

פאנלים גנטיים לאבחון של מחלות דם מולדות ונרכשות

תקציר

אבחנה גנטית של מחלות המטולוגיות מולדות עלולה להיות מורכבת, עקב חפיפה של ההסתמנות הקלינית והמעבדתית בין תסמונות שונות, ובשל העובדה שמחלות מסוימות יכולות להיגרם משינויים במספר רב של גנים. יחד עם זאת, אבחנה גנטית חיונית לקביעה של הטיפול והמעקב המתאים למטופל, וכן לאפשר אבחון של בני משפחה אי תסמיניים, בחירה של תורם להשתלת תאי אב המטופואיטיים ואבחון טרום לידתי. בשנים האחרונות פותחה שיטה של ריצוף מהדור הבא של פאנלים גנטיים. במעבדה שלנו, פאנלים גנטיים משמשים לאבחון של מחלות המטולוגיות שונות כולל כישלונות לשד עצם ואנמיות מולדות, וכן לזיהוי מוטציות נרכשות בלשד העצם. יש חשיבות גבוהה להצלחה בין התוצאות של הבירור הגנטי עם ההתבטאות הקלינית והמעבדתית והאנמיה המשפחתית, כדי להגיע לאבחנה מדויקת. במאמר זה מודגמת החשיבות של ביצוע בירור גנטי רחב ומהיר לחולים במחלות המטולוגיות מולדות.

אורנה שטיינברג-שמר^{1,2,3}אורלי דגני^{1,2,3}חנה תמרי^{1,2,3}

¹המערך להמטולוגיה-אונקולוגיה, מרכז שניידר לרפואת ילדים בישראל, פתח תקווה

²המעבדה להמטולוגיה מולקולרית, מרכז פלזמטיין למחקר רפואי, פתח תקווה

³הפקולטה לרפואה סאקלר, אוניברסיטת תל אביב, תל אביב

מילות מפתח: המטולוגיה ואונקולוגיה; מחלות המטולוגיות מולדות; כישלונות לשד עצם/מח עצם; אבחון גנטי; ריצוף מהדור הבא; פאנלים גנטיים.

Keywords: Hematology and oncology; Congenital hematological disorders; Bone marrow failure syndromes; Genetic diagnosis; Next generation sequencing; NGS genetic panels.

עוזר לעיתים קרובות להגיע לאבחנה במקרים בהם הבדיקות הקליניות ובדיקות המעבדה הראשוניות אינן חד משמעיות. אבחנה ברורה מובילה לקביעת תוכנית טיפול ומעקב. אם התסמונת מעלה את הסיכון להתפתחות של תסמונת מיאלודיפלטית או ליקמיה חדה, כמו אנמיה על שם פנקוני, דיסקרטוזיס קונגנטי ושינויים גנטיים הגורמים לתרומבוציטופניה ונטייה לממאירות המטולוגית (*RUNX1, ETV6, ANKRD26*), דרוש מעקב סדיר של ספירות הדם ולעיתים מומלצת בדיקה של לשד העצם פעם בשנה [30-6]. בנוסף, אבחון גנטי יכול לעזור באבחון של בני משפחה נוספים, שחלקם עשויים להיות אי תסמיניים, אך הם נזקקים למעקב ספציפי. אבחון גנטי מאפשר בנוסף למטופל ולמשפחתו ייעוץ גנטי ואפשרות לאבחון טרום-לידתי. לבסוף, כאשר המטופל זקוק להשתלה של תאי אב, יש לבדוק קרובי משפחה שמתאימים להשתלה ולוודא שאינם נושאים את השינוי הגנטי.

שיטות לאבחון גנטי

השיטה המקובלת לריצוף גנטי עד השנים האחרונות הייתה שיטת סנגר (Sanger). בשיטה זו מרצפים כל גן או חלק ממנו בנפרד [7]. היתרון של השיטה הוא הפשטות של הביצוע והפענוח. עם זאת, אם הבדיקות הקליניות

הקדמה

ידועות מספר רב של מחלות דם מולדות נדירות. התמונה הקלינית והמעבדתית בהרבה מקרים אינה ספציפית ויכולה להתאים למחלות מקבוצות שונות. בנוסף, יש מחלות הנגרמות על ידי מספר גדול מאוד של גנים. לדוגמה, מחלת אנמיה על שם פנקוני יכולה להיגרם על ידי יותר מ-20 גנים, ולרוב התמונה הקלינית לא יכולה להבדיל בין הגנוטיפים השונים. בנוסף, התמונה הקלינית יכולה להיות רב-גונית - לדוגמה ב־Diamond Blackfan anemia מאובחנים היום יותר ויותר מטופלים עם מחלה קלה יחסית שאינה עונה להגדרות הקלאסיות [1,2]. בעיה נוספת העומדת בפני ההמטולוג המבצע בירור למחלת דם נדירה היא הצטמצמות היכולת לבצע בדיקות תפקודיות. לדוגמה, בעבר ניתן היה לבדוק רמה של אנזימים של כדוריות הדם האדומות, אך בדיקה זאת אינה זמינה בישראל ובהרבה מקומות בעולם (למעט בדיקה לחסר של האנזים G6PD). לפיכך, אבחנה גנטית תסייע בקביעת אבחנה מדויקת ובמציאת השינוי הגורם להסתמנות הקלינית.

חשיבות האבחון הגנטי

לאבחון גנטי חשיבות רבה. ראשית, הבירור הגנטי

מבוצע מדנ"א המופק מדגימות מח עצם. ערך הסף שנקבע במעבדתנו לשינוי מולקולרי הוא 25% (תדירות האלל מתוך עותקים שרוצפו המכיל את השינוי הגנטי) עבור שינויים מורשים, כאשר לרוב הערך קרוב ל 50% כאשר השינוי דומיננטי וקרוב ל 100% כאשר השינוי הומוזיגוטי רצסיבי. בפאנל הסומטי ערך הסף נקבע על 5% (בכיסוי של מעל 500 קריאות) או על 10% (בכיסוי של מעל 200 קריאות). כל השינויים המולדים שנמצאים עוברים תיקוף, בריצוף בשיטת סנגר. לרוב נבדקים גם בני המשפחה כדי לבדוק התאמה בין ההסתמנות הקלינית לשינוי הגנטי. ממצאי הבדיקות הגנטיות נדונים בצוות משותף של אנשי המעבדה והרופאים, והתוצאות מוצגות עם ההסתמנות הקלינית, עם תוצאות הבדיקות של שאר בני המשפחה ועם בדיקות מעבדה נוספות, כמו שבירות כרומוזומים ואורך טלומרים.

פאנל כישלונות לשד עצם מולדים, נטייה לממאירות המטולוגית ותרומבוציטופניה

הפאנל כולל 266 גנים הידועים כקשורים למחלות המטולוגיות נדירות, כגון תסמונות כישלון לשד עצם מולדות קלאסיות (אנמיה על שם פנקוני, דיסקרטוזיס קונגניטה, Diamond-Blackfan anemia, שווכמנד-דיאמונד

■ **אבחנה גנטית חיונית לקביעת הטיפול והמעקב המתאים למטופל, וכן לאפשר אבחון של נשאים אי תסמיניים, בחירת תורם להשתלת תאי אב המטופואטיים ואבחון טרום לידתי.**

■ **פאנלים גנטיים הם כלי יעיל לאבחון מחלות דם נדירות מולדות.**

■ **פאנלים גנטיים סומטיים מאפשרים אבחון מוקדם של שינויים נרכשים בלשד העצם ("מח העצם").**

ונויטרופניה מולדת) וכן תסמונות כישלון לשד עצם שתוארו לאחרונה, לדוגמה כישלון לשד עצם הנגרם בשל מוטציות בגן *MYSM1* [12]. בנוסף, הפאנל כולל תסמונות שבהן נטייה לפתח ממאירויות המטולוגיות. לבסוף, הפאנל כולל תסמונות של תרומבוציטופניה מולדת ונטייה לדמם, מכיון שבהסתמנות קלינית של תרומבוציטופניה קשה לעיתים להבדיל בין תרומבוציטופניה מבודדת לבין תרומבוציטופניה המהווה סימן ראשון לכשלון מח עצם. הפאנל מכוון לזיהוי של שינויים מורשים בדנ"א.

להלן פרשת חולה המדגימה את החשיבות של אבחנה גנטית, במיוחד לפני הפניה להשתלת תאי אב. ילד ממוצא בדואי להורים קרובי משפחה התייצג עם ירידה בספירת הטסיות בגיל 9 חודשים. בגיל 3 שנים הופיעה מאקרודציטוזיס ושנה לאחר מכן התפתחה ירידה בכל שורות הדם (פנציטופניה). לשד העצם היה היפוצלולרי עם היעדר גהקרוציטים. לנוכח צריכה מוגברת של מוצרי דם, המטופל עבר השתלת תאי אב המטופואטיים

ובדיקות המעבדה יכולות להתאים לפגיעה במספר רב של גנים, הברור הופך למומשך ויקר. בהמשך פותחה שיטת ריצוף כלל אקסומית (Whole exome sequencing) המשתמשת בריצוף מהדור הבא (ext generation sequencing) [8]. בשיטה זו מרוצפים כל האזורים המקודדים בגנום. כדי להקל על עיבוד המידע המתקבל ושיפור עומק הריצוף, פותחה שיטה של ריצוף מהדור הבא הממוקד על ידי פאנלים של גנים. בשיטה זאת מרכיבים רשימה של גנים, הידועים כקשורים לקבוצה של מחלות, ואותם מרצפים. פאנלים גנטיים משמשים לאבחון של מגוון מחלות המטולוגיות [9-11].

יש מעבדות המבצעות ריצוף כלל אקסומי עם אנליזה מכוונת לרשימת גנים הקשורים להסתמנות הקלינית והמעבדתית. חסרון של שיטה זאת היא אובדן עומק ריצוף, לעומת ריצוף ממוקד מבוסס פאנל, חסרון זה בולט במיוחד בחיפוש מוטציות סומטיות. חסרון נוסף של שיטת ריצוף אקסומי הוא ריצוף של אזורים מקודדים בלבד לעומת פאנל גנטי שניתן לתכנן כך שיכלול אזורים לא מקודדים היכולים להיות מעורבים בהסתמנות הקלינית. בנוסף, לעיתים האנליזה מבוצעת במעבדה גנטית כללית שאינה מתמחה במחלות דם, ולא מבוצעת הצלבה מלאה עם ההסתמנות הקלינית ובדיקות מעבדה נוספות. היתרון העיקרי של ריצוף כלל אקסומי הוא האפשרות להשתמש במידע מהריצוף שבוצע לאנליזה רחבה, אם לא נמצא שינוי משמעותי באנליזה ממוקדת. לעומת זאת, כאשר פאנל גנטי לא נותן אבחנה, ואם התמונה הקלינית מחשידה מאוד למחלה מולדת, יש להתקדם לבדיקות גנטיות נוספות, כמו רצוף כלל אקסומי, ובהמשך לשיטות למציאת חסרים ועודפים גנומיים ולריצוף כלל גנומי.

סוגי הפאנלים במעבדה

במעבדה להמטולוגיה מולקולרית במרכז שניידר/מכון פלזנשטיין אנו מבצעים שלושה סוגים של פאנלים:

1. פאנל המאפשר ריצוף של גנים הקשורים בכשלונות מח עצם מולדים, נטייה לממאירות המטולוגיות ותרומבוציטופניה מולדת;
2. פאנל המאפשר ריצוף של גנים הגורמים לאנמיות נדירות וחסרים חיסוניים;
3. **פאנל הבדוק שינויים נרכשים במח העצם (טבלה 1).** ככל פאנל נכללים הגנים הידועים כקשורים לקבוצות המחלות הנבדקות באותו פאנל, כולל כל האזורים המקודדים (אקסונים), אזורי הבקרה ואזורי השחבור (עשרה בסיסים לתוך האינטרון). לעיתים הפאנל כולל גם אזורים שאינם מקודדים, אם ידוע שהם מעורבים בהסתמנות הקלינית. האזורים הרלוונטיים בגנום עוברים העשרה על ידי קישור לגלאים מסומנים בביוטיין. אזורים אלה עוברים שכפול ואז ריצוף מהדור הבא. פאנלים המכוונים לזיהוי שינויים מורשים מבוצעים על פי רוב מדנ"א שמופק מדגימות דם. הפאנל שמיועד לזיהוי שינויים נרכשים (סומטיים)

טבלה 1: השוואה בין סוגי הפאנלים השונים

| סוג הפאנל | כשלונות מח עצם מולדים | אנמיה וחסרים חיסוניים | סומטי |
|---------------------------------|--|--|----------------|
| הרקמה הנבדקת | דם פריפרי/ תאי עור | דם פריפרי | מח עצם |
| מספר הגנים | 266 | 274 | 54 |
| מספר עותקים מינימלי לשינוי גנטי | %25 | %25 | 10%-5% |
| מחלות שמאבחן | כשלונות מח עצם מולדים תרומבוציטופניה מולדת נטייה ל-ALL/AML/MDS | אנמיות מולדות חסרים חיסוניים ALPS HLH | שינויים נרכשים |

ALL – acute lymphocytic leukemia; ALPS – Autoimmune lymphoproliferative syndrome, AML – acute myeloid leukemia, HLH – hemophagocytic lymphohistiocytosis, MDS – myelodysplastic syndrome

טחול בגיל 26 שנים. לאחר הניתוח סבלה מאירועים חוזרים של פקקת בוורידים העמוקים ושל תסחיפים ריאתיים, והיא נפטרה בגיל 30 שנים מתסחיף ריאתי נרחב (מסיבי). בדיעבד, הפאנל הגנטי מצא שינוי בגן *PIEZO1* הגורם ל-Dehydrated Hereditary Stomatocytosis [15]. מחלה זו היא נדירה וקשה לאבחון, המסתמנת כאנמיה המוליטית לא ספציפית. בחלק מהמקרים ניתן לראות סטומטוציטים במשטח הדם הפריפרי אולם העדרם אינו שולל את האבחנה. במחלה זו, כריתת טחול לא רק שאינה משפרת את דרגת ההמוליזה, אלא גם אסורה לנוכח סיכון מוגבר לאירועים קרישתיים [16]. בסיכום של פאנל גנטי שבוצע במעבדתנו לחולים עם אנמיה המוליטית, ל-4 מתוך 13 החולים שהאבחנה הגנטית שלהם נקבעה על ידי הפאנל נמצאו מוטציות פתוגניות בגן *PIEZO1*, כאשר שניים מתוכם עברו כריתת טחול (כולל פרשת החולה המובאת במאמרנו) [15].

שנדחתה. לאחר השתלה שנייה השתל נקלט אך הילד נשאר פנציטופני עם לשד עצם היפוצלולרי, והוא נפטר מדימום מסיבי למערכת העיכול ולריאות. אחיו הצעיר פיתח תמונה דומה של תרומבוציטופניה מולדת ובהמשך פנציטופניה. ההורים סירבו להשתלת לשד עצם והוא קיבל טיפול ברומיפלסטים – שהביא לשיפור בכל שורות התאים. בבירור, רמות ה-*THPO* בנסיוב (סרום) היו בלתי נמדדות. בדיקת פאנל כשלונות לשד עצם הראתה מוטציה הומוזיגוטית בגן *THPO*. החלבון, שמיוצר באופן נורמלי בכבד, לא מתוקן בעקבות השתלת תאי אב המטופואיטים, ולכן השתלה אינה מהווה טיפול יעיל בחולים עם מוטציות בגן זה [13]. לפיכך, בכל מקרה של תרומבוציטופניה מולדת שהתפתחה לכישלון לשד עצם, יש תמיד לשלול מוטציה ב-*THPO*.

פאנל אנמיות מולדות, לימפואיטופניה, לימפואיטופניה אוטואימונית, לימפופרווליפרטיבית וחסרים חיסוניים

פאנל סומטי

פאנל זה, הכולל 54 גנים, שונה משני הקודמים בכך שהוא מכוון לזיהוי מוטציות נרכשות לכן, הוא מבוצע על דגימות דנ"א המופקות מלשד עצם. אף פאנל זה תוכנן לפי שינויים סומטיים שכיחים בילדים ואינו מסחרי. אם שינוי בגן מסוים יכול לגרום לתסמונת העוברת בתורשה וגם לשינוי נרכש, הוא עשוי להופיע בפאנל כישלונות לשד עצם וגם בפאנל הסומטי. בפאנל זה, הסף שנקבע לשינוי גנטי משמעותי הוא 5%-10%, מכיוון ששינויים נרכשים יכולים להופיע בשיעור קטן מהתאים. הפאנל כולל גנים שידועים כמעורבים בתהליך התמרה ממארת של לשד העצם. אנו משתמשים בפאנל זה לאבחון שינויים נרכשים בחולים עם ירידה ממושכת ובלתי מוסברת בספירות הדם, וכן כחלק מהמעקב השנתי אחרי חולים שלהם נטייה מולדת לממאירות המטולוגית. יתרה מכך, יש הרבה מקרים שבהם הפאנל הסומטי מבוצע במקביל לפאנל כישלונות לשד עצם, כדי לאבחן גם שינויים גנטיים מולדים הגורמים להסתמנות הקלינית וגם שינויים נרכשים הנגרמים בשל מחלת הרקע. לדוגמה, בחולה עם כישלון לשד עצם ושבירות כרומוזומים מוגברת, נבצע פאנל גנטי מדם היקפי לאבחון המוטציה שגורמת למחלה הבסיסית

הפאנל כולל 274 גנים הגורמים לתסמונות אנמיה כולל פגיעות בממברנה ובאנזימים של הכדוריות האדומות, אנמיות סידרובלסטיות, אנמיות דיסאריטרופואיטיות, אנמיות הקשורות לפגיעה בספיגה של ויטמין B12 ועוד סוגי אנמיה נדירים. בנוסף, הפאנל כולל גנים הקשורים לתצורה הגנטית של תסמונות המופוגוציטיק לימפואיטופניה ולימפואיטופניה אוטואימונית לימפופרווליפרטיבית. בנוסף נכללים בפאנל גנים הגורמים לחסרים חיסוניים ופוליצטמיות. הפאנל מכוון לזיהוי של שינויים מורשים בדנ"א. בסיכום שפרסמנו בשנת 2018, הפאנל הוביל לאבחנה גנטית ב-13 מתוך 21 חולים (62%) שהופנו לבירור חשד לאנמיה מולדת [15].

חשיבות הבירור הגנטי לאבחנה של חולים עם אנמיה המוליטית מודגמת במקרה של מטופלת, שהסתמנה בילדות עם אנמיה התלויה בעירווי דם. משטח הדם הדגים העצם היו סימנים של דיסאריטרופואיזיס ונורמובלסטטים מרובי גרעינים. האבחנה הקלינית הייתה של congenital dyserythropoiesis anemia, אשר בעטיה עברה כריתת

החשודים עוברים תקוף בריצוף סנגר על דגימות של החולה ובני משפחתו. אנליזה של חסרים ו/או תוספות של מקטעי דנ"א גדולים מתבצעת בשימוש בתוכנה השוואתית "Rainbow" - Genoox CNV Caller של חברת ג'נוקס (Genoox - Healthcare Technology, Tel Aviv, Israel).

לסיכום

בסקירה זו דנו בשאלה מדוע אבחנה מדויקת היא קריטית לקביעת תוכנית הטיפול המתאימה לטיפול, וכן מדוע קשה להגיע לאבחנה בהתבסס על נתונים קליניים ומעבדתיים בלבד. לשם כך, הבאנו גם פרשות חולים לדוגמה. לפיכך, יש חשיבות להכללה של בירור גנטי בתהליך האבחון של מטופלים, ובמיוחד לפני מתן טיפול בלתי הפיך או בסיכון גבה, כגון כריתת טחול או השתלת תאי אב המטופואיטיים. אבחנה גנטית מדויקת עשויה להוביל גם לאבחון של בני משפחה שאינם תסמיניים ולאפשר לטיפול ולמשפחתו אבחנה טרום לידתית. בנוסף, הדגמנו שפאנלים גנטיים מהווים כלי אבחנתי יעיל הן למחלות דם נדירות מולדות, והן להתפתחות שינויים נרכשים בלשד העצם. הפאנלים הגנטיים מאפשרים להגיע לאבחנה ברבים מהמטופלים. בחולים שבהם התמונה הקלינית מעלה חשד גבוה מאוד למחלה גנטית והפאנל שלילי, יש להתקדם לבדיקות גנטיות נוספות.

תודות: אנו מודים לד"ר מירי בן הרוש ולפרופ' מרטין אליס על הפניית החולים לאבחון.

מחברת מכותבת: אורנה שטיינברג שמר
מרכז שניידר לרפואת ילדים בישראל
קפ"ל 14, פתח תקווה
דוא"ל: Orna.steinberg@gmail.com

(אנמיה על שם פנקוני), וגם פאנל סומטי מדגימת לשד עצם לאבחון מוקדם של שינויים שבטיים (קלונליים). להלן פרשת חולה, הממחישה את החשיבות של ביצוע פאנלים סומטיים בחולים עם ירידה ממושכת בספירת הדם לזיהוי התפתחות של קלונים טרום-ממאירים. המטופל אובחן בגיל 7 עם מדולובלסטומה. הוא קיבל כימותרפיה משולבת, אך בהמשך הסתמנה הישנות מקומית, ובעקבות זאת הוא טופל בקרינה לראש ולצוואר ובטיפול אחזקה ממושך בטמזולמיד. לאחר הטיפול לא חלה התאוששות בספירת הדם שלו, והוא סבל במיוחד מירידה בספירת טסיות דם. לשד העצם היה היפוצולורי, אך ללא סימנים דיספלסטיים. בגיל 19 שנים עבר החולה לראשונה בדיקות פאנל סומטי, ונמצאו 4 מוטציות נרכשות: שתי מוטציות בגן *RUNXI* ואחת בכל אחד מהגנים *PTPN11* ו-*ASXL1*. נוכחות המוטציות הסומטיות מעידה על התמרה שבטית (קלונלית) של לשד העצם. בנוסף, מוטציות בגן *ASXL1* נחשבות כגורם פרוגנוסטי גרוע ב-MDS [17]. לנוכח זאת, המטופל הופנה להשתלת תאי אב והוא כעת בהפוגה (רמיסיה).

ריצוף ומשמעות התוצאות

ריצוף הפאנלים נעשה במכשיר Illumina Miseq, אורך הריצוף הוא 2X100 בסיסים. עומק הריצוף הממוצע הוא 150 קריאות בפאנלים המורשים 500 בפאנל הסומטי. רצפי הדנ"א ממופים ומשווים לרצפי יחוס של הגנום האנושי (GRCh37/UCSC hg19). האנליזה מבוצעת בתוכנת SureCall software (v.3.5.1.46; Agilent Technologies) שמסננת וריאנטים ידועים באוכלוסייה הבריאה (מתוך מאגרי מידע כללים ופנימיים) ווריאנטים שלא צפויים לגרום לפגיעה תפקודית (אזורים שאינם מקודדים ושינויים נרדפים שקטים ברצף, שאינם מחליפים חומצה אמינית (synonymous)). האנליזה של וריאנטים נקודתיים ושל חסרים ו/או תוספות קצרים, מתבצעת גם על פלטפורמה חיצונית - Emedgene AI-based genomic analysis & interpretation platform (Emedgene Technologies Ltd, Tel Aviv, Israel): שינויים גנטיים מדווחים על פי ההנחיות של ה-American College of Medical Genetics (ACMG), וכוללים שינויים פתוגנים, פתוגנים בסבירות רבה ושינויים עם משמעות שאינה ברורה. שינויים שנחשבים כבלתי מזיקים אינם מדווחים, על פי ההנחיות הנ"ל. השינויים

ביבליוגרפיה

1. *Steinberg-Shemer O, Keel S, Dgany O, et al. Diamond Blackfan Anemia: A Nonclassical Patient With Diagnosis Assisted by Genomic Analysis. J Pediatr Hematol Oncol.* 2016;38(7):e260-2.
2. *Tyagi A, Gupta A, Dutta A, et al. A Review of Diamond-Blackfan Anemia: Current Evidence on Involved Genes and Treatment Modalities. Cureus.* 2020;12(8):e10019.
3. *Baliakas P, Tesi B, Wartiovaara-Kautto U, et al. Nordic Guidelines for Germline Predisposition to Myeloid Neoplasms in*

- Adults: Recommendations for Genetic Diagnosis, Clinical Management and Follow-up. *Hemasphere*. 2019;3(6):e321.
4. *Davies SM*. Monitoring and treatment of MDS in genetically susceptible persons. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2019;2019(1):105-9.
 5. *Kennedy AL, Shimamura A*. Genetic predisposition to MDS: clinical features and clonal evolution. *Blood*. 2019;133(10):1071-85.
 6. *Babushok DV, Bessler M, Olson TS*. Genetic predisposition to myelodysplastic syndrome and acute myeloid leukemia in children and young adults. *Leuk Lymphoma*. 2016;57(3):520-36.
 7. *Sanger F, Coulson AR*. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *J Mol Biol*. 1975;94(3):441-8.
 8. *Katsanis SH, Katsanis N*. Molecular genetic testing and the future of clinical genomics. *Nat Rev Genet*. 2013;14(6):415-26.
 9. *Gerrard G, Valgañón M, Foong HE, et al*. Target enrichment and high-throughput sequencing of 80 ribosomal protein genes to identify mutations associated with Diamond-Blackfan anaemia. *Br J Haematol*. 2013;162(4):530-6.
 10. *Ghemlas I, Li H, Zlateska B, et al*. Improving diagnostic precision, care and syndrome definitions using comprehensive next-generation sequencing for the inherited bone marrow failure syndromes. *J Med Genet*. 2015;52(9):575-84.
 11. *Zhang MY, Keel SB, Walsh T, et al*. Genomic analysis of bone marrow failure and myelodysplastic syndromes reveals phenotypic and diagnostic complexity. *Haematologica*. 2015;100(1):42-8.
 12. *Li N, Xu Y, Yu T, et al*. Further delineation of bone marrow failure syndrome caused by novel compound heterozygous variants of MYSM1. *Gene*. 2020;757:144938.
 13. *Seo A, Ben-Harosh M, Sirin M, et al*. Bone marrow failure unresponsive to bone marrow transplant is caused by mutations in thrombopoietin. *Blood*. 2017;130(7):875-80.
 14. *Bruzzese A, Leardini D, Masetti R, et al*. GATA2 Related Conditions and Predisposition to Pediatric Myelodysplastic Syndromes. *Cancers (Basel)*. 2020;12(10):.
 15. *Shefer Averbuch N, Steinberg-Shemer O, Dgany O, et al*. Targeted next generation sequencing for the diagnosis of patients with rare congenital anemias. *Eur J Haematol*. 2018;101(3):297-304.
 16. *Iolascon A, Andolfo I, Barcellini W, et al*. Recommendations regarding splenectomy in hereditary hemolytic anemias. *Haematologica*. 2017;102(8):1304-13.
 17. *Jiang L, Luo Y, Zhu S, et al*. Mutation status and burden can improve prognostic prediction of patients with lower-risk myelodysplastic syndromes. *Cancer Sci*.580-91:(2)111;2020 .

כרוניקה

ילד בן שבע בטקסס ננשך על ידי עטלף ומת מכלבת



הטיפול ניתן מאוחר מדי והילד נפטר מהמחלה לאחר 16 ימי אשפוז. בבית הדירות של המשפחה אותרה מושבת עטלפים מקסיקנים, שטופלה בידי השלטונות. כל המגעים של הילד שאחרי הנשיכה אותו וחלק מהם, בהתאם לתחקיר, טופלו למניעת המחלה. לא הופיעו כל הדבקות משניות. המחברים מסכמים, שיש לחשוד בכלבת בכל מגע עם עטלפים ולהדריך את הציבור בנושא הסיכון לכלבת עקב כך, ולהבהיר במסגרת ההדרכה על חשיבות הטיפול המונע במהירות הרבה ביותר לאחר החשיפה - אשר יכול להציל חיים (MMWR 2022; 71;1547).

איתן ישראלי

בחדש אפריל 2021, במחוז מדינה בטקסס, סיפר ילד בן שבע להוריו כי ננשך על ידי עטלף כששיחק ליד ביתו. מאחר שלא נראו סימני נשיכה, הילד לא טופל כלל. הדבקות בכלבת מעטלפים מהוות כ-80% מסך מקרי הכלבת בארה"ב (38 משנת 2000), ו-59,000 ברחבי העולם מדי שנה. זמני הדגירה של הכלבת באדם יכולים להיות חודשים ואף שנים. ואכן, לאחר חודשיים הופיעו אצל הילד כאבי בכתף ימין ואף תפרת. הילד הופנה שלוש פעמים לחדרי מיון וטופל בטעות נגד שלבקות חוגרת. מבחנים נגזרים אחרים היו שליליים.

בחדש אוקטובר, רק לאחר שהופיעו כאבי ראש, התנהגות מוזרה כולל הזיות (הלוצינציות), דווח על הנשיכה מעטלף, נחשדה הדבקה בכלבת והילד טופל בניסיון חיסוני נגד הנגיף.