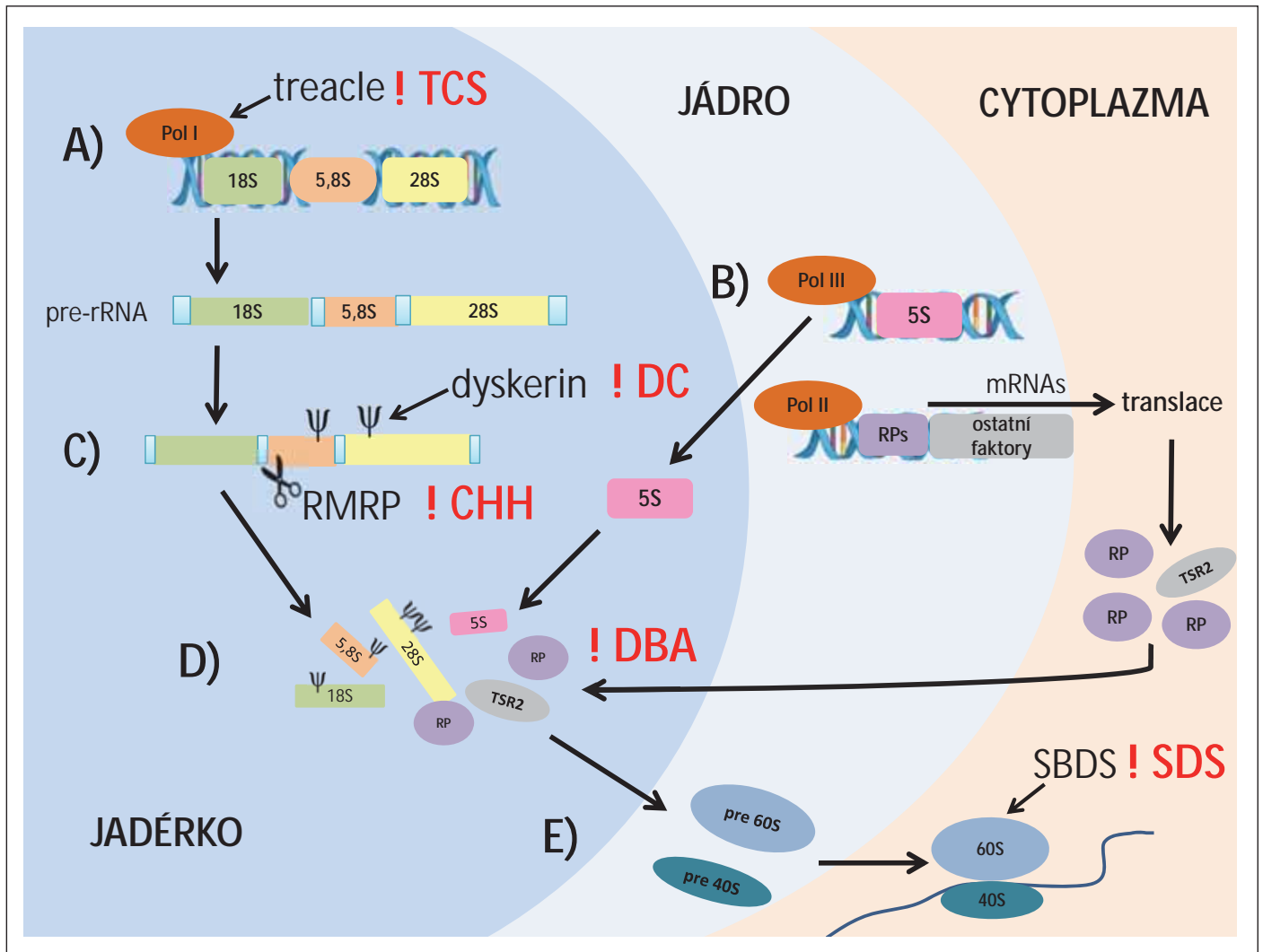
Vrozené ribozomopatie zahrnují heterogenní skupinu geneticky podmíněných syndromů, které jsou způsobeny germinálními mutacemi narušujícími některý z kroků ribozomální biogeneze. První syndromy zařazené mezi vrozené ribozomopatie byly DBA a X-vázaná dyskeratosis congenita (DC). Následně se seznam ribozomopatií rychle rozšířil o další syndromy. Mezi nejvíce studované patří vedle DBA Shwachmanův-Diamondův syndrom (SDS), syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů (*cartilage hair hypoplasia* – CHH) a Treacherův-Collinsův syndrom (TCS) [3].

### Diamondova-Blackfanova anémie

DBA je vzácná vrozená a obvykle závažná makrocytární anémie, která je způsobena izolovanou hypo- nebo aplázií erytropoézy v kostní dřevině. Prevalence onemocnění se pohybuje mezi 1 : 100 000 a 1 : 200 000. Kromě anémie se u více než poloviny pacientů vyskytují různé malformace hlavy a obličeje, palců horních končetin i některých vnitřních orgánů (srdce, ledviny, urogenitální trakt). Onemocnění je také spojeno se zvýšeným rizikem rozvoje hematologických malignit i solidních tumorů. Výrazná predispozice byla pozorována především k rozvoji myelodysplastických neoplázií (MDS), akutní myeloidní leukemie (AML), karcinomu tlustého střeva a osteogenního sarkomu [4]. Léčba je v prvním roce života realizována podáváním transfuzí erytrocytů. Po prvním roce se nasazují kortikosteroidy, na které přibližně 80 % pacientů reaguje akcelerací erytropoézy a zlepšením krevního obrazu. Přibližně 40 % pacientů může být následně dlouhodobě udržováno v režimu nízkých dávek steroidů a ve 20 % případů dokonce dochází k remisi onemocnění bez nutnosti dalších terapeutických intervencí. U pacientů, kteří jsou rezistentní na léčbu steroidy a jsou

trvale závislí na transfuzích, připadá v úvahu transplantace hematopoetických kmenových buněk (*hematopoietic stem cell* – HSC) [5].

Hlavní genetickou příčinou DBA jsou mutace v genech kódujících RPs, které jsou identifikovány u více než poloviny pacientů. K dnešnímu dni byly nalezeny mutace v 20 různých genech kódujících proteiny velké nebo malé ribozomální podjednotky. Mutace vykazují autozomálně dominantní typ dědičnosti, přičemž se předpokládá, že homozygotní mutace *RP* genů jsou letální. V důsledku heterozygotních mutací pak dochází k tzv. haploinsuficienci příslušného proteinu, což má za následek narušené dozrávání rRNA a následné poruchy v biogenezi ribozomů. Kromě mutací v *RP* genech byly ve spojení s fenotypem podobným DBA identifikovány vzácné kauzální mutace i v genech *GATA1* a *TSR2* nacházejících se na chromozomu X a autozomálně recesivní mutace v genech pro erythropoetin (EPO) a enzym adenosindeaminázu 2 (*ADA2*). Gen *GATA1* kóduje klíčový transkripční faktor erytroidní diferenciace, který hraje pravděpodobně stěžejní úlohu v samotné patofyziologii DBA. K výraznému snížení jeho exprese totiž dochází i ve spojení s mutacemi v *RP* genech [6,7]. Gen *TSR2* kóduje maturační faktor ribozomální biogeneze [8]. EPO je peptidický hormon, který plní klíčovou roli v regulaci erytropoézy, a *ADA2* je extracelulární enzym, který rozkládá adenosin a u něhož se předpokládá, že by mohl hrát důležitou roli v regulaci zánetu působením na růst a vývoj buněk imunitního systému. Bialelické mutace v genech *EPO* a *ADA2* vedly u pacientů k erytroblastopenii podobné jako u DBA [9,10]. Na druhou stranu s výjimkou mutace v genu *TSR2* nejsou mutace v ostatních nově popsaných genech spojeny s charakteristickým defektem v dozrávání rRNA. Evropské konsorcium pro DBA (EuroDBA) v roce 2017 stanovilo, že všechny geneticky podmíněné erytroblastopenie budou spadat pod označení DBA syndromy a označení



**Obr. 1. Biogeneze ribozomů a kroky ribozomální biogeneze narušené při ribozomopatiích.**

Proces biogeneze ribozomů: A) V jadérku pomocí RNA polymerázy I (Pol I) dochází k transkripci genů, které kódují pre-ribozomální RNA (pre-rRNA), jejíž součástí jsou sekvence tří rRNA (18S, 5,8S a 28S). B) Čtvrtá 5S rRNA je transkribována z jiného lokusu prostřednictvím RNA polymerázy III (Pol III). Exprese ribozomálních proteinů, které jsou druhou strukturální a funkční složkou ribozomů probíhá obdobně jako exprese všech ostatních proteinů. Nejprve jsou jejich geny v jádře transkribovány prostřednictvím RNA polymerázy II (Pol II) do mRNA a následně je mRNA importována do cytoplazmy, kde dochází k její translaci na ribozomech. C) pre-rRNA podléhá maturaci zahrnující řadu posttranskripčních modifikací (např. sestřih, 2'-O-metylace, pseudouridylace aj.), které umožní vytvoření zralých 18S, 5,8S a 28S rRNA. D) Nově syntetizované RPs putují z cytoplazmy do jadérka, kde asociují s rRNAs za vzniku 90S pre-ribozomu. E) V průběhu dalšího dozrávání je 90S pre-ribozom rozdělen na nezralou pre 40S a pre 60S ribozomální podjednotku, které opouštějí jádro a akumulují se v cytoplazmě, kde je proces biogeneze ribozomů dokončen.

Narušená ribozomální biogeneze při ribozomopatiích (označena !): A) Tvorba pre-rRNA prostřednictvím Pol I vyžaduje kooperaci s proteinem treacle, který je mutován u Treacherova-Collinsova syndromu (TCS). C) Maturace pre-rRNA zahrnuje pseudouridylaci ( $\Psi$ ) zprostředkovanou dyskerinem a sestřih ( $\bowtie$ ) na němž se podílí RMRP. Mutace dyskerinu, vedou k X-vázané dyskeratosis congenita (DC) a mutace RMRP způsobuje syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů (CHH). D) Narušené skládání pre-ribozomálních podjednotek v důsledku haploinsuficience RPs či mutace v zracím faktoru TSR2 vede k Diamondově-Blackfanově anémii (DBA). E) Vznik funkčního ribozomu, spojením 40S a 60S ribozomálních podjednotek, vyžaduje účast SBDS. Mutace SBDS se pojí se Shwachmanovým-Diamondovým syndromem (SDS).

klasická DBA bude vyhrazeno pouze pro erytroblastopenie spojené s defektem v biogenezi ribozomů (mutace *RP*, *TSR2*). Erytroblastopenie spojené s mutacemi *EPO* a *ADA2* pak nově spadají do

podskupiny označované jako „DBA-like“. U erytroblastopení spojených s mutacemi v *GATA1* byly navíc pozorovány znaky dyserytropoézy, abnormální megakaryopoézy a neutropenie, což na-

značuje, že se jedná o samostatnou specifickou podskupinu DBA syndromu. Zhruba v 20 % případů DBA zůstává genetická příčina onemocnění stále neobjasněná [11].

## Dyskeratosis congenita

DC je velmi vzácné onemocnění vyznačující se velkou genetickou i klinickou heterogenitou. Vzhledem k vzácnosti onemocnění nebyla jeho přesná prevalence dosud stanovena, ale odhaduje se, že muži jsou postiženi přibližně desetkrát častěji než ženy. Onemocnění se vyznačuje klasickou triádou mukokutánních abnormalit zahrnujících nepravidelnou pigmentaci kůže, slizniční leukoplakii a dystrofii nehtů. U více než 90 % pacientů dochází k selhání kostní dřeně, které zpravidla vede k pancytopenii [12]. Podobně jako v případě jiných syndromů selhání kostní dřeně je i v případě DC zvýšené riziko rozvoje maligních onemocnění, nejčastěji se jedná o spinocelulární karcinomy hlavy a krku, anorektální karcinom a leukemie. Onemocnění je také spojeno s vysokým rizikem rozvoje plicní fibrózy [13]. Podobně jako u DBA se cytopenie u DC léčí krevními transfuzemi a v případě progresivního selhání kostní dřeně s trvalou závislostí na transfuzích se nabízí transplantace HSC. Vzhledem k vysoké pleiotropii onemocnění vyžaduje péče o pacienty multioborovou spolupráci.

Společným rysem kauzálních mutací u DC je výskyt v genech, které se podílejí na integritě koncových části chromozomů tzv. telomer. Z tohoto důvodu se tento syndrom řadí do nové skupiny onemocnění zvané telomeropatie a za hlavní molekulární mechanismus vzniku a rozvoje onemocnění je považováno progresivní zkracování telomer. V případě X-vázané DC, která je spojená s mutací v genu *DKC1*, se předpokládá, že k patologii onemocnění významně přispívá i narušení biogeneze ribozomů [14]. Gen *DKC1* totiž kóduje multifunkční protein dyskerin, který je nejen součástí telomerázového komplexu, ale podílí se i na modifikaci (tzv. pseudouridyly) rRNA (obr. 1) [15].

## Shwachmanův-Diamondův syndrom

SDS je vzácné pleiotropní autozomálně recesivní onemocnění s prevalencí

1 : 75 000. SDS je charakterizovaný především exokrinní pankreatickou insuficiencí a významnou poruchou krve tvorby, vedoucí většinou k chronické, či intermitentní neutropenii. Velmi často se přidružují i anémie a trombocytopenie. Mezi další klinické příznaky patří kosterní abnormality, poruchy jater, srdce a imunitního systému. Pacienti mají též silnou predispozici k rozvoji MDS a AML. Multisystémové onemocnění vyžaduje léčebný režim navržený specialisty z oborů gastroenterologie a hematologie. Pacientům se perorálně podávají pankreatické enzymy a vitamíny se současnou léčbou cytopenie pomocí transfuzí. V případech těžké neutropenie a infekcí se podává faktor stimulující kolonie granulocytů (G-CSF) a antibiotická profylaxe [16]. Dlouhodobá léčba vysokými dávkami G-CSF u pacientů s vrozenými neutropeniami, vč. SDS, je asociována se zvýšeným rizikem transformace do MDS/AML [17]. Proto se v jejím průběhu doporučuje pravidelné vyšetřování kostní dřeně. Pokud se rozvine selhání kostní dřeně nebo dojde k transformaci do myeloidní malignity, je možné indikovat transplantaci HSC [16].

V roce 2003 byla objevena kauzální mutace v genu *SBDS*, která je identifikovaná až u 90 % pacientů s klinickými příznaky SDS [18]. Gen *SBDS* kóduje maturationální faktor ribozomální biogeneze zvaný *Shwachman-Bodian-Diamond syndrome* (SBDS), který svým působením umožňuje spojení 40S a 60S ribozomálních podjednotek do funkčního 80S ribozomu (obr. 1). Další vzácné kauzální mutace spojené s SDS byly nalezeny v genech *EFL1*, *SRP54* a *DNAJC21*, které se podílejí na biogenezi a/nebo translaci proteinů. Nicméně jejich podíl na SDS nepřesahuje ani 1 % případů, a tak přibližně v 10 % případů SDS zůstává genetická příčina onemocnění stále neobjasněna [19].

## Syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů

CHH je vzácné autozomálně recesivní onemocnění, které se charakteristicky

vyskytuje především v komunitě amišů s prevalencí 1 : 1 340. Poměrně vysoká prevalence CHH, 1 : 20 000, se týká i lidí původem z Finska, avšak mimo uvedené populace se s tímto onemocněním setkáváme velmi zřídka [20]. Klinicky se CHH projevuje jako forma nanismu s krátkými končetinami a hypoplazií vlasů a ochlupení. Nemoc také doprovází mírná až těžká imunodeficeience, která je výsledkem neutropenie a lymfopenie. Rovněž bylo prokázáno zvýšené riziko rozvoje několika malignit, především non-hodgkinových lymfomů [21]. Podobně jako u SDS lze chronickou neutropenii řešit podáváním G-CSF a těžkou imunodeficiencí transplantací HSC.

V roce 2001 byla identifikována kauzální mutace v genu *RMRP*, jehož produktem je nekódující RNA. Tato RNA se spolu s dalšími proteiny podílí na vzniku multifunkčního komplexu, který má esenciální úlohu při sestřihu a dozrávání rRNA v jadérku [22,23] (obr. 1).

## Treacherův-Collinsův syndrom

TCS je autozomálně dominantní onemocnění s incidencí 1 : 50 000. Onemocnění vzniká během časného embryonálního vývoje jako důsledek abnormální proliferace buněk neurální lišty a hlavním klinickým příznakem je kraniofaciální dysmorfie daná hypoplazií obličejových kostí. Dále se mohou vyskytovat deformace uší spojené s nedoslýchavostí a eventuálně úplnou hluchotou, rozštěp patra, nesprávné zarovnání zubů a šikmé oči. Péče o pacienty vyžaduje spolupráci odborníků z oborů otorinolaryngologie, oftalmologie, ortodontie a logopedie, přičemž závažné kraniofaciální deformity vyžadují chirurgickou rekonstrukci. Na rozdíl od ostatních výše zmíněných ribozomopatií TCS není spojen s poruchou krve tvorby ani s predispozicí k rozvoji nádorových onemocnění.

V roce 1996 byla genetická příčina TCS spojena s mutacemi v genu *TCOF1*. Tento gen kóduje jadéřkový protein *treacle*, který reguluje činnost RNA polymerázy I, a má tedy vliv na průběh transkripce

genů kódujících rRNA (obr. 1). Zařazení TCS mezi ribozomopatie způsobené deregulací transkripce rRNA byla podpořena i nalezením kauzálních mutací v genu kódujícím podjednotku RNA polymerázy I [24].

## SOMATICKÉ RIBOZOMOPATIE

Somatické ribozomopatie zahrnují širokou škálu nádorů se získanými mutacemi v genech interferujícími s biogenezi ribozomů. Především jde o geny pro RPs, nejčastěji mutovaným je gen pro RPL5 (tab. 1). I když se somatické mutace v genech pro RPs většinou odlišují od zárodečných mutací spojených s DBA, jde zpravidla rovněž o heterozygotní ztrátové mutace, v jejichž důsledku dochází k haploinsuficienci příslušného proteinu. V případě nádorových onemocnění se nepředpokládá, že by genetické změny v RPs byly samy o sobě dostatečné pro vznik nádoru. Rekurentní výskyt těchto mutací napříč různými nádorovými onemocněními i experimenty na zvířecích modelech ovšem naznačují jejich onkogenní potenciál v procesu nádorové transformace [25,26].

### MDS-5q

Nejlépe charakterizovanou somatickou ribozomopatií je 5q-syndrom, který je považován za subtyp MDS a dle aktuální WHO klasifikace hematolymfoidních tumorů je nově označován jako MDS s nízkým počtem blastů a izolovanou delecí 5q (MDS-5q) [27]. Poprvé byl popsán v roce 1974 u pacientů s refrakterní anémií, u nichž se vyskytoval cytogenetický nález intersticiální delecí dlouhého raménka chromozomu 5. Vyznačuje se makrocytární anémií, která je často doprovázena trombocytózou. V porovnání s jinými subtypy MDS mají pacienti s MDS-5q lepší prognózu a relativně nízkou míru progresu do AML, přičemž narušená erythropoéza pacientů poměrně dobře odpovídá na léčbu lenalidomidem. Nicméně přítomnost dalších somatických mutací v *RUNX1*, *TET2*, ale zejména v *TP53*, který kóduje tumo-

**Tab. 1. Geny pro ribozomální proteiny jejichž somatické mutace se opakovaně vyskytují u některých nádorových onemocnění [2].**

| RP gen        | Nádorová onemocnění                                          | Četnost mutací |
|---------------|--------------------------------------------------------------|----------------|
| <i>RPL5</i>   | karcinom prsu, melanom, mnohočetný myelom, glioblastom       | ~ 30 %         |
| <i>RPL22</i>  | karcinom žaludku, karcinom endometria, kolorektální karcinom | ~ 10 %         |
| <i>RPL23A</i> | karcinom dělohy                                              | ~ 15 %         |
| <i>RPS15</i>  | relabovaná chronická lymfocytární leukemie                   | ~ 20 %         |
| <i>RPL10</i>  | T-buněčná akutní lymfoblastická leukemie                     | ~ 10 %         |

rový supresor p53, je spojena s negativní prognózou a progresí onemocnění [28]. Deletovaná oblast u MDS-5q zahrnuje několik genů, avšak hlavní vliv na rozvoj onemocnění má ztráta genu *RPS14*. Heterozygotní ztráta tohoto genu vede podobně jako u DBA k haploinsuficienci *RPS14* s následnými poruchami v ribozomální biogenezi.

## MOLEKULÁRNÍ PATOFYZIOLOGIE RIBOZOMOPATIÍ

Předpokládá se, že hlavní podíl na molekulární podstatě ribozomopatií mají především dva vzájemně se nevylučující a silně provázané mechanismy: aktivace tumorového supresoru p53 v reakci na ribozomální stres a posměnění translace v důsledku změny počtu a/nebo funkce ribozomů. Výzkum posledních několika let navíc poukazuje i na významný podíl oxidačního stresu v patofyziologii těchto onemocnění.

### Ribozomální stres a aktivace p53

Přestože je jádro primárně známé svou rolí v biogenezi ribozomů, v současnosti se ukazuje, že se jedná o organelu s mnoha dalšími funkcemi. Ukazuje se, že jádro funguje jako senzor široké škály různých buněčných stresorů (UV záření, chemoterapeutika, hypoxie, oxidační stres, teplotní šok aj.) a zprostředkovává aktivaci stresových signálních drah [29]. Mezi tyto stresory patří právě i aberantní exprese genů ovlivňujících ribozomální biogenezi. Hlavní odpovědí na ribozomální stres je aktivace p53 signalizace, přičemž nejlépe zdo-

kumentovaný mechanismus, aktivující tuto dráhu, zahrnuje vazbu RPs na Mdm2 protein. Mdm2 ubikvitinuluje tumorový supresor p53 a tím jej směřuje k proteazomální degradaci. Díky tomu se v buňce za fyziologických podmínek udržují jen nízké hladiny p53 [30]. V případě narušení biogeneze ribozomů dochází v jádru k vytvoření specifických podmínek, které vedou k akumulaci volných RPs a ty po uvolnění z jádra interagují v nukleoplazmě s Mdm2, čímž inhibují jeho schopnost degradovat p53 [31,32] (obr. 2).

Aktivace p53 a jeho následná signalizace představuje pravděpodobně centrální uzel v rozvoji hypoproliferativních klinických příznaků vrozených ribozomopatií. V důsledku jeho nadměrné aktivace totiž dochází k narušení průběhu buněčného cyklu, senescenci a apoptóze. Charakteristické proliferační defekty specifických tkání, např. buněk neurální lišty u TCS či erytroidních progenitorů v případě DBA, jsou přisuzovány mimo jiné i zvýšené náchylnosti těchto buněčných typů k aktivaci p53. Nicméně genetická i farmakologická deplece aktivity p53 vedla k úpravě jen některých symptomů ribozomopatií. Tato skutečnost v součinnosti s dalšími komplexními molekulárními patologiemi naznačuje nutný vliv i dalších mechanismů jak na aktivaci p53, tak i na rozvoj samotného onemocnění [33].

### Pozměněná translace a změny proteomu

Kromě důkazů o centrální úloze p53 v patofyziologii ribozomopatií existuje rov-



poézy, který se projevuje zpožděním diferenciace a zvýšenou apoptózou erytroidních buněk, což jsou hlavní znaky DBA. Kromě regulace exprese erytroidně specifických genů bylo v *in vitro* studii prokázáno, že GATA1 interaguje s p53 a inhibuje aktivaci p53 signální dráhy. To naznačuje, že snížená exprese GATA1 u DBA by mohla být dalším z mechanismů spoluzodpovědných za nadměrnou aktivaci p53 [35]. Kromě narušené translace se na snížení množství GATA1 u DBA podílí i pokles hladiny chaperonu HSP70, který stabilizuje a chrání GATA1 před rozštěpením. V důsledku zvýšené proteazomální degradace dochází ve spojení s mutacemi v některých *RP* genech (např. *RPL5*, *RPL11*, *RPS24*) k výraznému poklesu HSP70 [36]. Význam role redukované hladiny GATA1 na charakteristický fenotyp DBA pak podtrhuje i zjištění, že mutace *GATA1* mohou samy o sobě vést k rozvoji fenotypu podobného DBA. Mimo *GATA1* jsou translačními defekty u DBA zasaženy i další specifické geny, které rovněž sehrávají klíčovou roli v proliferaci a diferenciaci erytroblastů [37].

### Oxidační stres

V posledních letech narůstá počet studií, které naznačují významný vliv oxidačního stresu v patogenezi jednotlivých ribozomopatií [38–41]. Oxidační stres vzniká v důsledku akumulace reaktivních forem kyslíku (ROS), které jsou při zvýšených hladinách pro buňku toxické a vedou k inhibici proliferace a apoptóze. Mechanismus toxicity zahrnuje oxidační poškození nukleových kyselin, proteinů a lipidů a také vede prostřednictvím narušení mitochondriálních funkcí k výrazným změnám v energetickém metabolismu buňky. Zvýšené intracelulární hladiny ROS se navíc mohou prostřednictvím oxidativního poškození DNA významně spolupodílet i na aktivaci p53 [39].

Mechanismy, kterými defektní biogeneze ribozomů způsobuje narušení redoxní homeostázy, nejsou dosud detailně pochopeny. Jednou z možností

by mohly být právě všeobecné i selektivní defekty v translaci mRNA. Kupříkladu bylo zjištěno, že v DBA erytroidních prekuzorech dochází k narušení translace globinových řetězců a tím i rovnováhy mezi syntézou hemu a globinů. Přebytečný volný hem se pak podílí na nadměrné produkci ROS [42]. Na indukci ROS v hematopoetických progenitorech by se mohlo podílet i prozánětlivé mikroprostředí, které je výsledkem abnormální sekrece prozánětlivých faktorů buňkami tvořícími hematopoetickou niku [39,43].

### Onkogenní mechanismus somatických ribozomopatií

Onkogenní mechanismy somatických ribozomopatií nejsou prozatím dostatečně vysvětleny. Předpokládá se, že by v důsledku pozmeněné translace mohlo docházet k posunu v translačním profilu směrem k nadměrné syntéze onkogenních proteinů a potlačení syntézy tumorových supresorů. V poměrně nedávno publikované práci bylo zjištěno, že rekurentní mutace R98S v genu *RPL10*, která se vyskytuje u 8 % pediatrických T-buněčných akutních lymfoblastických leukemií, vedla v leukemických buňkách k nadměrné translaci antiapoptotického faktoru BCL2 [44]. Jiná práce zase ukázala, že buňky s touto mutací vykazovaly zvýšenou expresi několika proteinů JAK/STAT signální dráhy, která řídí buněčnou proliferaci a přežití [45].

Dále se uvažuje, že potenciálním zdrojem onkogeneze by mohlo být i narušení neribozomálních funkcí mutovaných RPs, které zahrnují např. regulaci některých onkogenů a tumorových supresorů. V kontextu ribozomopatií je nejlépe charakterizovanou mimoribozomální funkcí RPs schopnost některých z těchto proteinů v reakci na ribozomální stres aktivovat p53 signalizaci. Ztrátové mutace v klíčových genech této signalizace, *RPL5* či *RPL11*, mohou vést k narušení aktivace p53, a tím i větší náchylnosti k maligní transformaci [46]. Některé RPs navíc působí jako supresory významného onkogeny c-myc [47,48]. Ztráta těchto RPs

by tak mohla vést k nádorové transformaci prostřednictvím zvýšené exprese c-myc. Vliv mutací v *RP* genech na rozvoj rakoviny může být zprostředkován také nepřímo. Výsledné ribozomální defekty totiž mohou vést ke komplexním metabolickým a redoxním změnám a v důsledku zvýšeného oxidačního poškození DNA pak může docházet k akumulaci sekundárních mutací urychlujících proces nádorové transformace [40].

### Predispozice k nádorovým onemocněním u ribozomopatií

Přestože jsou časné projevy vrozených ribozomopatií charakteristicky spojené s různými defekty v buněčném růstu a dělení, pro většinu z nich byla popsána predispozice k rozvoji nádorových onemocnění. Paradox přechodu od hypoproliferace k hyperproliferativnímu onkogenímu fenotypu v pozdější fázi života pacientů byl poprvé popsán v roce 1967 doktorem W. Dameshkem a je znám jako tzv. „Dameshkova hádanka“ [49].

Tuto paradoxní proměnu fenotypu se pokusili vysvětlit Kampen et al. [2], kteří předpokládají, že přestože defekt v ribozomální biogenezi může od samého počátku prostřednictvím dysregulace onkogenů a nádorových supresorů podporovat progresi k nádorovému onemocnění, jiné buněčné změny tento efekt utlumí a vedou k potlačení proliferace. Významnou úlohu v přechodu od hypoproliferace k hyperproliferaci pak autoři připisují především působení oxidačního stresu. Ten svou toxicitou zpomaluje buněčnou proliferaci, ale zároveň svými mutagenními účinky může urychlovat vznik nových mutací. Některé z těchto mutací pak mohou pomoci buňkám překonat/obejít tlak mechanismů vedoucích k hypoproliferaci a následná akumulace dalších genetických změn může dále urychlovat proces nádorové transformace [2,40]. Příkladem takové genetické změny mohou být mutace inaktivující p53. Nedávná studie ukázala, že právě somatické mutace *TP53* se u pacientů s SDS podílejí na rozvoji MDS [50].

Tab. 2. Přehled nově testovaných potenciálních léčiv u ribozomopatií [63].

| Léčivo              | Onemocnění | Předpokládaný mechanismus účinku                              | Effekt léčby                                                                           |
|---------------------|------------|---------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|
| Sotatercept         | DBA        | inhibice TGF- $\beta$ signalizace                             | stimulace erytropoézy                                                                  |
| Trifluoperazin      | DBA        | snížení aktivity p53                                          |                                                                                        |
| SMER28              | DBA        | indukce autofagie                                             |                                                                                        |
| Danazol             | DC         | prevence zkracování telomer                                   |                                                                                        |
| AVID200, SD208      | SDS        | inhibice TGF- $\beta$ signalizace                             |                                                                                        |
| L-leucin            | DBA        | zvýšení proteosyntézy                                         | stimulace erytropoézy, zlepšení růstových a vývojových defektů                         |
| Eltrombopag         | DBA        | nitrobuněčná restrikce železa, obnovení poměru hemu a globinů | stimulace erytropoézy                                                                  |
|                     | DC         | aktivace signalizace přes trombopoetinový receptor            | stimulace hematopoézy                                                                  |
| Růstový hormon (GH) | CHH        | aktivace GH signální dráhy, stimulace metabolismu             | zlepšení růstu?                                                                        |
| Bortezomib, MG132   | TCS        | inhibice proteazomální degradace                              | zmírnění kraniofaciálních defektů                                                      |
| Ataluren            | SDS        | obnovení exprese SBDS narušené v důsledku nonsense mutace     | zvýšení diferenciací myeloidních prekurzorů, nárůst počtu mononukleárních buněk v krvi |

? – protichůdné výsledky; CHH – syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů (*cartilage hair hypoplasia*); DBA – Diamondova-Blackfanova anémie; DC – dyskeratosis congenita; SDS – Shwachmanův-Diamondův syndrom; TCS – Treacherův-Collinsův syndrom

## NOVÉ MOŽNOSTI LÉČBY VROZENÝCH RIBOZOMOPATIÍ

Současný standard léčby ribozomopatií se zaměřuje především na symptomatickou terapii. Farmakologická léčba kortikoidy a podávání transfuzních přípravků jsou spojené s příslušnými nežádoucími účinky. V případě steroidů jde o růstovou retardaci, vznik žaludečních vředů, náchylnost k infekcím a rozvoj osteoporózy, hypertenze a sekundárního diabetu. U pravidelného podávání transfuzí je nezbytná adekvátní chelační léčba, k prevenci přetížení organismu železem, které může vést k endokrinním dysfunkcím a závažné orgánové toxicitě [51]. Doposud jedinou kurativní léčbou hematologických projevů ribozomopatií je transplantace HSC, která však s sebou nese řadu závažných rizik a komplikací, vč. významné morbidity a mortality.

### Vývoj nových léčiv

Kortikosteroidy navzdory mnoha pokusům o nalezení nových léčebných alternativ nadále zůstávají hlavním pilířem farmakologické léčby DBA [52].

Nejnadějnějším novým přístupem k léčbě DBA by mohla být terapeutická suplementace aminokyselinou L-leucinem. Tato aminokyselina je známá svou schopností stimulovat proteosyntézu [53]. V roce 2007 Pospíšilová et al. popsali první úspěšnou léčbu leucinem u pacientky závislé na podávání transfuzí [54]. Výsledky pilotní multiinstitucionální klinické studie fáze I/II (NCT01362595) ukázaly, že léčba leucinem vedla u 16 % DBA pacientů závislých na transfuzích k erytroidní odpovědi a u 36 % a 44 % pacientů došlo po několika měsících také ke zvýšení tělesné hmotnosti a lineární rychlosti růstu. Léčba leucinem navíc není při správném monitorování jeho hladiny spojena s žádnými významnými nežádoucími účinky [55].

Dalším zajímavým cílem z hlediska terapeutické intervence je TGF- $\beta$  signální dráha. Nadměrná aktivace této dráhy je spojena s potlačením krvetvorby a její dysregulace byla zjištěna např. u DBA i SDS [56,57]. Inhibitory TGF- $\beta$  signalizace, jako jsou sotatercept, luspatercept či galunisertib, podporují produkci erytrocytů a vedou ke zvýšení hemo-

globinu a hematokritu u zdravých dobrovolníků, ale např. i u pacientů s  $\beta$ -talasemií, u kterých dochází ke stimulaci pozdní fáze erytroidní diferenciaci a korekci neefektivní erytropoézy [58]. Potenciální využitelnost těchto látek v léčbě hematologických symptomů ribozomopatií podporují jak dobré výsledky testování u zvířecích modelů [59], tak výsledky klinických studií, které ukázaly efekt těchto látek při překonávání myelosuprese, neefektivní erytropoézy a zmírnění anémie u pacientů s nízkorizikovým MDS, pro něž je aberantní TGF- $\beta$  signalizace rovněž charakteristická [60]. V roce 2019, resp. 2020, byl luspatercept schválen FDA a EMA pro léčbu dospělých pacientů s  $\beta$ -talasemií, kteří jsou závislí na transfuzích, a anemických MDS pacientů s prstenčitými sideroblasty, u kterých selhala léčba preparáty stimulujícími erytropoézu a zůstali závislí na transfuzích. Zatím jediná klinická studie (NCT01464164), jež měla za cíl zhodnotit bezpečnost a účinnost sotaterceptu u dospělých pacientů s DBA závislých na transfuzích, byla předčasně ukončena v souvislosti s pandemií COVID-19.

Rozsáhlý screening bioaktivních chemikálií k identifikaci látek schopných zvrátit endoteliální a morfologické defekty u rybiho modelu DBA odhalil potenciál inhibitorů kalmodulinu. Jedním z těchto účinných inhibitorů byl i trifluoperazin, léčivo schválené FDA k léčbě schizofrenie. Příznivé účinky trifluoperazinu byly potvrzeny i na savčích modelech DBA a bylo zjištěno, že mechanismus účinku zahrnuje snížení aktivity p53 [61,62]. Podobně jako v případě sotraterceptu byla klinická studie užití trifluoperazinu u DBA (NCT03966053) předčasně ukončena v souvislosti s pandemií COVID-19. Přehled potenciálních léčiv nově testovaných u různých vrozených ribozomopatií [63] je uveden v tab. 2.

### Genová terapie

Genovou terapii je možné volně definovat jako zavedení genetického materiálu do buněk pacienta za léčebným účelem. Typicky se do cílových buněk pomocí vektoru dodává funkční verze požadovaného genu, aby se překonal jejich vnitřní genetický defekt. Vzhledem k tomu, že charakteristickým a výrazným klinickým rysem řady ribozomopatií je právě selhání kostní dřeně, jeví se tato skupina onemocnění jako dobrý cíl pro využití *ex vivo* genetické úpravy HSC. Oproti klasické alogenní transplantaci by odpadly komplikace spojené s hledáním vhodného dárce a následným předtransplantačním přípravným režimem. Na druhou stranu genová terapie vyžaduje u pacientů znalost mutovaného genu. To zcela znemožňuje léčbu poměrně velkého množství pacientů, u nichž je genetická příčina onemocnění neobjasněna. Účinnost a proveditelnost genové terapie u DBA byla hodnocena v několika studiích a její terapeutický potenciál byl rovněž ověřen *in vivo* na DBA myším modelu [64–68].

Nástup technologií pro cílenou úpravu genomu, zastoupený především největším nástrojem CRISPR/Cas9, odstartoval revoluci v oblasti genové terapie, jelikož umožňuje dosažení terapeutického účinku přímou korekcí kauzálních mu-

tačí. Oproti klasickému způsobu genové terapie se tak vyhýbá riziku inzerční mutagenese, a navíc si opravený gen zachovává pozici v rámci genomu, což přispívá k zajištění přirozené regulace jeho exprese. Několik výzkumných skupin již úspěšně aplikovalo technologii CRISPR/Cas9 ke korekci mutací, jež jsou příčinou jiných hematologických chorob. Např. Škvarová et al. [69] dokázali opravit a obnovit funkci mutovaného genu *FANCD1 (BRCA2)* v primárních fibroblastech získaných od pacientů s Fanconiho anémií (FA).

### ZÁVĚR

Intenzivní výzkum posledních let odhalil komplexnost molekulární podstaty ribozomopatií a umožnil ozřejmit její dílčí aspekty. Definování mechanismů, které se podílejí na patogenezi ribozomopatií, ústí i do vývoje a testování nových léčiv a je známkou významného vědeckého pokroku v boji proti této heterogenní skupině onemocnění.

### SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

- AML** – akutní myeloidní leukemie
- ADA2** – adenosindeamináza 2
- CHH** – syndrom hypoplastických chrupavek a vlasů
- DBA** – Diamondova-Blackfanova anémie
- DC** – Dyskeratosis congenita
- EMA** – Evropská léková agentura
- EPO** – erythropoetin
- FA** – Fanconiho anémie
- FDA** – americký Úřad pro kontrolu potravin a léčiv
- G-CSF** – faktor stimulující kolonie granulocytů
- GH** – růstový hormon
- HSC** – hematopoetická kmenová buňka
- HSP70** – *heat shock protein 70*
- Mdm2** – *mouse double minute 2*
- MDS** – myelodysplastické neoplázie
- mRNA** – messengerová RNA
- pre-rRNA** – pre-ribozomální RNA
- ROS** – reaktivní formy kyslíku
- RP/RPs** – ribozomální protein(y)
- rRNA** – ribozomální RNA
- SBDS** – *Shwachman-Bodian-Diamond syndrome*
- SDS** – Shwachmanův-Diamondův syndrom
- TCS** – Treacherův-Collinsův syndrom
- TGF-β** – transformující růstový faktor β
- tRNA** – transferová RNA

### Literatura

1. Draptchinskaja N, Gustavsson P, Andersson B, et al. The gene encoding ribosomal protein

S19 is mutated in Diamond-Blackfan anaemia. *Nat Genet.* 1999;21(2):169–175.

2. Kampen KR, Sulima SO, Verecke S, De Keersmaecker K. Hallmarks of ribosomopathies. *Nucleic Acids Res.* 2020;48(3):1013–1028.

3. Narla A, Ebert BL. Ribosomopathies: human disorders of ribosome dysfunction. *Blood.* 2010;115(16):3196–3205.

4. Vlachos A, Rosenberg PS, Atsidaftos E, Alter BP, Lipton JM. Incidence of neoplasia in Diamond Blackfan anemia: a report from the Diamond Blackfan Anemia Registry. *Blood.* 2012;119(16):3815–3819.

5. Vlachos A, Muir E. How I treat Diamond-Blackfan anemia. *Blood.* 2010;116(19):3715–3723.

6. Sankaran VG, Ghazvinian R, Do R, et al. Exome sequencing identifies GATA1 mutations resulting in Diamond-Blackfan anemia. *J Clin Invest.* 2012;122(7):2439–2443.

7. Ludwig LS, Gazda HT, Eng JC, et al. Altered translation of GATA1 in Diamond-Blackfan anemia. *Nat Med.* 2014;20(7):748–753.

8. Gripp KW, Curry C, Olney AH, et al. Diamond-Blackfan anemia with mandibulofacial dysostosis is heterogeneous, including the novel DBA genes *TSR2* and *RPS28*. *Am J Med Genet A.* 2014;164A(9):2240–2249.

9. Lee PY. Vasculopathy, immunodeficiency, and bone marrow failure: the intriguing syndrome caused by deficiency of adenosine deaminase 2. *Front Pediatr.* 2018;6:282.

10. Kim AR, Ulirsch JC, Wilmes S, et al. Functional selectivity in cytokine signaling revealed through a pathogenic EPO mutation. *Cell.* 2017;168(6):1053–1064.e15.

11. Da Costa L, Leblanc T, Mohandas N. Diamond-Blackfan anemia. *Blood.* 2020;136(11):1262–1273.

12. AlSabbagh MM. Dyskeratosis congenita: a literature review. *J Dtsch Dermatol Ges.* 2020;18(9):943–967.

13. Savage SA, Niewisch MR. Dyskeratosis congenita and related telomere biology disorders. *GeneReviews*® [Internet] 2009 [updated 2022].

14. Venturi G, Montanaro L. How altered ribosome production can cause or contribute to human disease: the spectrum of ribosomopathies. *Cells.* 2020;9(10):2300.

15. Garus A, Autexier C. Dyskerin: an essential pseudouridine synthase with multifaceted roles in ribosome biogenesis, splicing, and telomere maintenance. *RNA.* 2021;27(12):1441–1458.

16. Burroughs L, Woolfrey A, Shimamura A. Shwachman-Diamond syndrome: a review of the clinical presentation, molecular pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2009;23(2):233–248.

17. Dale DC, Bolyard AA, Shannon JA, et al. Outcomes for patients with severe chronic neutropenia treated with granulocyte colony-stimulating factor. *Blood Adv.* 2022;6(13):3861–3869.

18. Boocock GR, Morrison JA, Popovic M, et al. Mutations in SBDS are associated with Shwachman-Diamond syndrome. *Nat Genet.* 2003;33(1):97–101.

19. Nelson A, Myers K. Shwachman-Diamond Syndrome. GeneReviews [Internet] 2008 [updated 2018].
20. Sulisalo T, Francomano CA, Sistonen P, et al. High-resolution genetic mapping of the cartilage-hair hypoplasia (CHH) gene in Amish and Finnish families. *Genomics*. 1994;20(3):347–353.
21. Riley P Jr, Weiner DS, Leighley B, et al. Cartilage hair hypoplasia: characteristics and orthopaedic manifestations. *J Child Orthop*. 2015;9(2):145–152.
22. Ridanpää M, van Eenennaam H, Pelin K, et al. Mutations in the RNA component of RNase MRP cause a pleiotropic human disease, cartilage-hair hypoplasia. *Cell*. 2001;104(2):195–203.
23. Thiel CT, Mortier G, Kaitila I, Reis A, Rauch A. Type and level of RMRP functional impairment predicts phenotype in the cartilage hair hypoplasia-anauxetic dysplasia spectrum. *Am J Hum Genet*. 2007;81(3):519–529.
24. Dauwerse JG, Dixon J, Seland S, et al. Mutations in genes encoding subunits of RNA polymerases I and III cause Treacher Collins syndrome. *Nat Genet*. 2011;43(1):20–22.
25. Ajore R, Raiser D, McConkey M, et al. Deletion of ribosomal protein genes is a common vulnerability in human cancer, especially in concert with TP53 mutations. *EMBO Mol Med*. 2017;9(4):498–507.
26. Amsterdam A, Sadler KC, Lai K, et al. Many ribosomal protein genes are cancer genes in zebrafish. *PLoS Biol*. 2004;2(5):E139.
27. Khoury JD, Solary E, Abla O, et al. The 5th edition of the World Health Organization classification of haematolymphoid tumours: myeloid and histiocytic/dendritic neoplasms. *Leukemia*. 2022;36(7):1703–1719.
28. Scharenberg C, Gai V, Pellagatti A, et al. Progression in patients with low- and intermediate-1-risk del(5q) myelodysplastic syndromes is predicted by a limited subset of mutations. *Haematologica*. 2017;102(3):498–508.
29. Yang K, Yang J, Yi J. Nucleolar Stress: hallmarks, sensing mechanism and diseases. *Cell Stress*. 2018;2(6):125–140.
30. Michael D, Oren M. The p53-Mdm2 module and the ubiquitin system. *Semin Cancer Biol*. 2003;13(1):49–58.
31. Donati G, Peddigari S, Mercer CA, Thomas G. 5S ribosomal RNA is an essential component of a nascent ribosomal precursor complex that regulates the Hdm2-p53 checkpoint. *Cell Rep*. 2013;4(1):87–98.
32. Sloan KE, Bohnsack MT, Watkins NJ. The 5S RNP couples p53 homeostasis to ribosome biogenesis and nucleolar stress. *Cell Rep*. 2013;5(1):237–247.
33. Farley-Barnes KJ, Ogawa LM, Baserga SJ. Ribosomopathies: old concepts, new controversies. *Trends Genet*. 2019;35(10):754–767.
34. Khajuria RK, Munschauer M, Ulirsch JC, et al. Ribosome levels selectively regulate translation and lineage commitment in human hematopoiesis. *Cell*. 2018;173(1):90–103.e19.
35. Trainor CD, Mas C, Archambault P, Di Lello P, Omichinski JG. GATA-1 associates with and inhibits p53. *Blood*. 2009;114(1):165–173.
36. Gastou M, Rio S, Dussiot M, et al. The severe phenotype of Diamond-Blackfan anemia is modulated by heat shock protein 70. *Blood Adv*. 2017;1(22):1959–1976.
37. Horos R, Ijspeert H, Pospisilova D, et al. Ribosomal deficiencies in Diamond-Blackfan anemia impair translation of transcripts essential for differentiation of murine and human erythroblasts. *Blood*. 2012;119(1):262–272.
38. Ambekar C, Das B, Yeger H, Dror Y. SBDS-deficiency results in deregulation of reactive oxygen species leading to increased cell death and decreased cell growth. *Pediatr Blood Cancer*. 2010;55(6):1138–1144.
39. Kapralova K, Jahoda O, Koralkova P, et al. Oxidative DNA damage, inflammatory signature, and altered erythrocytes properties in Diamond-Blackfan anemia. *Int J Mol Sci*. 2020;21(24):9652.
40. Sulima SO, Kampen KR, Vereecke S, et al. Ribosomal lesions promote oncogenic mutagenesis. *Cancer Res*. 2019;79(2):320–327.
41. Pereboeva L, Westin E, Patel T, et al. DNA damage responses and oxidative stress in dyskeratosis congenita. *PLoS One*. 2013;8(10):e76473.
42. Rio S, Gastou M, Karboul N, et al. Regulation of globin-heme balance in Diamond-Blackfan anemia by HSP70/GATA1. *Blood*. 2019;133(12):1358–1370.
43. Zambetti NA, Ping Z, Chen S, et al. Mesenchymal inflammation drives genotoxic stress in hematopoietic stem cells and predicts disease evolution in human pre-leukemia. *Cell Stem Cell*. 2016;19(5):613–627.
44. Kampen KR, Sulima SO, Verbelen B, et al. The ribosomal RPL10 R98S mutation drives IRES-dependent BCL-2 translation in T-ALL. *Leukemia*. 2019;33(2):319–332.
45. Girardi T, Vereecke S, Sulima SO, et al. The T-cell leukemia-associated ribosomal RPL10 R98S mutation enhances JAK-STAT signaling. *Leukemia*. 2018;32(3):809–819.
46. Oršolić I, Bursać S, Jurada D, et al. Cancer-associated mutations in the ribosomal protein L5 gene dysregulate the HDM2/p53-mediated ribosome biogenesis checkpoint. *Oncogene*. 2020;39(17):3443–3457.
47. Liao JM, Zhou X, Gatignol A, Lu H. Ribosomal proteins L5 and L11 co-operatively inactivate c-Myc via RNA-induced silencing complex. *Oncogene*. 2014;33(41):4916–4923.
48. Zhou X, Hao Q, Liao JM, Liao P, Lu H. Ribosomal protein S14 negatively regulates c-Myc activity. *J Biol Chem*. 2013;288(30):21793–21801.
49. Dameshek W. Riddle: what do aplastic anemia, paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH) and „hypoplastic“ leukemia have in common? *Blood*. 1967;30(2):251–254.
50. Xia J, Miller CA, Baty J, et al. Somatic mutations and clonal hematopoiesis in congenital neutropenia. *Blood*. 2018;131(4):408–416.
51. Pospíšilová D. Vzácné anémie ze skupiny vrozených syndromů selhání kostní dřeně. *Vnitř Lek*. 2018;64(5):488–500.
52. Vlachos A, Ball S, Dahl N, et al. Diagnosing and treating Diamond Blackfan anaemia: results of an international clinical consensus conference. *Br J Haematol*. 2008;142(6):859–876.
53. Kimball SR, Jefferson LS. New functions for amino acids: effects on gene transcription and translation. *Am J Clin Nutr*. 2006;83(2):500S–507S.
54. Pospisilova D, Cmejlova J, Hak J, Adam T, Cmejla R. Successful treatment of a Diamond-Blackfan anemia patient with amino acid leucine. *Haematologica*. 2007;92(5):e66–e67.
55. Vlachos A, Atsidaftos E, Lababidi ML, et al. L-leucine improves anemia and growth in patients with transfusion-dependent Diamond-Blackfan anemia: Results from a multicenter pilot phase I/II study from the Diamond-Blackfan Anemia Registry. *Pediatr Blood Cancer*. 2020;67(12):e28748.
56. Joyce CE, Saadatpour A, Ruiz-Gutierrez M, et al. TGFβ signaling underlies hematopoietic dysfunction and bone marrow failure in Shwachman-Diamond Syndrome. *J Clin Invest*. 2019;129(9):3821–3826.
57. Ge J, Apicella M, Mills JA, et al. Dysregulation of the transforming growth factor β pathway in induced pluripotent stem cells generated from patients with Diamond Blackfan anemia. *PLoS One*. 2015;10(8):e0134878.
58. Brancaloni V, Nava I, Delbini P, Duca L, Motta I. Activin receptor-ligand trap for the treatment of β-thalassemia: a serendipitous discovery. *Mediter J Hematol Infect Dis*. 2020;12(1):e2020075.
59. Ear J, Huang H, Wilson T, et al. RAP-011 improves erythropoiesis in zebrafish model of Diamond-Blackfan anemia through antagonizing lefty1. *Blood*. 2015;126(7):880–890.
60. Bewersdorf JP, Zeidan AM. Transforming growth factor (TGF)-β pathway as a therapeutic target in lower risk myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2019;33(6):1303–1312.
61. Taylor AM, Macari ER, Chan IT, et al. Calmodulin inhibitors improve erythropoiesis in Diamond-Blackfan anemia. *Sci Transl Med*. 2020;12(566):eabb5831.
62. Macari ER, Taylor AM, Raiser D, et al. Calmodulin inhibition rescues DBA models with ribosomal protein deficiency through reduction of RSK signaling. *Blood*. 2012;120:2214–2224.
63. Orgebin E, Lamoureux F, Isidor B, et al. Ribosomopathies: new therapeutic perspectives. *Cells*. 2020;9(9):2080.
64. Hamaguchi I, Ooka A, Brun A, Richter J, Dahl N, Karlsson S. Gene transfer improves erythroid development in ribosomal protein S19-deficient Diamond-Blackfan anemia. *Blood*. 2002;100(8):2724–2731.
65. Aspesi A, Monteleone V, Betti M, et al. Lymphoblastoid cell lines from Diamond Blackfan

anaemia patients exhibit a full ribosomal stress phenotype that is rescued by gene therapy. *Sci Rep.* 2017;7(1):12010.

66. Liu Y, Dahl M, Debnath S, et al. Successful gene therapy of Diamond-Blackfan anemia in a mouse model and human CD34+ cord blood hematopoietic stem cells using a clinically applicable lentiviral vector. *Haematologica.* 2022;107(2):446–456.

67. Jaako P, Debnath S, Olsson K, et al. Gene therapy cures the anemia and lethal bone marrow failure in a mouse model of RPS19-deficient Diamond-Blackfan anemia. *Haematologica.* 2014;99(12):1792–1798.

68. Debnath S, Jaako P, Siva K, et al. Lentiviral vectors with cellular promoters correct anemia and lethal bone marrow failure in a mouse model for Diamond-Blackfan anemia. *Mol Ther.* 2017;25(8):1805–1814.

69. Skvarova Kramarzova K, Osborn MJ, Webber BR, et al. CRISPR/Cas9-mediated correction of the FANCD1 gene in primary patient cells. *Int J Mol Sci.* 2017;18(6):1269.

#### PODÍL AUTORŮ NA PŘÍPRAVĚ RUKOPISU

OJ – příprava rukopisu a obrázkové dokumentace

SK – podíl na přípravě rukopisu

KHK, DP a MH – korekce a revize rukopisu

#### PODĚKOVÁNÍ

Práce vznikla za podpory Ministerstva školství mládeže a sportu České republiky (8F20005) a Interního grantu Univerzity Palackého (IGA\_LF\_2023\_002). Děkujeme Michalovi Lacekovi za cenné připomínky při přípravě rukopisu.

#### ČESTNÉ PROHLÁŠENÍ AUTORŮ

Autoři práce potvrzují, že v souvislosti s tématem, vznikem a publikováním tohoto článku nejsou ve střetu zájmu a vznik ani publikování článku nebylo podpořeno žádnou farmaceutickou firmou.

*Doručeno do redakce dne: 6. 12. 2022.*

*Přijato po recenzi dne: 1. 2. 2023.*

*doc. Mgr. Monika Horváthová, Ph.D.*

*Ústav biologie*

*Lékařská fakulta Univerzity Palackého*

*v Olomouci*

*Hněvotínská 3*

*775 15 Olomouc*

*e-mail: monika.horvathova@upol.cz*



NCONZO



ÚZIS



**Vážené dámy, vážení pánové,**  
dovolujeme si Vás pozvat na první národní konferenci

**„ZDRAV - EDU 2023“, která se bude konat  
23.–24. října 2023 v hotelu International v Brně**

Záštitu nad konferencí převzal **ministr zdravotnictví ČR  
prof. MUDr. Vlastimil Válek, CSc., MBA, EBIR.**

**[www.zdrav-edu.cz](http://www.zdrav-edu.cz)**

Cílem konference je představení možných směrů v oblasti vzdělávání zdravotnických pracovníků. Významná část sdělení bude věnována analýzám stavu vzdělávání ve zdravotnictví, personálním kapacitám ve zdravotnictví a strategiím ministerstva zdravotnictví v optimalizaci vzdělávání. Součástí programu budou tematické workshopy určené účastníkům konference. Protože je v Brně skvěle vybavené simulační centrum při LF MU, nabízíme účastníkům konference a zájemcům z řad studentů zdravotnických oborů exkurzi tohoto centra.

Věříme, že Vás program konference zaujme.

Těšíme se na Vaši účast a setkání s Vámi  
*programový výbor konference*

