

©Borgis

*Katarzyna Pawelec

Krótkie telomery czynnikiem prognostycznym w leczeniu nabytej anemii aplastycznej

Short telomeres as a prognostic factor in the treatment of acquired aplastic anemia

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Kierownik Katedry i Kliniki: prof. zw. dr hab. med. Michał Matysiak

Słowa kluczowe

anemia aplastyczna, telomery, leczenie immunosupresyjne

Key words

aplastic anemia, telomeres, immunosuppressive therapy

Streszczenie

W leczeniu ciężkiej postaci anemii aplastycznej (SAA) stosuje się transplantację komórek hematopoetycznych (HSCT) bądź leczenie immunosupresyjne. Wybór terapii uzależniony jest od dostępności zgodnego dawcy rodzinnego oraz wieku pacjenta. Wobec trudności w uzyskaniu remisji hematologicznej, a także możliwości nawrotu SAA oraz rozwoju chorób rozrostowych układu krwiotwórczego trwają poszukiwania czynników rokowniczych umożliwiających poprawę wyników leczenia. W opracowaniu tym przedstawiono rolę telomerów w patogenezie SAA oraz ich wpływ na wyniki leczenia. W ciągu ostatnich lat wielokrotnie zwracano uwagę na telomery w rozwoju niedokrwistości aplastycznej, zwłóknienia płuc, marskości wątroby czy też różnych chorób nowotworowych. Ich patogeneza związana jest między innymi z długością telomerów, a także mutacjami w genach telomerazy (*TERC/TERT*). U około 1/3 pacjentów z ciężką postacią anemii aplastycznej stwierdzono obecność krótszych telomerów. Ich wyjściowa długość nie wiąże się jednak z odpowiedzią hematologiczną na leczenie IST, natomiast jest skorelowana z występowaniem nawrotów hematologicznych oraz chorób klonalnych w grupie tych pacjentów, czego dowiodły liczne badania kliniczne i prace retrospektywne. Wobec powyższych, rozpoczęto poszukiwanie czynników mających wpływ na niestabilny genom komórek hematopoetycznych u pacjentów z ciężką postacią anemii aplastycznej i krótkimi telomerami bądź mutacjami genu telomerazy. Na podstawie wstępnych wyników badań zaobserwowano pozytywny wpływ męskich hormonów płciowych na proces wydłużania krótkich telomerów. Kolejne badania w tym zakresie mogą okazać się znaczące dla dalszego leczenia pacjentów z ciężką postacią anemii aplastycznej.

Summary

The treatment of severe aplastic anemia (SAA) involves hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and immunosuppressive therapy (IST). The choice of the method is dependent on the availability of the matched related donor and the age of the patient. In spite of the difficulties in achieving hematologic remission and the persistent risk of SAA recurrence or development of clonal diseases, the search of the prognostic factors that could improve outcomes is being carried out. This study presents the role of telomeres in the pathogenesis and the impact of their length on the results of treatment of patients with SAA. The role of the telomeres in the development of the diseases such as aplastic anemia, pulmonary fibrosis, cirrhosis or neoplasms has been recently taken into consideration. It's pathogenesis turned out to be connected with the telomeres length as well as with the telomerase genes mutations (*TERC/TERT*). The short TL have been detected in approximately one third of the patients with SAA. Many clinical studies and retrospective analyses proved that telomeres initial length was not connected with the hematologic response on the IST, however it was positively correlated with the hematological recurrences and the development of clonal diseases in the group of SAA patients. According to that findings, the search for the risk factors having influence on unstable genome of hematopoietic cells in patients with severe aplastic anemia and short telomeres or telomerase gene mutations, have been started. Based on the preliminary results, a positive influence of male hormones on the telomere lengthening have been found. Further studies in this filed might be extremely relevant for the future management of patients with severe aplastic anemia.

Adres/address:

*Katarzyna Pawelec
Katedra i Klinika Pediatrii
Hematologii i Onkologii
Warszawski Uniwersytet Medyczny
ul. Marszałkowska 24, 00-576 Warszawa
tel. +48 (22) 522-74-38
katpawelec@poczta.onet.pl

WPROWADZENIE

Około 40 lat temu rozpoznanie ciężkiej postaci niedokrwistości aplastycznej (ang. *severe aplastic anemia* – SAA) związane było z wysokim wskaźnikiem śmiertelności w ciągu 1-2 lat od postawienia diagnozy (1-7). Obecnie większość pacjentów z tą chorobą żyje dzięki zastosowaniu przeszczepu krwiotwórczych komórek macierzystych (ang. *hematopoietic stem cell transplantation* – HSCT) oraz leczenia immunosupresyjnego (ang. *immunosuppressive therapy* – IST) (8-12). Wybór leczenia zależy od wieku pacjentka oraz dostępności rodzinnego dawcy. W przypadku zgodnego dawcy rodzinnego u dzieci oraz młodych dorosłych do 40. roku życia stosuje się HSCT, podczas gdy IST przeprowadza się u osób powyżej 40 r.ż. i dzieci bez rodzinnego dawcy (4, 8-17). Długoterminowe wyniki obu terapii są podobne: około 60-75% remisji po HSCT i IST potwierdzonych w wielu badaniach w USA, Europie i Japonii (8-13, 17-20). Należy jednak pamiętać o powikłaniach związanych z terapią. Po HSCT głównym problemem jest choroba przeszczep przeciwko gospodarzowi (ang. *Graft-Versus-Host Disease* – GVHD), a po IST brak reakcji na leczenie, nawrót i możliwość transformacji w zespół mielodysplastyczny (ang. *myelodysplastic syndrome* – MDS) oraz choroby nowotworowe (w tym ostrą białaczkę szpikową – AML) (21-29). Niestety, mimo wielokrotnych analiz wyników leczenia IST w SAA nie ma jeszcze określonego czynnika rokowniczego, który kwalifikowałby pacjentów do odpowiedniej terapii w zależności od odpowiedzi na leczenie oraz późniejszych powikłań (30-36).

Brano pod uwagę wiele parametrów, między innymi: wstępną liczbę granulocytów obojętnochłonnych, retikulocytów, płytek krwi, obecność klonu nocnej napadowej hemoglobinurii (ang. *paroxysmal nocturnal hemoglobinuria* – PNH) czy wiek dziecka (14, 16, 17, 30-36). Żaden z tych czynników poza wiekiem nie wydaje się znacząco wpływać na dalsze losy pacjentów. W badaniu niemieckim wykazano, iż pacjenci młodszy odpowiadali lepiej na leczenie IST w porównaniu do osób starszych, jednak nadal trwają poszukiwania miarodajnego czynnika wpływającego na leczenie (14, 16, 17, 30-36).

Ponieważ SAA należy do tzw. chorób z krótkimi telomerami, zwrócono uwagę, czy długość telomerów może być czynnikiem prognostycznym leczenia tej choroby.

TELOMERY I TELOMERAZA

Telomery są to niekodujące się heterochromatynowe domeny zlokalizowane na obu końcach każdego chromosomu. Po raz pierwszy zastały one odkryte w 1938 roku przez Hansa Mullera (37, 38). Telomery zbudowane są z tandemowo powtórzonych sekwencji nukleotydowych, połączonych z szeregiem wyspecjalizowanych białek, które odpowiadają za stabilność i odpowiedni kształt. Kompleks ochronny telomerów tworzy wewnętrzne wiązania i formuje dwie pętle: D-loop i T-loop, dzięki czemu nie dochodzi do zniszczenia ani

niekontrolowanego łączenia się wolnych końców łańcuchów DNA. Zakończenia chromosomów u człowieka zbudowane są przez heksanukleotydowe odcinki bogate w cytozynę (koniec 5') lub guaninę (koniec 3'). Taka struktura telomerów zabezpiecza końce chromosomów przed degradacją i uszkodzeniami w czasie podziałów (37-40). Długość telomerów zależy zarówno od gatunku, osobnika, jak i organu, a nawet pojedynczego chromosomu. Każda komórka może dzielić się określoną ilość razy, tzw. limit Hayflicka, po tym wyznaczonym czasie dochodzi do zmian w ich morfologii oraz ekspresji genów (39, 40). Proces ten może być spowodowany przez wiele czynników, między innymi przez skracanie telomerów wynikający z tzw. problemu replikacji końca, w wyniku którego powstają wolne końce dające sygnał do apoptozy. Należy pamiętać, iż niektóre komórki posiadają enzym do naprawy telomerów – telomerazę (37, 38). Szczególnie wysoką aktywność telomerazy mają pluripotencjalne komórki macierzyste, komórki płciowe, keratynocyty skóry, limfocyty oraz komórki nowotworowe (37, 38, 41, 42). Telomeraza jest enzymem zbudowanym z kwasu dezoksyrybonukleinowego (ang. *deoxyribonucleic acid* – DNA) oraz białek. Składa się z katalitycznej podjednostki o aktywności odwrotnej transkryptazy TERT, matrycy RNA-TERC oraz stabilizującego strukturę białka dyskeryny. Aktywność telomerazy obniża się z wiekiem. Mutacje genu *TERC* i odwrotnej transkryptazy TERT powodują też zmniejszenie aktywności telomerazy, co skutkuje skróceniem telomerów i nie pozostaje bez wpływu na hematopoezę (37, 38, 42-44). Zaobserwowano, że osoby z takimi zaburzeniami mogą być zdrowe lub mieć niewielką pancytopenię, ale też wykazują predyspozycje takich chorób jak: wrodzona dyskeratoza (ang. *dyskeratosis congenita* – DKC), anemia aplastyczna czy też idiopatyczne włóknienie płuc. Schorzenia te są następstwem zbyt krótkich i dysfunkcyjnych telomerów (41-48).

TELOMERY A WZNOWA I CHOROBY KLONALNE PO IST U PACJENTÓW Z SAA

Nawroty oraz choroby klonalne wpływają na dalsze losy pacjentów z SAA po leczeniu IST (24, 28, 29, 31-33). Skrócone telomery obserwowane są u około 1/3 pacjentów z SAA, a około 15% pacjentów rozwija MDS lub AML.

Mutacje w zakresie genu *TERC* zidentyfikowano w 5-10% przypadkach SAA. Pacjenci ci nie wykazywali żadnych cech fenotypowych charakterystycznych dla wrodzonej niewydolności szpiku (41-43). U 1/3 tych chorych stwierdzono krótkie telomery, co początkowo wiązano ze stresem oksydacyjnym dotyczącym układu krwiotwórczego (44), a następnie z obecnością mutacji w genach kompleksu (*TERC, TERT*) i uznano za czynnik etiologiczny skracania telomerów (44, 48-50). W dużej retrospektywnej analizie prowadzonej przez National Institutes of Health (NIH), obejmującej 183 pacjentów z SAA leczonych protokołami IST opartymi o globulinę antytymocytną (ang. *anti-thymocyte globulin* – ATG)

analizowano wyniki leczenia w zależności od wstępnej długości telomerów (ang. *telomere length* – TL) we krwi obwodowej leukocytów (49). Zwrócono szczególną uwagę na zależność TL i odpowiedź hematologiczną w 6 miesiącu od rozpoczęcia leczenia, nawrót SAA, zaburzenia chromosomalne i dalsze następstwa (choroby lokalne i nowotworzenie). Nie stwierdzono związku pomiędzy wstępnym TL a odpowiedzią hematologiczną w 6 miesiącu. Jednak ryzyko nawrotu było zdecydowanie większe u pacjentów z krótkimi telomerami. Wyższy wskaźnik ewolucji klonalnych nieprawidłowości cyto-genetycznych zaobserwowano u chorych z krótszymi TL (25%, 95% CI: 9-38) w porównaniu do dłuższych TL (8%, 95% CI: 3-13; $p = 0,009$). Co więcej, wyższe ryzyko wystąpienia zaburzeń chromosomalnych, takich jak monosomia 7 i innych złożonych nieprawidłowości odnotowano również w grupie krótszych TL (19%, 95% CI: 4-32) w porównaniu do pacjentów z dłuższymi TL (5%, 95% CI: 0,5-8, $p = 0,002$). Całkowite przeżycie również różniło się w szóstym roku od rozpoczęcia IST w zależności od wyjściowej długości telomerów (66%, 95% CI: 53-83 vs 84%, 95% CI: 77-91, $p = 0,008$) (49). W całej grupie badanej 183 chorych z SAA, genetycznie uwarunkowaną mutacją *TERC/TERT* stwierdzono tylko u jednego pacjenta (49). W naszym materiale klinicznym obejmującym dzieci z SAA leczonych IST ze względu na krótki okres obserwacji nie mogliśmy dokonać analizy powikłań późnych (nawrót, rozwój MDS lub AML) (50, 51). Jednak w porównaniu z grupą kontrolną pacjenci z SAA mieli znamienne statystycznie krótsze telomery. Na podstawie przeprowadzonych wstępnych badań stwierdziliśmy, iż odpowiedź późna, tzn. powyżej 112. dnia od rozpoczęcia leczenia, była związana z krótszymi telomerami, $p < 0,05$ (50, 51).

W badaniach *in vitro* na hodowlach tkankowych komórek szpiku pobranych od zdrowych członków rodzin osób chorych z SAA wykazano zdecydowanie większy odsetek komórek aneuploidalnych w stosunku do komórek szpiku kostnego pobranych od osób zdrowych w tych samych warunkach hodowli (52, 53). Obserwacje te potwierdzają pogląd, że krótkie telomery ograniczają i zaburzają proliferację prawidłowych hematopoetycznych komórek macierzystych, tym samym powodują niestabilność genetyczną nowopowstałych komórek (53, 54).

Na podstawie wstępnych badań na komórkach w hodowli *in vitro* zaobserwowano pozytywny wpływ męskich hormonów płciowych na proces skracania telomerów (wydłużenie telomerów w leukocytach krwi obwodowej oraz zwiększenie aktywności telomerazy ze zwiększoną ekspresją mRNA TERT) (55-59). Obecnie prowadzone są badania kliniczne (clinicaltrials.gov NCT01441037) dotyczące stosowania danazolu w leczeniu tzw. chorób krótkich telomerów (aplazji szpiku, zwłóknienia płuc, DCK). Celem tego badania jest określenie, czy terapia androgenowa może wpłynąć na długość telomerów pacjentów poddanych takiemu leczeniu.

PODSUMOWANIE

Podsumowując, badanie długości telomerów i mutacji w genach kompleksu (*TERC*, *TERT*) w chorobach tzw. krótkich telomerów, w tym aplazji szpiku, powinno już być badaniem standardowym, wykonywanym u wszystkich pacjentów. Mimo iż w protokołach leczniczych nie są one wymienione jako czynniki rokownicze, wydaje się to kwestią czasu. Konieczne jest także przeprowadzenie jeszcze kilku badań klinicznych mających na celu opracowanie odpowiedniego postępowania.

PIŚMIENNICTWO

- Young NS, Barrett AJ: The treatment of severe acquired aplastic anaemia. *Blood* 1995; 85: 3367-3377.
- Young NS, Calado RT, Scheinberg P: Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anaemia. *Blood* 2006; 108: 2509-2519.
- Scheinberg P, Young NS: How I treat acquired aplastic anaemia. *Blood* 2012; 120: 1185-1196.
- Scheinberg P: Aplastic anaemia: therapeutic updates in immunosuppression and transplantation. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr* 2012; 2012: 292-300.
- Marsh JCW: Hematopoietic growth factors in the pathogenesis and for the treatment of aplastic anaemia. *Sem Hematol* 2000; 37: 81-90.
- Pawelec K, Rokicka-Milewska R: Nabyta niedokrwistość aplastyczna. *Standardy Med* 2002; 5: 303-307.
- Pawelec K, Jackowska T, Matysiak M: Nabyta niedokrwistość aplastyczna u dzieci. *Klin Pediatr* 2005; 13: 322-326.
- Bacigalupo A, Bruno B, Saracco P et al.: Antilymphocyte globulin, cyclosporine, prednisolone, and granulocyte colony-stimulating factor for severe aplastic anaemia: an update of the GITMO/EBMT study on 100 patients. *European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT) Working Party on Severe Aplastic Anemia and the Gruppo Italiano Trapianti di Midollo Osseo (GITMO)*. *Blood* 2000; 95: 1931-1934.
- Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B et al.: Horse versus rabbit antithymocyte globulin in acquired aplastic anaemia. *N Engl J Med* 2011; 365: 430-438.
- Scheinberg P, Nunez O, Weinstein B et al.: Activity of alemtuzumab monotherapy in treatment-naive, relapsed, and refractory severe acquired aplastic anaemia. *Blood* 2012; 119: 345-354.
- Tichelli A, Passweg J, Nissen C et al.: Repeated treatment with horse antilymphocyte globulin for severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 1998; 100: 393-400.
- Scheinberg P, Nunez O, Young NS: Retreatment with rabbit antithymocyte globulin and ciclosporin for patients with relapsed or refractory severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2006; 133: 622-627.
- Gluckman E, Devergie A, Poros A et al.: Results of immunosuppression in 170 cases of severe aplastic anaemia Report of the European Group of Bone Marrow Transplant (EGBMT). *Br J Haematol* 1982; 51: 541-550.
- Chang MH, Kim KH, Kim HS et al.: Predictors of response to immunosuppressive therapy with antithymocyte globulin and cyclosporine and prognostic factors for survival in patients with severe aplastic anaemia. *Eur J Haematol* 2010; 84: 154-159.
- Afable MG, Shaik M, Sugimoto Y et al.: Efficacy of rabbit antithymocyte globulin in severe aplastic anaemia. *Haematologica* 2011; 96: 1269-1275.
- Yoshida N, Yagasaki H, Hama A et al.: Predicting response to immunosuppressive therapy in childhood aplastic anaemia. *Haematologica* 2011; 96: 771-774.
- Führer M, Rampf U, Baumann I et al.: Immunosuppressive therapy for aplastic anaemia in children: a more severe disease predicts better survival. *Blood* 2005; 106: 2102-2104.
- Kojima S, Hibi S, Kosaka Y et al.: Immunosuppressive therapy using antithymocyte globulin, cyclosporine, and danazol with or without human granulocyte colony-stimulating factor in children with acquired aplastic anaemia. *Blood* 2000; 96: 2049-2054.
- Pawelec K, Rokicka-Milewska R, Niewiadomska E et al.: Results of immunosuppressive treatment in children with acquired severe aplastic anaemia (SAA). 7th Annual Meeting of the European Haematology Association, Florence, June 6-9 2002, free papers, International Proceedings Division 2002; 49-53.

20. Pawelec K, Matysiak M, Niewiadomska E et al.: Efekty leczenia immunosupresyjnego ciężkiej postaci anemii aplastycznej u dzieci. Raport Polskiej Pediatrycznej Grupy ds. Leczenia Białaczek i Chłoniaków. *Med Wieku Rozw* 2006; 10, 832-839.
21. Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A et al.: Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). *Haematologica* 2007; 92: 11-18.
22. MacMillan ML, Walters MC, Glucman E: Transplant outcomes in bone marrow failure syndromes and hemoglobinopathies. *Sem Hematol* 2010; 47: 37-45.
23. Chan KW, McDonald L, Lim D et al.: Unrelated cord blood transplantation in children with idiopathic severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant* 2008; 14: 1057-1063.
24. Socié G, Rosenfeld S, Frickhofen N et al.: Late clonal diseases of treated aplastic anaemia. *Semin Hematol* 2000; 37(1): 91-101.
25. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS: Long-term outcome of pediatric patients with severe aplastic anemia treated with antithymocyte globulin and cyclosporine. *J Pediatr* 2008; 153: 814-819.
26. Gluckman E, Rokicka-Milewska R, Hann I et al.: Results and follow-up of phase III randomized study of recombinant human-granulocyte stimulating factor as support for immunosuppressive therapy in patients with severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2002; 119: 1075-1082.
27. Locasciulli A, Arcese W, Locatelli F et al.: Treatment of aplastic anaemia with granulocyte-colony stimulating factor and risk of malignancy. *Lancet* 2001; 357: 43-44.
28. Kojima S, Ohara A, Tsuchida M et al.: Risk factors for evolution of acquired aplastic anemia into myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia after immunosuppressive therapy in children. *Blood* 2002; 100: 786-790.
29. Socie G, Mary JY, Schrezenmeier H et al.: Granulocyte-stimulating factor and severe aplastic anaemia: a survey by the European Group for Blood and Marrow transplantation (EBMT). *Blood* 2007; 109: 2794-2796.
30. Scheinberg P, Wu CO, Nunez O, Young NS: Predicting response to immunosuppressive therapy and survival in severe aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2009; 144: 206-216.
31. Yoshida N, Yagasaki H, Takahashi Y et al.: Clinical impact of HLA-DR15, a minor population of paroxysmal nocturnal haemoglobinuria-type cells, and an aplastic anaemia-associated autoantibody in children with acquired aplastic anaemia. *Br J Haematol* 2008; 142: 427-435.
32. Pawelec K, Matysiak M, Salamonowicz W et al.: A retrospective evolution of the effects of SAA treatment in children with hATG and rATG. *Blood (ASH Annual Meeting Abstract)* 2011; 118: 4375.
33. Salamonowicz M, Pawelec K, Matysiak M et al.: Results of Treatment of Severe Aplastic Anaemia in Children Using Rabbit Antithymocyte Globulin (r-ATG). *Blood*; 118(21): 3435.
34. Olnes MJ, Scheinberg P, Calvo KR et al.: Eltrombopag and improved hematopoiesis in refractory aplastic anemia. *N Engl J Med* 2012; 367: 11-19.
35. Valdez JM, Scheinberg P, Nunez O et al.: Decreased infection-related mortality and improved survival in severe aplastic anemia in the past two decades. *Clin Infect Dis* 2011; 52: 726-735.
36. Scheinberg P: Prognostic value of telomere attrition in patients with aplastic anemia. *Int J Hematol* 2013; 97: 553-557.
37. Oeseburg H, de Boer R, van Gilst WH, van der Harst P: Telomere biology in healthy aging and disease. *Pflugers Arch* 2010; 459(2): 259-268.
38. Xin H, Liu D, Songyang Z: The telosome/shelterin complex and its functions. *Genome Biol* 2008; 9(9): 232.
39. Donat LE, Blasco MA: Telomeres in cancer and ageing. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2011; 366(1561): 76-84.
40. O'Sullivan RJ, Karlseder J: Telomeres: protecting chromosomes against genome instability. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2010; 11(3): 171-181.
41. Young NS: Bone marrow failure and the new telomere diseases: practice and research. *Hematology* 2012 Apr; 17 (suppl. 1): S18-21.
42. Calado RT: Telomeres and marrow failure. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2009; 338-343.
43. Calado RT, Young NS: Telomere maintenance and human bone marrow failure. *Blood* 2008; 111: 4446-4455.
44. Calado RT, Young NS: Telomere diseases. *N Engl J Med* 2009; 361: 2353-2365.
45. Ball SE, Gibson FM, Rizzo S et al.: Progressive telomere shortening in aplastic anemia. *Blood* 1998; 91: 3582-3592.
46. Brummendorf TH, Maciejewski JP, Mak J et al.: Telomere length in leukocyte subpopulations of patients with aplastic anemia. *Blood* 2001; 97: 895-900.
47. Fogarty PF, Yamaguchi H, Wiestner A et al.: Late presentation of dyskeratosis congenita as apparently acquired aplastic anaemia due to mutations in telomerase RNA. *Lancet* 2003; 362: 1628-1630.
48. 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: 1413-1424.
49. Scheinberg P, Cooper JN, Sloand EM et al.: Association of telomere length of peripheral blood leukocytes with hematopoietic relapse, malignant transformation, and survival in severe aplastic anemia. *JAMA* 2010; 304: 1358-1364.
50. Pawelec K, Matysiak M, Janiak M: Increased telomere length is a negative predicting factor for IST in children with SAA. *Blood (ASH Annual Meeting Abstract)* 2011; 118: 4381.
51. Pawelec K, Janiak M, Matysiak M et al.: Association of Telomere Length of Peripheral Blood Leukocyte with Hematological Response of Immunosuppressive Therapy in Children with Severe Aplastic Anemia. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)* 2012 Nov; 120: 4403.
52. Hemann MT, Strong MA, Hao LY, Greider CW: The shortest telomere, not average telomere length, is critical for cell viability and chromosome stability. *Cell* 2001; 107: 67-77.
53. Baird DM, Rowson J, Wynford-Thomas D et al.: Extensive allelic variation and ultrashort telomeres in senescent human cells. *Nat Genet* 2003; 33: 203-207.
54. Dumitriu B, Ueda Y, Kajigaya S et al.: Very short telomeres of peripheral blood leukocytes precede clinical progression to myelodysplasia with monosomy 7 in aplastic anemia patients. *ASH Annu Meet Abstr* 2012; 120: 1265.
55. Gardner FH, Juneja HS: Androstane therapy to treat aplastic anaemia in adults: an uncontrolled pilot study. *Br J Haematol* 1987; 65: 295-300.
56. Calado RT, Yewdell WT, Wilkerson KL et al.: Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. *Blood* 2009; 114: 2236-2243.
57. Chen J, Desierto MJ, Dent JJ et al.: Androgen treatment mitigates hematopoietic cell telomere attrition *in vivo*. *ASH Annu Meet Abstr* 2012; 120: 516.
58. Ziegler P, Schrezenmeier H, Akkad J et al.: Telomere elongation and clinical response to androgen treatment in a patient with aplastic anemia and a heterozygous hTERT gene mutation. *Ann Hematol* 2012; 91: 1115-1120.
59. Townsley DM, Dumitriu B, Kajigaya S et al.: Clinical and genetic heterogeneity of telomere diseases. *ASH Annu Meet Abstr* 2012; 120: 2373.

otrzymano/received: 07.02.2014
zaakceptowano/accepted: 20.03.2014