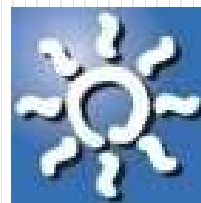


**Projekt sponzorován z fondů FRVŠ
2334/2010 – G3**



Co nám přináší migrace

**Barbora Ludíková
Dagmar Pospíšilová**

Dětská klinika – Fakultní nemocnice Olomouc
Lékařská fakulta – Univerzita Palackého v Olomouci

Copyright LF UPOL

Hemolytické anémie - hemoglobinopatie

Definice:

Vrozené abnormality způsobené redukcí syntézy normálních globinových řetězců (talasemie) nebo syntézou abnormálního hemoglobinu (SS disease).

Hemolytické anémie - hemoglobinopatie

- ❑ nejrozšířenější monogenní dědičná onemocnění
- ❑ postihují 7% světové populace. (Weatherall 2001).

Hemolytické anémie - hemoglobinopatie

- ❑ vznikají v důsledku **poruchy tvorby některého z globinových řetězců**
- ❑ nebo **syntézou strukturálně abnormálních řetězců** (aminokyselinová záměna v globinovém řetězci)

Hemolytické anémie - hemoglobinopatie

dědičné poruchy hemoglobinu lze rozdělit na:

1. mutace mění globinový protein
2. mutace mění syntézu globinu

Vznik patologických hemoglobinů je zapříčiněn bodovou mutací v některém ze strukturálních globinových genů

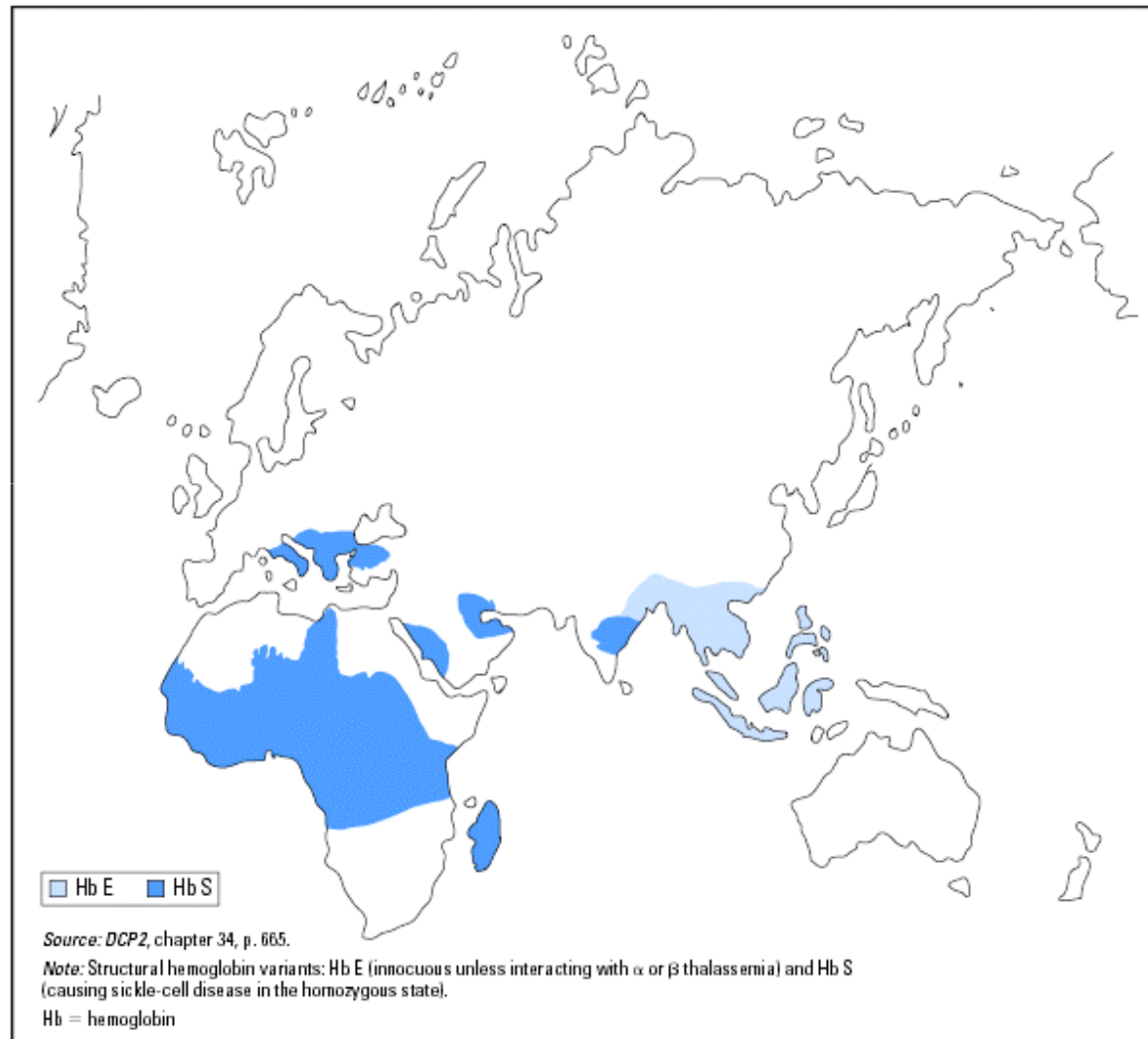
Hemolytické anémie - hemoglobinopatie

- ❑ existuje více než 800 abnormálních hemoglobinů
- ❑ asi $\frac{1}{4}$ je klinicky podstatná

Varianty hemoglobinů lze podle klinického fenotypu rozdělit do tří skupin:

- 1, varianty vedoucí k hemolytickým anémiím
nejznámější variantou spojenou s hemolýzou je HbS a HbC
- 2, varianty s narušeným transportem kyslíku
- 3, varianty s mutacemi v kódující oblasti, které způsobují thalasemie tím, že vedou k nedostatku globinových polypeptidů

Světová distribuce- hemoglobinopatií



Talasemie

- ❑ nejčastější dědičné onemocnění v populaci
- ❑ autozomálně recesivně dědičné
- ❑ Počet nosičů talasemické alely se odhaduje na více než 250 miliónů
- ❑ přes 350 000 lidí trpí těžkou formou onemocnění (Weatherall, 2008)

Talasemické syndromy

Definice:

Heterogenní skupina geneticky podmíněných nemocí vznikajících v důsledku redukce syntézy α nebo β globinových řetězců

Klinická klasifikace talasemií:

Hydrops fetalis: čtyři genové delece α -talasemie

Thalassaemia major: homozygotní

Thalassaemia intermedia: způsobená řadou genetických defektů

Thalassaemia minor: $\alpha, \beta, \delta\beta$ trait

Talasemické syndromy

Genetická klasifikace talasemií:

- ☐ α -thalassaemia (α^0 , α^+)
- ☐ β -thalassaemia (β^0 , β^+)
- ☐ $\delta\beta$ -thalassaemia a hereditární perzistence fetálního Hb,
- ☐ Hb Lepore

Talasemie

- ❑ nejvyšší výskyt talasemií : v pruhu zahrnujícím jihovýchodní a jižní Asii, Střední východ, oblasti kolem Středozemního moře a severní a centrální Afriku
- ❑ vysoký výskyt talasemií v těchto oblastech je vysvětlován selekčním tlakem malárie
- ❑ heterozygoti jsou chránění proti malárii (*Plasmodium falciparum*)
- ❑ díky migraci obyvatel se dnes s talasemií můžeme setkat prakticky kdekoliv



Old World Thalassemia Distribution

Copyright LF UPOL

Zdroj: internetový vyhledávač – www.google.com-images,http://www.bestofsicily.com/mag/art133b.gif&imgrefurl

Patogeneze

- ❑ charakterizována defektní nebo zcela chybějící produkcí jednoho nebo více globinových řetězců
- ❑ normální hemoglobin u dospělého člověka obsahuje 97% HbA s minimálním množstvím HbA2 (přibližně 2,5%) a méně než 1 procento HbF
- ❑ redukce produkce α řetězců způsobuje α talasémii
- ❑ deficit β řetězců je příčinou β talasemie

Patogeneze

- ❑ molekulární podstata talasémií byla již detailně prozkoumána
- ❑ na příkladu talasémií byl poprvé ukázán význam molekulární diagnostiky pro klinickou praxi
- ❑ genetický defekt způsobuje sníženou syntézu jednoho z globinových řetězců, který tvoří hemoglobin
- ❑ **důsledek - α – nebo β - talasemie**

Patogeneze

- ❑ snížení syntézy globinového řetězce může způsobit vznik abnormálních hemoglobinových molekul
- ❑ druhé globinové řetězce, které se syntetizují v obvyklém množství začnou v buňce precipitovat
- ❑ poškozují membránu
- ❑ vedou k předčasnému zničení erytrocytů
- ❑ —→ **anémie** - hlavní symptom talasémie

Klasifikace

- ❑ Klasifikace dle snížení tvorby
- ❑ α -talasémie - snížená formace α -globinového řetězce
- ❑ β - talasémie - β - globinový řetězec
- ❑ α -globinový řetězec je kódován dvěmi blízkými geny na chromosomu 16
- ❑ β - globinový řetězec je kódován pouze jedním genem na chromozomu 11

Klasifikace

- ❑ u zdravého člověka se dvěmi kopiemi každého chromozomu dva lokusy kódují β - řetězec a čtyři lokusy kódují α – řetězec
- ❑ delece jednoho α lokusu má vysokou prevalenci u afričanů nebo asiátů – predispozice pro α -talasémii

Alfa- thalasémie

- ❑ dědičné poruchy tvorby α – řetězec ovlivňují vznik jak fetálního tak dospělého hemoglobinu
- ❑ způsobují onemocnění jak v intrauterinním tak postnatálním období
- ❑ β - globinové řetězce se nemohou pojit s α – řetězci, vzhledem k jejich nedostatku a tvoří homotertramerický hemoglobin, který se skládá z γ_4 známý také jako Bartův hemoglobin a nebo β_4 tetromer nazývaný HBH

Alfa- thalasémie

- ❑ žádný tetramer není schopen tkáním předávat kyslík
- ❑ u plodů , kde je velké množství Bartova hemoglobinu dochází k hypoxii plodu - hydrops fetalis
- ❑ α -talasémie s homozygotní delecí – nejčastěji v jihovýchodní Asii
- ❑ tiché nosičství – porucha jen jednoho genu pro tvorbu α - řetězce ($-\alpha/ \alpha\alpha$) – mikrocytóza, bez anémie

Alfa- thalasémie

- ❑ heterozygotní stav nazývány ``náznak talasémie`` - **Alfa thalasemia minor** - se dvěma normálními a dvěma mutovanými geny alfa může být způsoben dvěma různými genotypy ($-\alpha/-\alpha$, nebo $--/\alpha\alpha$)
- ❑ genotyp $--/\alpha\alpha$ je poměrně rozšířený právě mezi obyvateli jihovýchodní Asie
- ❑ potomek tedy může získat dva stejné chromozomy ($--/--$)

Diagnostika thalasemie minor

- ❑ mikrocytóza - výrazná
- ❑ hypochromie
- ❑ lehká anémie
- ❑ inkluze hemoglobinu H- vzácné
- ❑ retikulocyty- normální, zvýšené
- ❑ Bartův hemoglobin – 3-8% perinatální období

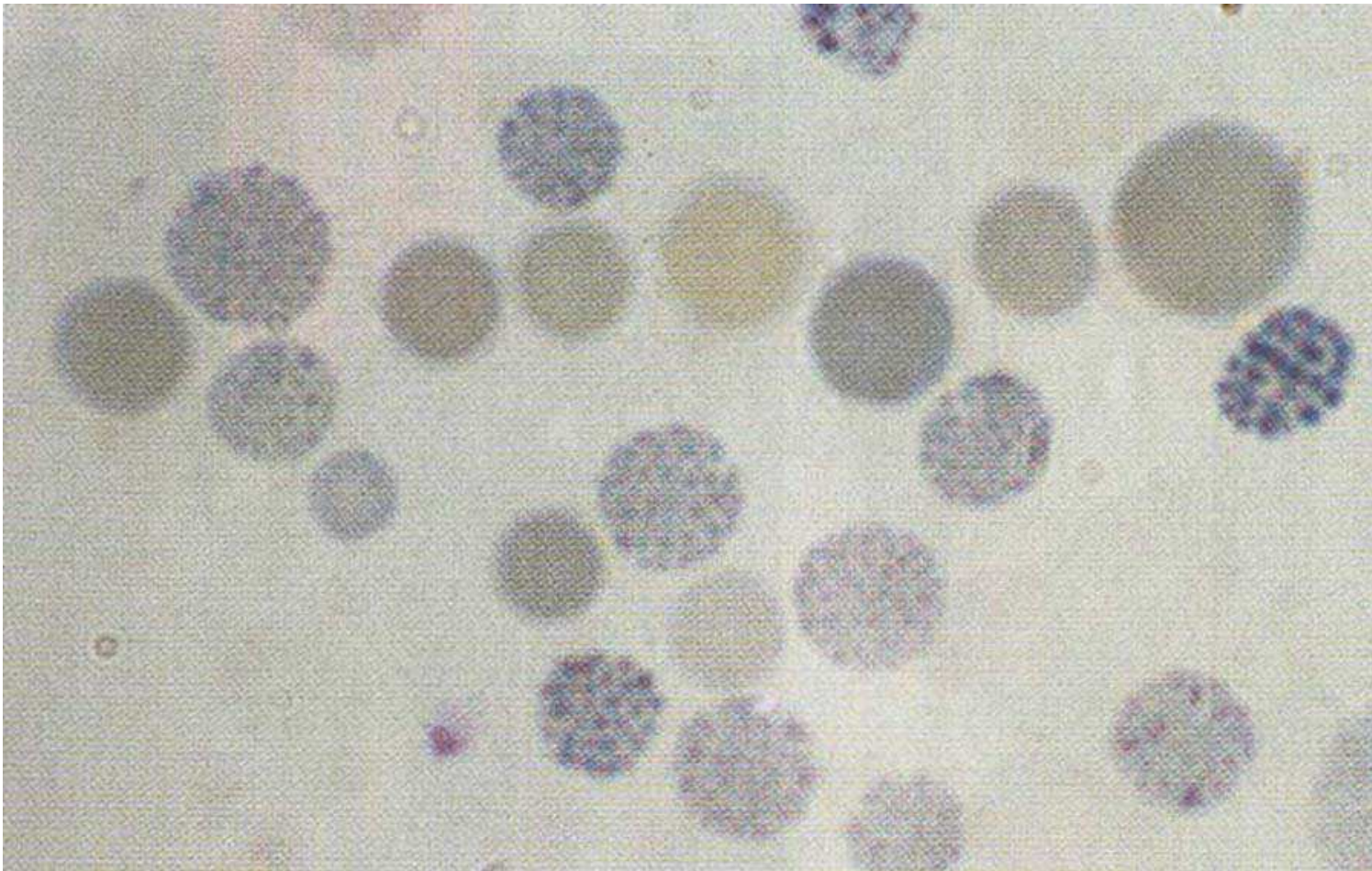
Choroba hemoglobinu H

- ❑ Postižení tří genů pro tvorbu α - řetězců (- -/ α)
- ❑ Vzniká hemoglobin H (β_4) - nestabilní
- ❑ v erythrocytech se tvoří inkluze, které jsou z nich ve slezině odstraňovány a tím dojde k jejich poškození a předčasnému vychytávání
- ❑ rozvoj anémie v prvním roce života

Diagnostika HBH

- ❑ žloutenka- hemolytický charakter
- ❑ hepatosplenomegalie
- ❑ mikrocitární anémie- MCV pod 70fl.
- ❑ hypochromie, anyzocytóza, tečkovité erytrocyty, bazofilní tečkování
- ❑ retikulocytóza
- ❑ Bartův hemoglobin – 5-30%

α -thalassaemia: hemoglobin H disease (precipitate aggregátů globin. řetězců)



β -talasémie

- ❑ mnohé ze znaků alfa talasémií sdílejí i β talasémie
- ❑ nízká tvorba β globinových řetězců se manifestuje hypochromní mikrocytární anémií
- ❑ nerovnoměrná syntéza řetězců - precipitace nadbytečných alfa řetězců
- ❑ poškození erytrocytární membrány

Thalasemie minor (heterozygotní)

- ❑ v porovnání s alfa globinovými řetězci jsou β globinové nezbytné jen v postnatálním období - β talasémie se diagnostikuje až několik měsíců po narození
- ❑ v tomto období β globinový řetězec obvykle nahrazuje γ globin
- ❑ snížení jen syntézy hlavního hemoglobinu u dospělých HbA

Thalasemie minor (heterozygotní)

- ❑ excesorní globinové řetězce jsou nerozpustné
- ❑ dochází k jejich precipitaci v prekurzorech erytrocytu
- ❑ jsou rozbíjeny v kostní dřeni
- ❑ → neefektivní erytropoeza
- ❑ gen δ není poškozen, syntéza HbA2 je zachována
- ❑ specifický znak heterozygotní formy β talasemie je zvýšená hladina HbA2 spojená se zvýšením hladiny HbF
- ❑ Na rozdíl od α talasémií jsou β talasémie obvykle způsobeny substitucemi jednotlivých párů bází, spíše než delecemi

Thalasemie minor (heterozygotní)

- ❑ nejčastější forma, většinou klinicky nemá
- ❑ heterozygotní nosičství β^0 nebo β^+
- ❑ počet erytrocytů : normální, zvýšený
- ❑ hemoglobin - mírně snížený, norma
- ❑ anémie- mikrocytární, hypochromní retikulocytóza
- ❑ hladina HbA2 zvýšena (3,5-8%) stejně tak HbF (2-6%)

Klasifikace thalasemie β major

- ❑ každá červená krvinka má dvě kopie chromozomu 11 a oba β globinové geny jsou exprimovány, většina poruch na β globinových řetězcích nejsou klinicky významné
- ❑ “ β^0 ” talasemie - naprosto chybí syntéza β globinových řetězců
- ❑ “ β^+ ” talasemie - zůstává redukováná syntéza β řetězců

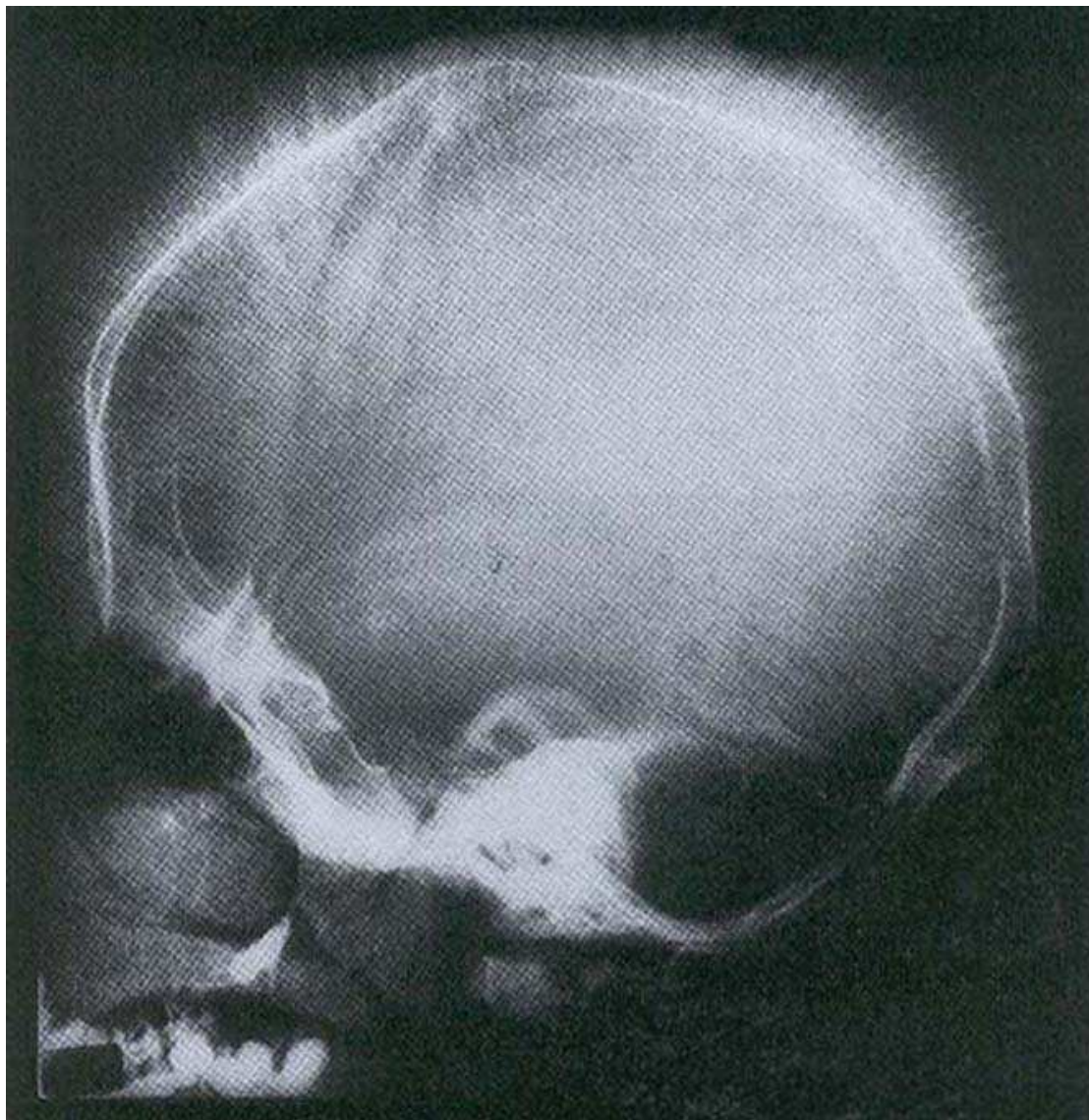
Klinická manifestace

- ❑ chronická hemolytická anémie, snížená nebo naprosto chybějící produkce hemoglobinu A a neefektivní erythropoeza v kostní dřeni
- ❑ **Těžká anémie** – začíná ve 3-6 měsících po porodu (switch z γ k β řetězcům)
- ❑ anémie je natolik závažná, že vede k poruchám růstu až k srdečnímu selhání
- ❑ Zvětšení jater a sleziny (výrazná destrukce erytrocytů, extramedulární hematopoeza)
- ❑ Od konce prvního roku života jsou pacienti závislí na transfuzích

Klinická manifestace

- ❑ nefunkční erythropoéza způsobuje rozšíření kostních dutin s dřením ve všech kostech - vede k osteopenii - patologickým frakturám, extramedulární erythropoeze a k zvýšené absorpci železa
- ❑ v adolescentním věku - komplikace z přetížení železem (zejména neimunitní diabetes mellitus, cirhóza, srdeční selhání, bronzový ikterus a četné endokrinní poruchy)

„Hair- on- end“ vzhled – rtg lbi



Copyright LF UPOL

Zdroj: Clinical Haematology-Sandoz atlas, A.V Hoffbrand et. al. 1988

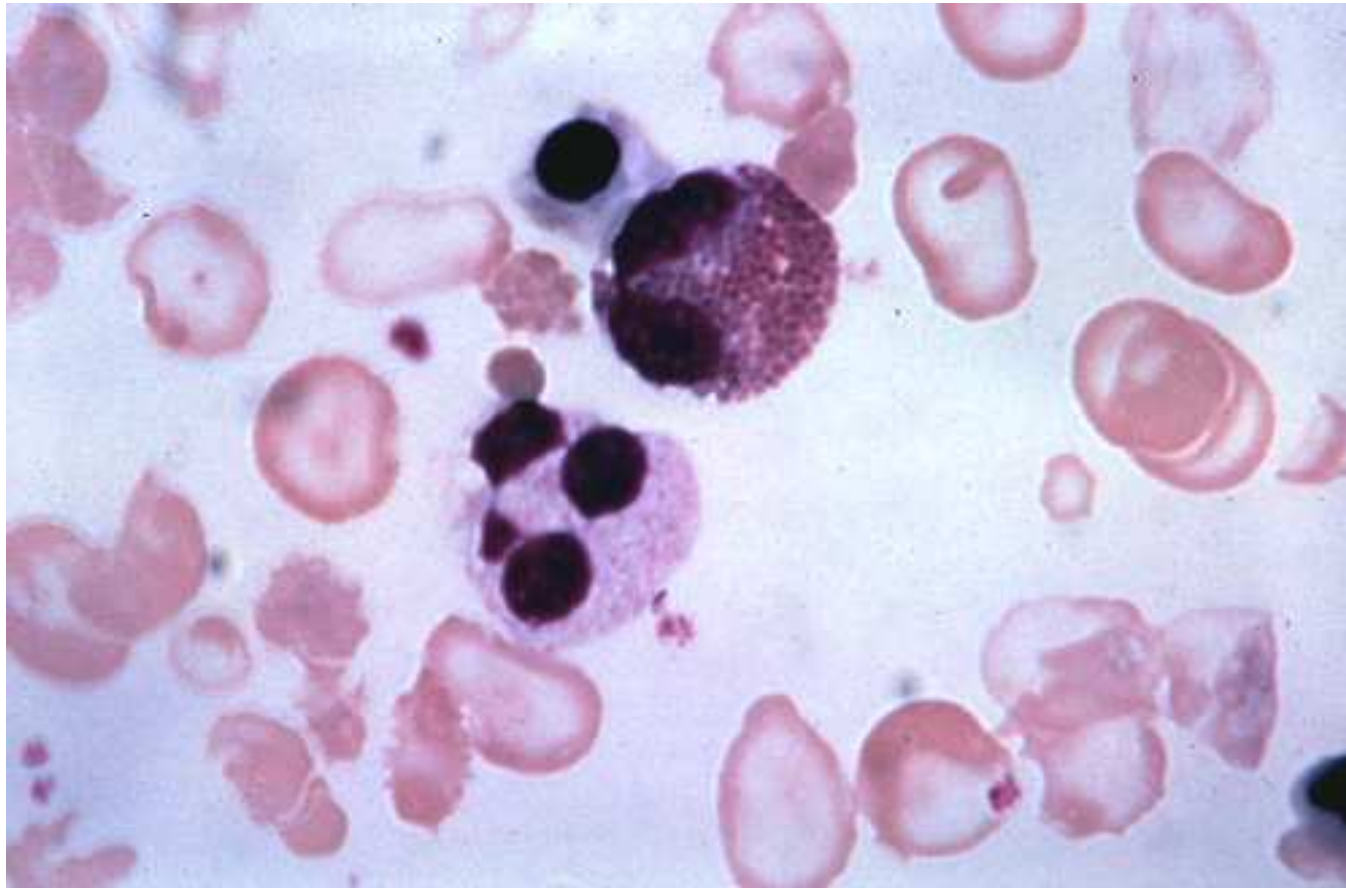
Diagnostika

- ❑ mikrocytární anémie s hemoglobinem pod 80g/l a sníženým MCV
- ❑ v nátěru periferní krve bývá zřejmá anizocytóza, poikilocytóza a terčové buňky
- ❑ na erythrocytech - bazofilní tečkování
- ❑ v periferní krvi bývá zvýšený počet erythroblastů
- ❑ retikulocytóza bývá lehkého stupně

Diagnostika

- ❑ zhodnocení množství železa, sérové železo bývá v laboratorních mezích nebo lehce zvýšené a sérový feritin je zvýšený
- ❑ nejdůležitějším průkazem je elektroforéza hemoglobinu. HbF je v mezích 20-80%, HbA2 je variabilní.

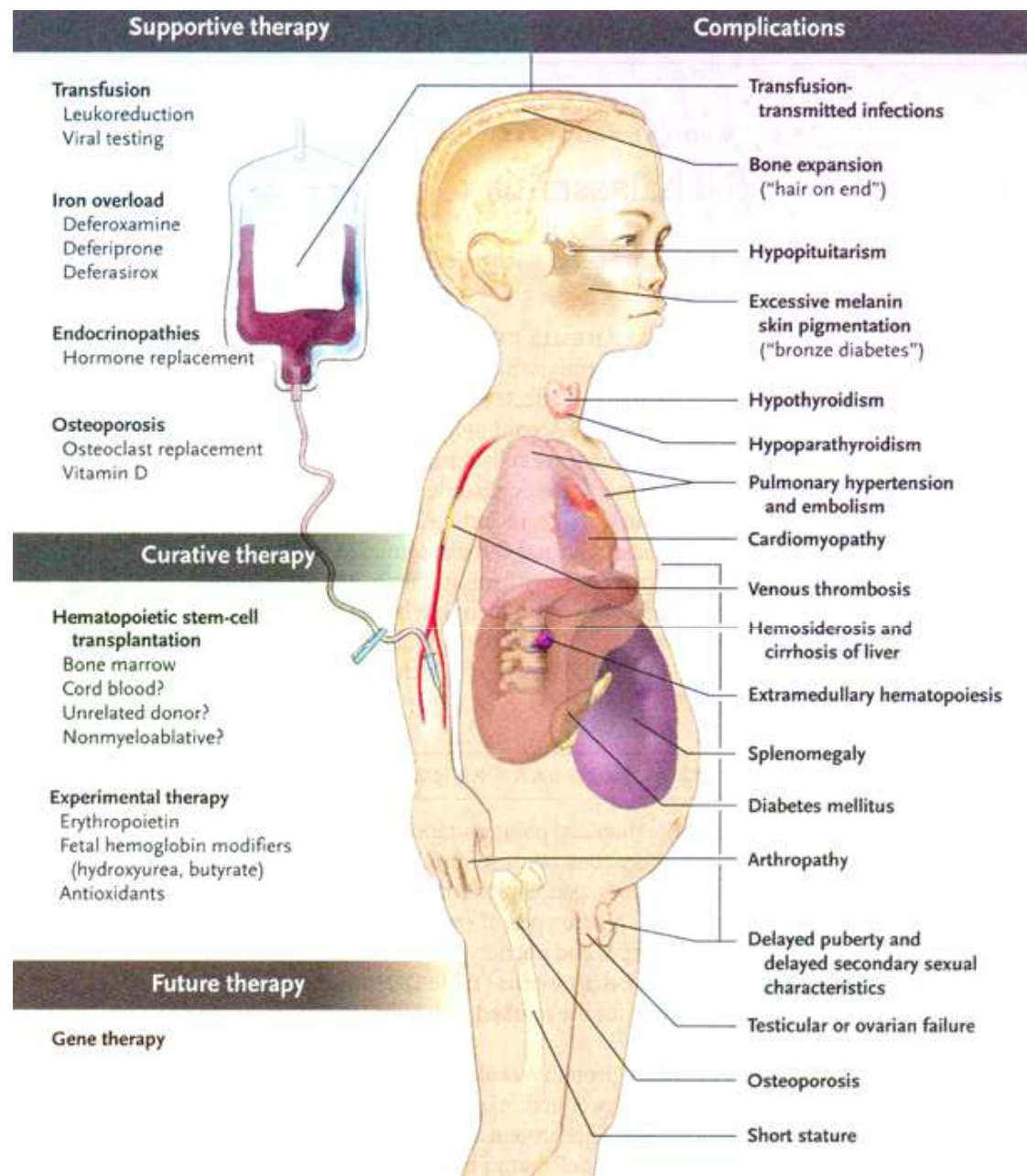
β - talasemie major: nátěr perif. krve



Zdroj: internetový vyhledávač – [www.google.com-images,http://stemcellumbilicalcordblood.com/wp-content/uploads/2009/06/thalassemia_major.jpg&imgrefurl](http://www.google.com-images/http://stemcellumbilicalcordblood.com/wp-content/uploads/2009/06/thalassemia_major.jpg&imgrefurl)

Obecné zásady léčby

- ❑ pravidelné transfúze erytrocytární masy
- ❑ suplementace kyseliny listové
- ❑ léčba chelátory Fe
- ❑ vitamin C (200 mg)
- ❑ splenektomie, imunizace
- ❑ endokrinologická léčba
- ❑ transplantace kostní dřeně v dětství před prvními projevy poškození orgánů přetížením železem se stalo úspěšnou metodou volby



Zdroj: internetový vyhledavač – prezentace Doc.Pospíšilová .
Festival kazusitk, Luhačovice 2009 – Co nám přináší migrace

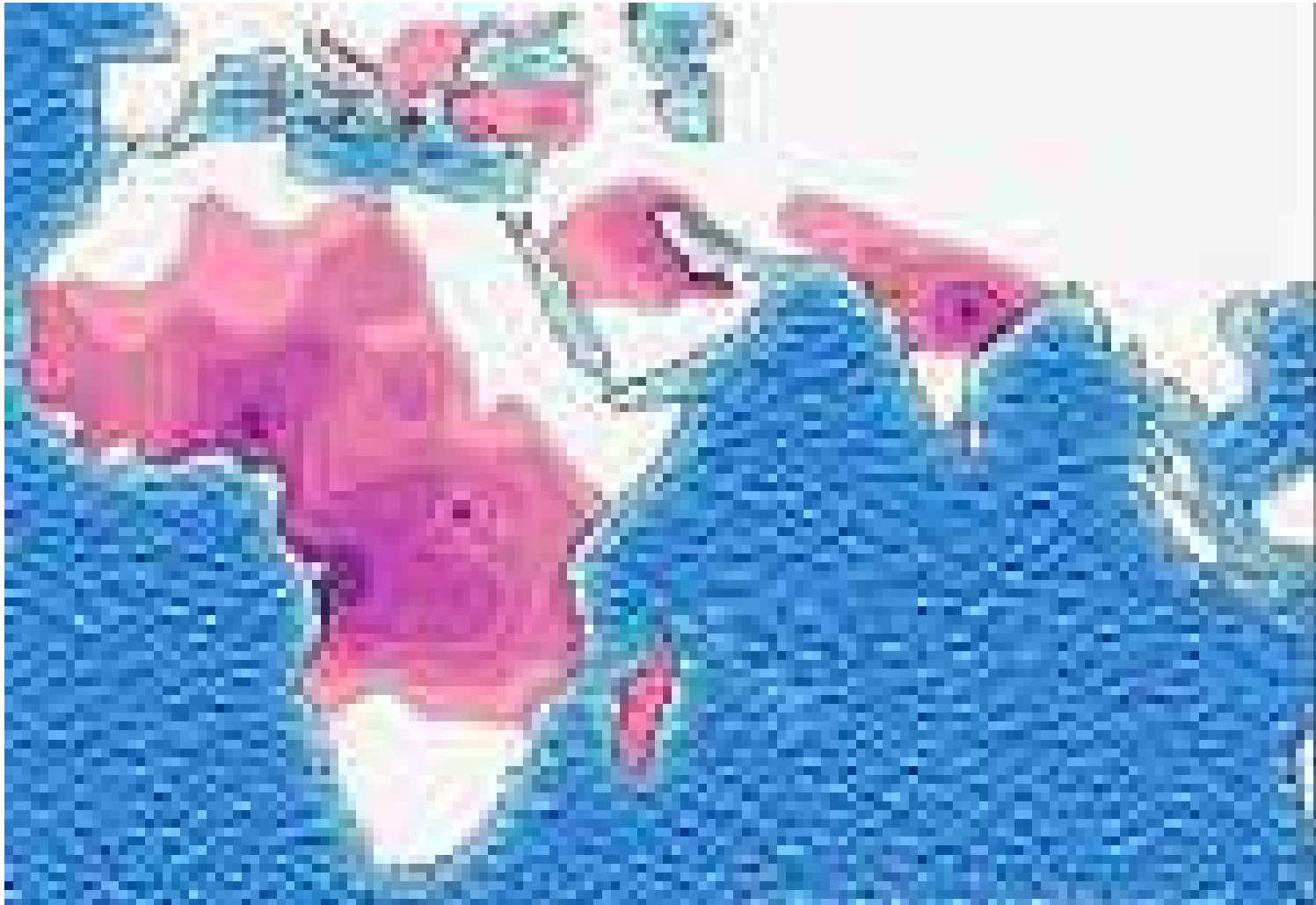
Srpkovitá anémie

- ❑ HbS - typický pro srpkovitou anémii
- ❑ z abnormálních hemoglobinů objeven jako první
- ❑ způsoben substitucí jednoho nukleotidu, která mění kodón šesté aminokyseliny β globinového řetězce z kyseliny glutamové na valin
- ❑ chronická hemolytická anémie komplikovaná náhlými a někdy život ohrožujícími stavy způsobenými akutní intravaskulární srpkovitou přeměnou erytrocytů s následnou výraznou bolestivostí a orgánovou dysfunkcí - **srpkovitá krize**

Srpkovitá anémie

- ❑ Vyskytuje se především v Africe, jižní Evropě, arabských státech a Indii
- ❑ nosiči genu pro srpkovitou anémii mají biologickou výhodu vůči přenosu *malaria falciparum*

Distribuce srpkovité anémie ve světě



Copyright LF UPOL

Zdroj: internetový vyhledavač – [www.google.com-](http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/24/Sickle_cell_distribution.jpg/150px)
http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/2/24/Sickle_cell_distribution.jpg/150px

Patogeneze

- ❑ substituce jedné z aminokyselin vede k tvorbě hemoglobinu S
- ❑ při oxygenaci dojde ke změně bikonkávního tvaru erytrocytu na srpkovitý
- ❑ srpkovitý tvar má sníženou schopnost deformace v deoxygenovaném stavu
- ❑ HbS se krystalizuje a tvoří gel v deoxygenovaném stadiu

Patogeneze

- ❑ pokud dojde k opětovné oxygenaci, HbS je normálně rozpustný
- ❑ srpkovité buňky se mohou dostat do mikrocirkulace a pokud dojde ke snížení saturace kyslíkem, opětovné vytvoření srpků může vést k její okluzi
- ❑ dojde k četným infarktům, které způsobují bolest a dysfunkci orgánů

Srpkovitá anémie – nátěr perif. krve



Copyright LF UPOL

Zdroj: internetový vyhledavač – [www.google.com-](http://www.google.com-http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Hematologie/Obrazky/HEM26A.JPG&imgrefurl)
<http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Hematologie/Obrazky/HEM26A.JPG&imgrefurl>

Klinický obraz

- ❑ děti se srpkovitou anémií jsou náchylnější k život ohrožujícím infekcím již od čtyř měsíců věku díky dysfunkci sleziny, která je způsobená přeměnou erytrocytu na srpkovité v slezinném řečišti
- ❑ slezina není schopna filtrovat mikroorganismy z krve
- ❑ Snížení funkce sleziny může následovat její infarkt - obvykle kolem druhého až čtvrtého roku věku.
- ❑ nedostatečnost normální funkce sleziny ohrožuje pacienta zvýšeným rizikem vzniku závažné infekce obalenými mikroorganismy, zejména streptokokem pneumonie
- ❑ prvním znakem infekce je horečka, pokud je vyšší než 38,5 °C musí být pacient urychleně ošetřen

Klinický obraz

- ❑ využívá se prevence - po stanovení diagnózy pacient užívá denně perorálně penicilin
- ❑ doporučuje se přídatná vakcinace proti Hemofilu, influenze, viru hepatitidy typu B a proti viru chřipky
- ❑ anémie - chronická, středně těžká a kompenzovaná

Klinický obraz

- ❑ pacienti nejsou závislí na transfuzích
- ❑ závažnost onemocnění závisí na pacientově fenotypu
- ❑ erytrocytární transfuze by měla být podána na základě pacientova klinického stavu, hladiny hemoglobinu a počtu retikulocytů
- ❑ příznaky chronické anemie - ikterus, pallor, splenomegalie, srdeční šelest, opožděný růst a opožděné sexuální vyžívání

Tři život ohrožující stavy – nutná transfuzní léčba

- ❑ **krize ze sekvestrace sleziny** - hyperakutní snížení hladiny hemoglobinu vychytáváním erytrocytů z oběhu ve slezině a jejich destrukcí. Slezina je středně až výrazně zvětšena a počet retikulocytů je zvýšený
- ❑ **aplastické krize** - parvovirus B 19 infikuje prekurzory erytrocytů v kostní dřeni a tím indukuje tranzientní erytrocytární aplázií s retikulocytopenií a náhlým zhoršením anémie
- ❑ **hemolytická krize** - náhlé snížení hladiny hemoglobinu především na podkladě infekce či farmakoterapie
 - hodnota bilirubinu zvýšena, retikulocytóza, různý stupeň ikteru
 - nejčastěji u nemocných s nedostatkem G6PD

Vazookluzivní krize

- ❑ může se vyskytnout jakémkoliv tělním orgánu - doprovázena bolestí nebo nápadnou poruchou funkce daného orgánu
- ❑ „**Syndrom akutního hrudníku!** - vazookluzivní krize v plicích, často spojená s infekcí nebo infarktem
- ❑ nejprve – bolest - rozvoji kašle, zvyšuje se srdeční i dechová aktivita a dochází k hypoxii
- ❑ auskultace plic - patrný okrsky snížené respirace
- ❑ terapie - kyslíkem , přídatnými iontovými roztoky, analgetiky, antibiotiky a krevními transfuzemi

Vazookluzivní krize v CNS - různý obraz

- ❑ náhle vzniklé poruchy vědomí
- ❑ záchvaty až k lokálním parézám
- ❑ priapismus je typický pro chlapce ve věku od 6ti do 20ti let
- ❑ terapie - podání kyslíku, tekutin, analgetika a transfuzí

Vazookluzivní krize

- ❑ avaskulární nekróza hlavy femuru a chronické onemocnění kyčle
- ❑ ataky bolesti patří mezi nejčastější potíže při vazookluzivních stavech
- ❑ bolest je nejčastěji lokalizována do dlouhých kostí horních a dolních končetin, ale v období batolecím se může také vyskytnout v kostech ruky nebo nohy
- ❑ přetrvávají 2-7dní

Srpkovitá anémie – klinická manifestace



Zdroj: Clinical Haematology-Sandoz
atlas, A.V Hoffbrand et. al. 1988

Diagnostika

- ❑ krevní obraz - u homozygotů hodnoty mezi 60-80g/l spojené s retikulocytózou
- ❑ zvýšení retikulocytů dochází na podkladě kompenzačního mechanismu kostní dřeně při zvýšené destrukci srpkovitých buněk
- ❑ jiné formy srpkovité anémie - Hb vyšší.
- ❑ periferní krve - známky hyposplenismu jako terčové buňky nebo Howell-Jollyho tělíka
- ❑ elektroforéza hemoglobinu -prokázat HbS
- ❑ sekvenace genu
- ❑ screening novorozenců - na srpkovitou anémii.

Diferenciální diagnóza

- ☐ revmatická horečka
- ☐ Osteomyelitida
- ☐ juvenilní idiopatická artritida
- ☐ leukémie
- ☐ hemolytická anémie

Zásady léčby

- ❑ pravidelné kontroly s rutinním lab. vyšetřením
- ❑ bolestivé krize: zvýšený přívod tekutin a perorální analgetika
- ❑ včasná antibiotická léčba při horečnatém onemocnění
- ❑ hospitalizace na JIP: podezření na sepsi, syndrom akutního hrudníku nebo splenickou sekvestraci
- ❑ hydroxyurea
- ❑ pneumokoková vakcína, penicilinová profylaxe
- ❑ transfúze: pouze při specifických okolnostech
- ❑ léčba chronického poškození orgánů
- ❑ transplantace kostní dřeně

Pacient 1.

- ❑ věk: 2 roky
- ❑ pohlaví: ženské
- ❑ místo narození: Moldavie
- ❑ hlavní potíže: odeslána s mikrocytární anémií (Hb 69g/l) bez odpovědi na železo
- ❑ rodinná anamnéza: matka také léčena pro sideropenickou anémii
- ❑ jiné onemocnění: nemá

Laboratorní výsledky

Krevní obraz

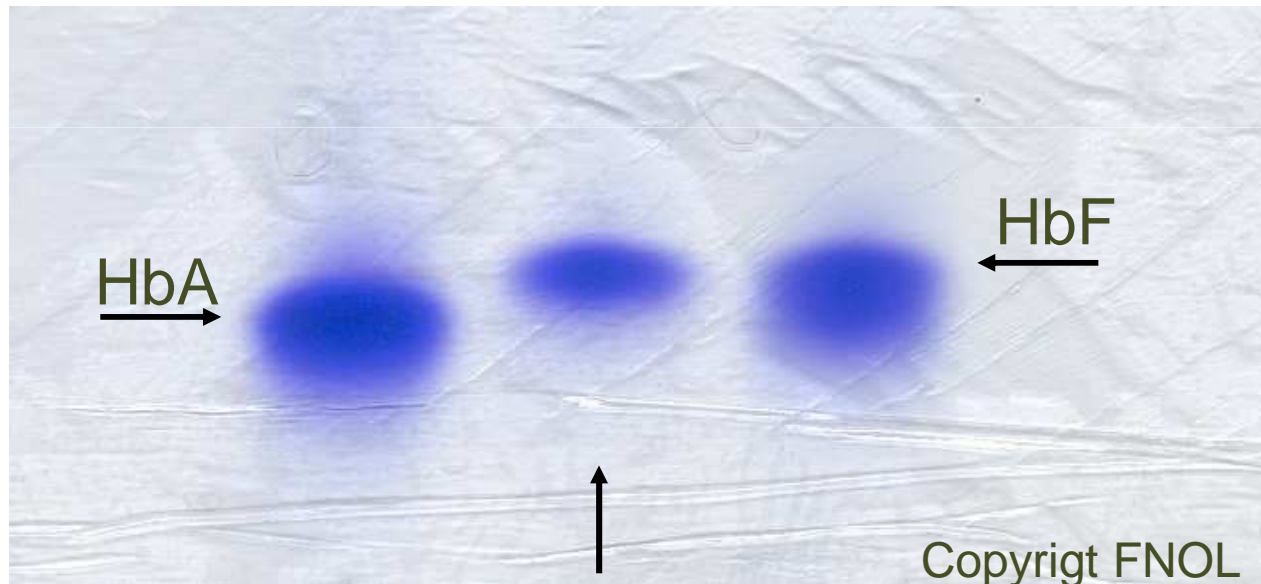
Hb g/l	Ery $\times 10^{12}/l$	htk	MCV fl	Ret %	Hb ery (pg)	Le $\times 10^9/l$	Tr $\times 10^9/l$
69	2,85	0,23	69,5	4,9	26,1	6,8	382

Metabolismus železa

test	Fe in serum umol/l N: 14,5-26	CVK umol/l N: 44,8-71,6	Feritin ng/ml N: 20-150	sTfR mg/l N: 1,9-4,4	Transferrin g/l N: 1,8-4
Results	47,4	54,9	351	34,7	2,23

Elektroforéza hemoglobinu

- HbF: 72 %
- HbA2: 1,6%

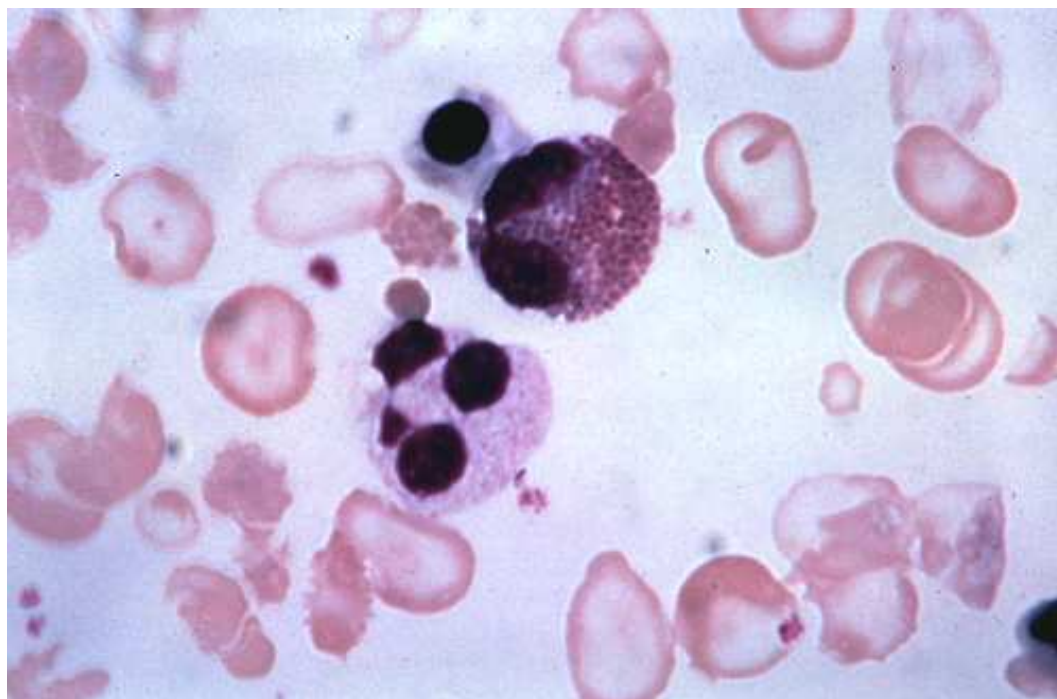


β -talasemie
major

Další testy

- Isopropanolový test: negat.
- Heinzova tělíčka: negat.
- Vit B12, folát: norm
- Test kryohemolýzy: negat.

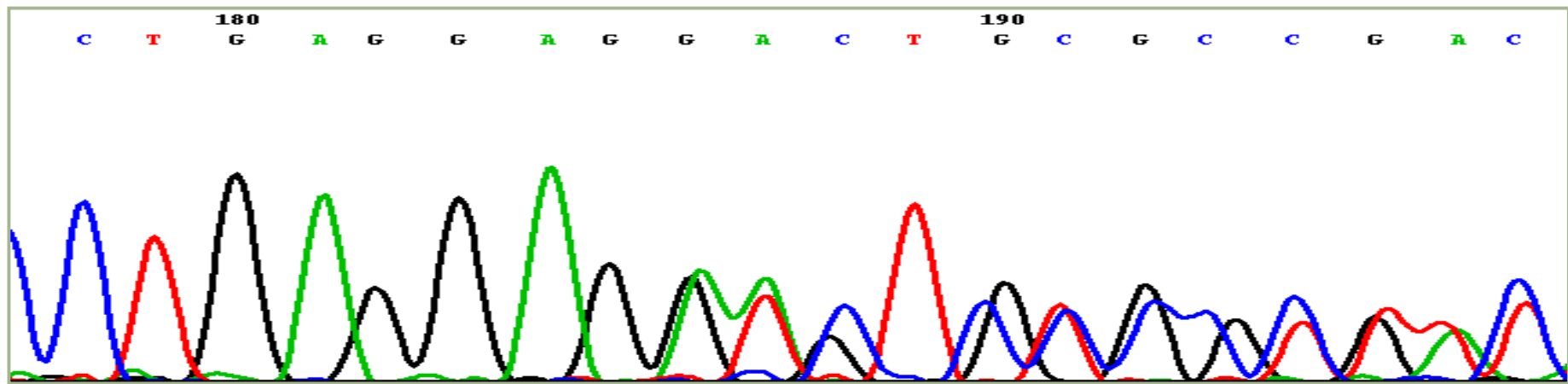
Nátěr periferní krve



http://www.google.cz/imgres?imgurl=http://stemcellumbilicalcordblood.com/wp-content/uploads/2009/06/thalassemia_major.jpg&imgrefurl

Sekvenční analýza

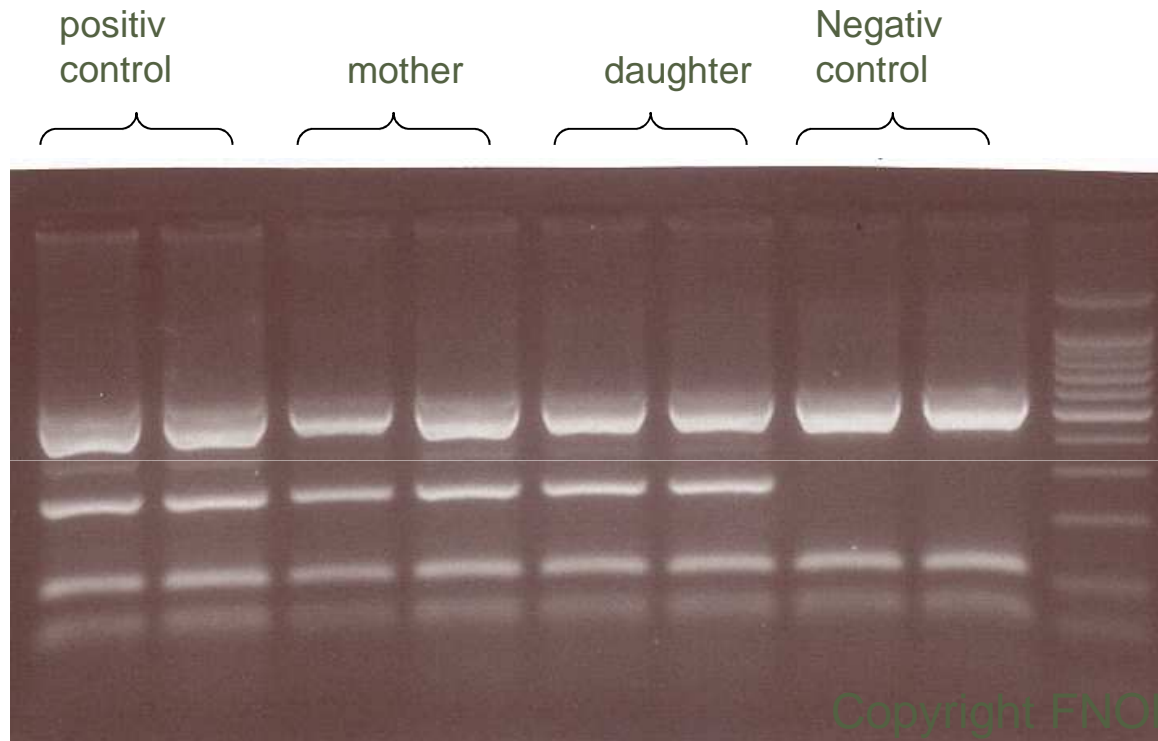
β-globinový gen, heterozygotní mutace CD8 (-AA)



Copyright FNOI

Frame shift mutation

Restrikční analýza



Heterozygous mutation in CD39 (C-T) of β -globin gen.

Pacient 2

- ❑ Věk: 6 let
- ❑ Pohlaví: mužské
- ❑ Místo narození: Nigérie
- ❑ Hlavní potíže: dlouho trvající horečka, nachlazení, kašel, tachypnoe, normocytární anemie – anemie chronických nemocí
- ❑ Rodinná anamnéza: matka zdravá, informace o otci nejsou známe
- ❑ Sociální anamnéza: žije v utečeneckém táboře
- ❑ Další onemocnění : před dvěma měsíci měl varicellu

Laboratorní výsledky

Krevní obraz

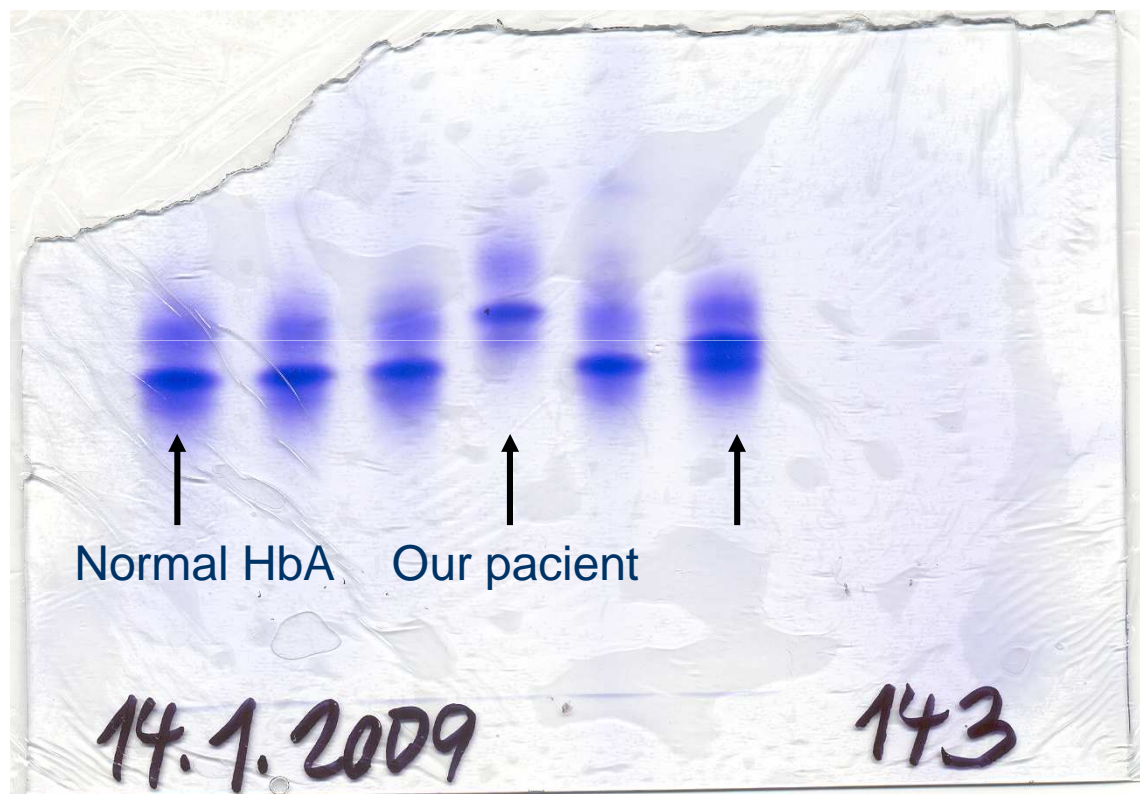
Hb g/l	Ery $\times 10^{12}/l$	htk	MCV fl	Ret %	Hb ery (pg)	Le $\times 10^9/l$	Tr $\times 10^9/l$
81	3.1	0,25	74,5	9,7	26,1	6,8	538

Metabolismus železa

test	Fe in serum umol/l N: 14,5-26	CVK umol/l N: 44,8-71,6	Feritin ng/ml N: 20-150	sTfR mg/l N: 1,9-4,4	Transferin g/l N: 1,8-4
Results	15,4	54,9	153	27,7	2,23

Elektroforéza hemoglobinu

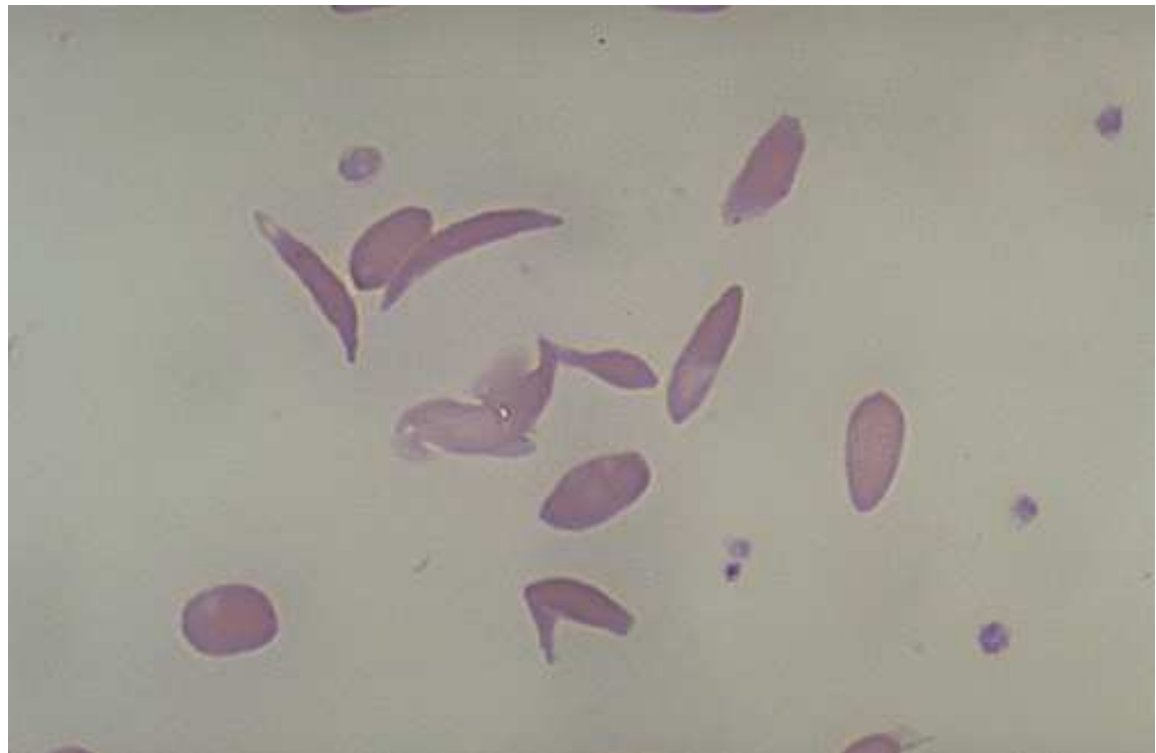
HbF: 8 %
HbA2: 3,8%
HbS: 74%



Další testy

Isopropanolový test:	negat.
Heinzova tělíška:	negat.
Vit B12, folát:	norm.
Test kryohemolýzy:	negat.

Nátěr periferní krve

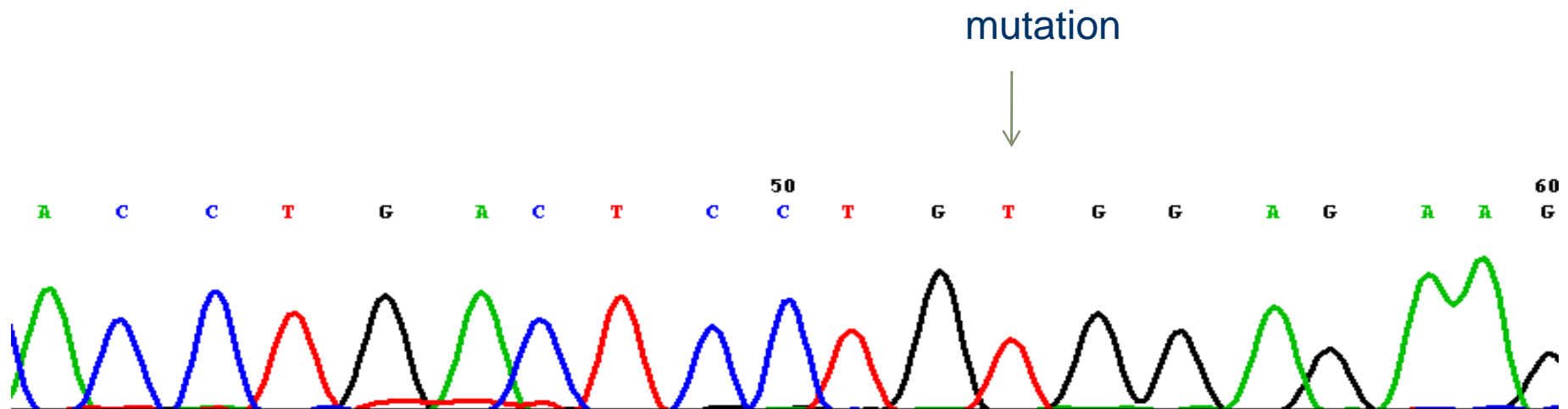


<http://www.google.cz/imgres?imgurl=http://webak.upce.cz/~kbbv/Student/Vyuka/Hematologie/Obrázky/HEM26A.JPG&imgrefurl>

Copyright LF UPOL

Sekvenční analýza

mutace GAG na GTG (CD 6 beta-glob. gen) -
Homozygot pro HbS



Závěr

- ✓ Oba pacienti neměli typické formy onemocnění
- ✓ Talasemie a srpkovitá anémie se objevují jen zřídka v severní a střední Evropě
- ✓ Vždy je nutné odeslat pacienta na specializované hematologické pracoviště
- ✓ Nutný dostatek informací o těchto onemocněních – mohou být život ohrožující
- ✓ Musí být provedena specializovaná vyšetření včetně genetického

© Original Artist
Reproduction rights obtainable from
www.CartoonStock.com



Search ID: rj00889

"GOOD TO HAVE YOU WITH US, FARQUHAR. WE COULD
DO WITH SOME FRESH BLOOD IN THIS PLACE"