

Nik Krajnc<sup>1</sup>, Janez Jazbec<sup>2</sup>

# Hemofagocitna limfohistiocitoza

## *Hemophagocytic Lymphohistiocytosis*

### IZVLEČEK

KLJUČNE BESEDE: hemofagocitna limfohistiocitoza, makrofag, citokinska nevihta, perforin

Hemofagocitna limfohistiocitoza je redek, vendar življenje ogrožajoč klinični sindrom, za katerega je značilna nenadzorovana aktivacija in razmnoževanje makrofagov in limfocitov ter z njo povezana citokinska nevihta. Ločimo primarno obliko sindroma, ki je povezana s številnimi genetskimi nepravilnostmi, med katerimi je najpogostejše pomanjkanje perforina, in sekundarno, ki jo lahko sprožijo okužba, avtoimunska bolezen ali maligno obolenje. Zanj so značilni vročina, hepatosplenomegalija, citopenija in infiltracija hematopoetskih organov z aktiviranimi makrofagi, ki lahko vodi v večorgansko odpoved in smrt. Zdravljenje je usmerjeno v zavoro imunskega sistema in odstranitev morebitnih sprožilnih dejavnikov.

### ABSTRACT

KEY WORDS: hemophagocytic lymphohistiocytosis, macrophage, cytokine storm, perforin

Hemophagocytic lymphohistiocytosis is a rare but potentially fatal syndrome characterized by uncontrolled activation and proliferation of macrophages and lymphocytes together with an accompanying cytokine storm. It can occur as a primary disorder, which is associated with various genetic defects, the most common being perforin deficiency, and secondary, which is triggered by infection, an autoimmune disorder or cancer. The syndrome is clinically characterized by a fever, hepatosplenomegaly, cytopenia and the infiltration of hematopoietic organs with activated macrophages, often resulting in multi-organ system failure and death. Treatment is focused on immunosuppressive therapy and the treatment of any existing triggers.

<sup>1</sup> Nik Krajnc, dr. med., Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Vrazov trg 2, 1000 Ljubljana; krajnc.nik@gmail.com

<sup>2</sup> Izr. prof. dr. Janez Jazbec, dr. med., Klinični oddelek za otroško hematologijo in onkologijo, Pediatrična klinika, Univerzitetni klinični center Ljubljana, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana; Katedra za pediatrijo, Medicinska fakulteta, Univerza v Ljubljani, Bohoričeva ulica 20, 1000 Ljubljana

## UVOD

Hemofagocitna limfohistiocitoza (HLH) je redek, vendar izjemno nevaren klinični sindrom, za katerega sta značilni prekomerna aktivacija imunskega sistema in citokinska nevihta. Pogosteje se pojavlja pri otrocih, vendar lahko prizadene tudi odrasle. Ocenjena letna incidenca je 1–10/1.000.000 otrok v Evropi in ZDA. Najpogosteje se klinično izraža s povišano telesno temperaturo in hepatosplenomegalijo, opredeljujejo pa jo tudi nekatera odstopanja v laboratorijskih vrednostih, kot sta citopenija in hiperferitinemija (1).

HLH je izredno raznolika skupina motenj imunskega sistema. Delimo jo na primarno (družinsko) (angl. *familiar hemophagocytic lymphohistiocytosis*, FHL) in sekundarno (pridobljeno) obliko. FHL se najpogosteje pojavlja pri otrocih in je povezana z več mutacijami, med katerimi je najpogostejša mutacija gena za perforin. Pridobljena oblika pa je značilna tako za otroke kot tudi za odrasle s pridobljenimi motnjami v delovanju citotoksičnih limfocitov T in naravnih celic ubijalk (angl. *natural killers*, NK). Med sprožilne dejavnike HLH uvrščamo okužbo (predvsem virusno), hematološke malignome (limfom celic T in B, akutna levkemija) in avtoimunske sprožitelj (1).

## PATOFIZIOLOGIJA

Običajno celice, ki jih napade pridobljeni imunski sistem, prepoznajo citotoksični limfociti T, ki se vežejo na izpostavljene človeške levkocitne antigene (angl. *human leukocyte antigens*, HLA) I na njihovi površini. Citotoksični limfociti T nato degradirajo ter izločajo perforin in grancime, poleg tega pa tudi interferon (IFN)  $\gamma$  in druge citokine, pomembne za privabljanje preostalih limfocitov na področje vnetja (2). Perforin je glavna citolitična beljakovina, katere delovanje je povezano z oligomerizacijo, vstavitvijo v membrano tarčne celice in oblikovanjem pore, ki vodi v osmotsko lizo tarčne celice. Poleg tega je perforin potre-

ben za vnos grancimov, ki katalizirajo razgradnjo beljakovin, v tarčno celico, kar sproži njeno apoptozo, s tem pa se odstrani antigenska stimulacija in se sproži umiritev imunskega odgovora (3–5). Podobno vlogo imajo celice NK, ki so sicer del prirojene imunskega sistema, a imajo tudi funkcijo uravnavanja prek izločanja interleukina (IL) 10, ki prepreči aktivacijo limfocitov T in tako podpira vlogo regulatornih limfocitov T. Omenjeni mehanizmi omogočajo tarčno delovanje, ki prepreči citokinsko nevihto, ki se razvije med HLH (2).

Izguba normalne funkcije celic NK in citotoksičnih limfocitov T vodi v zmanjšan nastanek citotoksičnih granul in njihovo zmanjšano sproščanje v imunološko sinapso (5). Zaradi hiperaktivacije citotoksičnih limfocitov T, povzročene z IL-2, se poveča tudi koncentracija IFN- $\gamma$ , ki je odgovoren za neposredno aktivacijo makrofagov. Eno izmed možnih prijemališč sodobnega zdravljenja tako predstavljajo protitelesa proti IFN- $\gamma$ , ki so še v fazi kliničnega preizkušanja. Po drugi strani so nekatere raziskave pokazale, da IFN- $\gamma$  ni edini odgovorni dejavnik za razvoj HLH, saj se je slednja razvila tudi pri miškah s pomanjkanjem ali inhibicijo IFN- $\gamma$  (6).

Med gene, katerih raven se v poteku HLH zviša, uvrščamo gene za IL-6, IL-8, IL-10 in IL-17, torej provnetne citokine, ter antiapoptotske gene (7). Posledica značilnega utišanja in izražanja genov je motnja v uravnavanju imunskega odziva in njegovem utišanju, zaradi česar pride do prekomernega razmnoževanja imunskih celic in posledične konstitutivne aktivacije imunskega sistema (8). Motena je tudi s perforinom uravnavana negativna povratna zanka med citotoksičnimi limfociti T in antigen predstavitvenimi celicami. Nenormalen imunski odgovor vodi v prekomerno produkcijo citokinov (tj. citokinska nevihta oz. hipercitokinemija), aktivacijo makrofagov ter ne nazadnje poškodbo endotela in mielosupresijo, ki sta posledica limfocitne inva-

zije in vodita v življenje ogrožajoče krvavitve, okužbe in odpoved organov (9).

## EPIDEMIOLOGIJA

Prevalenca HLH pri otrocih je ocenjena na 1/100.000 s povprečno starostjo ob diagnozi 1,8 let. Incidenca HLH pri otrocih je ocenjena na 1–255/300.000 živorojenih in se razlikuje glede na geografsko lego. Razlike v pojavnosti med spoloma ni. Na Švedskem je incidenca HLH pri otrocih ocenjena na 1,2/1.000.000 letno, a je najverjetneje podcenjena predvsem na račun drugačnega razumevanja in opredelitve samega sindroma (10).

Pri odraslih se HLH pojavi v srednji starosti 50 let, incidenca pa je ocenjena na 1/2.000 bolnišničnih zdravljenj v terciarnem centru. Razdelitev po spolu kaže, da je nekoliko pogostejša pri moških (63%). Izjema je sindrom aktivacije makrofagov (angl. *macrophage activating syndrome*, MAS), ki se pogosteje pojavlja pri ženskah, kar je najverjetneje povezano z večjo prevalenco avtoimunskih bolezni pri ženskah. Večinoma (65 %) se pojavlja pri belcih, v 13 % pri temnopoltih, 10 % Azijcih in 7 % hispanicah (10).

## RAZDELITEV

Večina otrok s FLH ima opredeljene genetske napake, dedovane po Mendlovih zakonih. Večinoma gre za mutacije beljakovin, ki so potrebne za normalno funkcijo citotoksičnih limfocitov T in NK. Odrasla HLH je večinoma sekundarna in je posledica zunanjih dejavnikov. Nedavne raziskave pa so pokazale, da ima približno 15% odraslih bolnikov s HLH genetsko mutacijo, ki je skladna s FHL (10).

## Primarna (družinska) oblika hemofagocitne limfohistiocitoze

FHL lahko glede na mutacijo funkcionalne beljakovine razdelimo v pet razredov, genetske nepravilnosti v posameznem podrazredu prikazuje tabela 1 (3). Vse mutacije v sklopu FHL se dedujejo avtosomno recesivno (11).

Prva genetska nepravilnost, ki so jo odkrili v povezavi s FHL, je bila mutacija gena za perforin (*PRF1*), ki se pojavlja pri 58 % FHL (FHL-2). Bolniki, ki se jim klinična slika razvije kasneje v življenju, imajo vsaj minimalno izražanje perforina, medtem ko bolniki s klinično sliko v zgodnjem otroštvu

**Tabela 1.** Genetske nepravilnosti, povezane s primarno (družinsko) hemofagocitno limfohistiocitozo (3). FHL – primarna (družinska) hemofagocitna limfohistiocitoza (angl. *familiar hemophagocytic lymphohistiocytosis*), CHS – sindrom Chediak-Higashi (angl. *Chédiak-Higashi syndrome*), GS – sindrom Griscelli (angl. *Griscelli syndrome*), XLP – na kromosom X vezana limfoproliferativna bolezen, VT – vezikularni transport, SAP – serumski amiloid P, XIAP – X-vezan zaviralec apoptoze (angl. *X-linked inhibitor of apoptosis protein*).

| Podtip FHL | Kromosom     | Gen                    | Funkcija gena                           | Beljakovina |
|------------|--------------|------------------------|-----------------------------------------|-------------|
| FHL-1      | 9q21.3-q22   | neznani                | neznana                                 | neznana     |
| FHL-2      | 10q21-22     | <i>PRF1</i>            | sprožanje apoptoze                      | perforin    |
| FHL-3      | 17q25        | <i>UNC13D</i>          | priprava veziklov                       | munc13-4    |
| FHL-4      | 6q24         | <i>STX11</i>           | VT                                      | syntaxin11  |
| FHL-5      | 19p12.2-3    | <i>STXBP2 (UNC18B)</i> | VT                                      | munc18-2    |
| CHS-1      | 1q42.1-q42.2 | <i>LYST</i>            | VT                                      | lyst        |
| GS-2       | 15q21        | <i>RAB27A</i>          | VT                                      | rab27a      |
| XLP-1      | Xq25         | <i>SH2D1A</i>          | prenos signala in aktivacija limfocitov | SAP         |
| XLP-2      | Xq25         | <i>BIRC4</i>           | število signalne poti                   | XIAP        |

po navadi v svojih NK ali citotoksičnih limfocitih T perforina sploh nimajo. Do sedaj je bilo opredeljenih že 63 specifičnih mutacij v genu za perforin, od katerih je najpogostejši polimorfizem C272T (A91V), ki se pojavlja v obliki FHL s poznim potekom. Poleg FHL so s HLH povezani tudi nekateri sindromi imunske pomanjkljivosti, vključno s sindromom Chediak-Higashi, sindromom Griscelli in z na kromosom X vezano limfoproliferativno boleznijo (3).

## Sekundarna hemofagocitna limfohistiocitoza

S sekundarno HLH so povezana številna stanja, ki jih opisujemo v nadaljevanju. Mednje sodijo virusne okužbe (29 %), malignomi (27 %), druge okužbe (20 %), revmatološke bolezni (7 %) in sindromi imunske pomanjkljivosti (6 %) (3).

### Okužbe

Okužba lahko sproži tako sekundarno HLH kot tudi FLH. Vsi bolniki, ki zadostujejo merilom, bi morali biti testirani za okužbo, vključno z odvzemom hemo- in urinokulture, RTG prsnega koša in aktivnim iskanjem specifičnih okužb: virus Epstein-Barr (angl. *Epstein-Barr virus*, EBV), citomegalovirus, parvovirus B19, HIV in človeški herpes virus (6). HLH je lahko povezana tudi s HIV-povezanimi okužbami, kot sta pnevmocistoza in histoplazmoza (3). Najpogo-

stejše okužbe pri sekundarni hemofagocitni limfohistiocitozi prikazuje tabela 2.

Pomembno je, da razlikujemo med izolirano okužbo z EBV in okužbi z EBV pridruženo HLH. Pri izolirani okužbi vročina sčasoma upade, hepatosplenomegalija pa se postopoma izboljša. Citopenije so redkejše (trombocitopenija v 50 %, nevtropenija v 80 %) ter blažje in se normalizirajo v štirih tednih po okužbi. Blag hepatitis se razvije v 50–80 %, medtem ko so povišane vrednosti jetrnih encimov ponavadi blage in se hitro izboljšajo. V nekaterih primerih pride tudi do zlatenice, medtem ko koagulopatije pri izolirani okužbi praviloma ne najdemo (4).

Po drugi strani so bolniki z okužbo z EBV in pridruženo HLH bolnega izgleda; vročina je huda in se ne ublaži, citopenije pa so življenje ogrožajoče. Bolniki ponavadi potrebujejo transfuzijsko zdravljenje in so prednostno obravnavani zaradi suma na hematološke malignome. Hepatitis ima hujši potek, pogosta je tudi koagulopatija, zaradi prizadetosti jeter pa bolniki neredko potrebujejo presaditev teh. Prisotna je tudi nevrološka prizadetost, ki se kaže kot žariščni ali globalni deficiti, epileptični napadi ali spremenjeno duševno stanje (4).

### Malignom

Malignomi so povzročitelj sekundarne HLH v 27 %; med najpogostejše uvrščamo hema-

**Tabela 2.** Najpogostejše okužbe v sklopu sekundarne hemofagocitne limfohistiocitoze (3). HSV – virus herpes simpleks (angl. *herpes simplex virus*), HHV-8 – človeški herpes virus 8 (angl. *human herpes virus 8*), VZV – virus varičele zoster (angl. *varicella zoster virus*), CMV – citomegalovirus, HBV – virus hepatitisa B (angl. *hepatitis B virus*), HCV – virus hepatitisa C (angl. *hepatitis C virus*).

| Okužba           |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Virusi</b>    | adenovirus, parvovirus B19, HSV, HHV-8, VZV, CMV, HBV, HCV, rotavirus, enterovirus, virus coxsackie, virus gripe tipa A, B in C, hantavirus, HIV                                                                                                                                             |
| <b>Bakterije</b> | <i>Babesia</i> spp., <i>Bartonella</i> spp., <i>Borrelia</i> spp., <i>Brucella</i> spp., <i>Coxiella burnetii</i> , <i>Leptospira</i> spp., <i>Listeria</i> spp., <i>Mycoplasma pneumoniae</i> , <i>Mycobacterium avium</i> , <i>Mycobacterium bovis</i> , <i>Mycobacterium tuberculosis</i> |
| <b>Glive</b>     | <i>Candida</i> spp., <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Penicillium marneffeii</i>                                                                                                                                                                          |
| <b>Praživali</b> | <i>Leishmania</i> spp., <i>Plasmodium</i> spp., <i>Toxoplasma gondii</i>                                                                                                                                                                                                                     |

tološke malignome (94 %), ki jih delimo glede na tip celic, ki je prizadet (2, 3). Pri otrocih je HLH najpogostejše povezana z akutno levkemijo limfoblastov B, lahko pa nastopi tudi v prvih štirih tednih po presaditvi krvotvornih matičnih celic. Diagnoza te je izredno zapletena, saj klinične in laboratorijske najdbe praviloma sovpadajo s proliferacijo kostnega mozga (3). Pri odraslih je najpogostejše posledica ne-Hodgkinovega limfoma, medtem ko se s Hodgkinovim limfomom pojavi le v 6 % (2, 11). Čvrsti tumorji so redko vzrok sekundarne HLH (3 % (2).

### Avtoimunske bolezni

HLH se najpogostejše pojavi v sklopu sistemskega lupusa eritematozusa, lahko pa nastopi tudi kot resen in pogosto smrten zaplet pri otrocih s sistemskim juvenilnim idiosinkratskim artritisom ali pri odraslih s Stillovo boleznijo – v tem primeru ga imenujemo MAS. S HLH povezujemo tudi druge revmatske bolezni, kot so poliarteritis nodosa, mešana vezivnotkivna bolezen, pljučna sarkoidoza, sistemska skleroza in Sjögrenov sindrom. V izredno redkih primerih pa lahko nastane kot zaplet družinske mediteranske vročice ali periodičnih vročinskih sindromov, povezanih s kriopirinom (3, 12).

### KLINIČNA SLIKA

Ob triadi vztrajajoče visoke vročine, ki se ne odziva na zdravljenje z antibiotiki, patoloških testov jetrne funkcije in citopenije bi morali vedno izključiti HLH. Poleg omenjene triade jo opredeljujejo tudi hepatosplenomegalija, hemofagocitoza v kostnem mozgu, bezgavkah, jetrih ali vranici. V poteku bolezni lahko pride tudi do koagulopatije, plevralnega izliva ali ascitesa ter infiltracije osrednjega živčevja (OŽ). Pogosto opisujejo tudi kožne lezije, podkožne vozličke in pljučne infiltrate, ki so najpogostejše povezani s sekundarno obliko HLH in vključujejo z EBV okužene limfocite B. Z UZ trebuha lahko odkrijemo zadebeljeno steno žolčnika in hiperehogenost periportalnega področja (13).

Vročina je pri dojenčkih, predvsem nedonošenih, pogosto odsotna, poleg tega pa se nevtropenija in porabnostna hipofibrinogenemija s povišanim D-dimerom pri febrilnem bolniku ponavadi pojavita pozno v poteku bolezni in predstavljata znak alarma. Število trombocitov se dobro odzove na zdravljenje in skupaj s feritinom predstavlja napovedni dejavnik za ozdravitev (11).

### Prizadetost osrednjega živčevja

Do prizadetosti OŽ pride pri 37–73 % otrok in se kaže s simptomi, ki so v tretjini primerov prisotni ob diagnozi: zmanjšana stopnja zavesti, meningealni znaki, pareza možganskih živcev in epileptični napadi (11, 14). V likvorju najdemo pleocitozo v 10–47 % primerov, povišane vrednosti beljakovin pa v 11–41 %, vendar so slednje ponavadi le blago povišane (500–1.000 mg/l). Nobena raziskava še ni dokazala povezanosti izida bolezni s koncentracijo beljakovin v likvorju. Imajo pa praviloma bolniki z nevrološko simptomatiko in patološkimi najdbami v likvorju slabšo napoved izida bolezni (petletno preživetje 40 % namesto 67 %) (15). MRI glave nam pokaže polimorfne, multilobalne in obojestranske lezije, najpogostejše periventrikularno in redkeje v talamusu in bazalnih jedrih (13).

Diferencialna diagnoza je v primeru prizadetosti OŽ izredno široka in vključuje akutni diseminirani encefalomyelitis, akutno nekrotizirajočo encefalopatijo, vaskulitis OŽ, multiplo sklerozo, encefalitis, nevrološko manifestacijo revmatološke bolezni (npr. sistemskega eritematoznega lupusa) in genetsko pogojene vnetne bolezni OŽ (npr. interferonopatije) (15).

### DIAGNOSTIČNA MERILA

Prva merila za diagnozo HLH so bila objavljena leta 1991 in so temeljila na kliničnih in laboratorijskih najdbah pri švedskih otrocih, mlajših od 15 let, ki so imeli FHL. Prvotna merila so vključevala (1):

- vročino (vsaj sedem dni, vrhovi  $\geq 38,5^{\circ}\text{C}$ ),

- splenomegalijo (vsaj 3 cm pod rebrnim lokom),
- citopenijo (vsaj dve izmed anemije, nev-tropenije in trombocitopenije),
- hipertrigliceridemijo ( $\geq 2$  mmol/l) in/ali hipofibrinogenemijo ( $\leq 150$  mg/dl) in
- hemofagocitozo v kostnem mozgu, vranici ali bezgavkah.

Tri leta kasneje je ista skupina objavila protokol zdravljenja (HLH-94) za FHL s kombinirano kemo- in imunoterapijo. V nadaljevanju so ga razširili še s presaditvijo kostnega mozga, ki je doprinesla k boljšemu preživetju otrok s FHL. Desetletje kasneje je bil razvit nov protokol (HLH-2004) z razširjenimi diagnostičnimi merili in shemo zdravljenja (etopozid, deksametazon, ciklosporin in intratekalni metotreksat). HLH-2004 je ohranil vseh pet meril iz leta 1991 in dodal tri nova (1):

- povišan serumski feritin ( $\geq 500$   $\mu\text{g/l}$ ),
- topni receptor za interleukin 2 (angl. *soluble interleukin-2 receptor*, sIL-2-R)  $\geq 2.400$  IE/ml in
- znižana ali odsotna aktivnost NK.

Izmed osmih meril jih mora biti za diagnozo potrjenih vsaj pet. Ne glede na preostala diagnostična merila lahko diagnozo FLH potrdimo zgolj z molekularno diagnostiko, ki je skladna s HLH. Poleg omenjenih diagnostičnih meril so pogoste ( $> 80\%$  bolnikov) najdbe tudi hipoalbuminemija, zvišani jetrni encimi in koagulopatija (1).

Od feritina občutljivejši označevalec HLH je urinski  $\beta_2$ -mikroglobulin (U- $\beta_2$ MG), ki pa ni vključen v nobena diagnostična merila. Mikroglobulin  $\beta_2$  je molekula razreda HLA I in se izraža v primeru povečanega izločanja IFN- $\gamma$ . Zgornja meja U- $\beta_2$ MG je manj kot 200  $\mu\text{g/g}$  kreatinina pri zdravih odraslih, pri bolnikih s HLH pa lahko naraste tudi do 10.000  $\mu\text{g/g}$  kreatinina. Pri otrocih so mejne vrednosti drugačne, normalne vrednosti U- $\beta_2$ MG pa so bistveno višje: pri dvomesečnih otrocih je zgornja meja

U- $\beta_2$ MG nekaj 1.000, pri trimesečnih otrocih pa več 100  $\mu\text{g/g}$  kreatinina (9).

Revmatologi so za HLH v sklopu sistemskega juvenilnega idiopatskega artritisa razvili svoja merila, pri katerih mora imeti bolnik poleg povišane telesne temperature in znanega ali sumljenega juvenilnega idiopatskega artritisa tudi (16):

- hiperferitinemijo ( $> 684$   $\mu\text{g/l}$ ) in
- vsaj dve izmed sledečih meril:
  - trombocitopenija ( $\leq 181 \times 10^9/\text{l}$ ),
  - povišane vrednosti aspartat transaminaze ( $> 48$  IE/l),
  - hipertrigliceridemija ( $> 156$  mg/dl oz. 1,76 mmol/l) ali
  - hipofibrinogenemija ( $\leq 3,6$  g/l).

Poleg omenjenih diagnostičnih meril obstajajo tudi specifični testi, predstavljeni v nadaljevanju, ki v primeru negotovosti bistveno prispevajo k diagnozi HLH (17).

## Pretočna citometrija

Z uporabo pretočne citometrije merimo izražanje perforina/grancima B in s signalizacijo limfocitne aktivacijske molekule povezanih beljakovin (angl. *signaling lymphocytic activation molecule* (SLAM)-*associated protein*, SAP) na površini celic in znotrajcelično izražanje X-vezanega zaviralca apoptoze (angl. *X-linked inhibitor of apoptosis protein*, XIAP). Določitev SAP in XIAP je izrednega pomena pri hitri diagnozi moških z omenjenima FLH (17).

## Funkcija naravnih celic ubijalk

Celice NK, pridobljene iz periferne krvi, testiramo na sposobnost lize s kromom obremenjenih tarčnih celic. V primeru aktivne HLH je funkcionalnost aktivnih NK ponavadi oslABLJENA (17).

## CD107a

Kadar stimuliramo citotoksične limfocite T in NK, ti sprožijo eksocitozo mešičkov in postavijo CD (angl. *cluster of differentiation*) 107a na svoji površini. Slednjega lahko

zaznamo s pomočjo pretočne citometrije. V primeru, da NK niso sposobne degranulacije zaradi intrinzične motnje v citotoksični poti, ne pride do izpostavitve CD107a na njihovi površini. Test je negativen v primeru pomanjkanja perforina (pri FHL-2), XLP in pri sekundarni HLH (17).

## ZDRAVLJENJE

V zdravljenju HLH vključujemo imunosupresijska in imunomodulatorna zdravila, modifikatorje biološkega odgovora, zdravljenje vzroka sekundarne HLH in presaditev krvotvornih matičnih celic. Cilj zdravljenja je zavreti prekomerno vnetje in moteno uravnavanje imunskega sistema, ki nezdravljeno vodi v življenje ogrožajočo poškodbo organov in dovzetnost za smrtonosne okužbe (13).

Med podporno zdravljenje uvrščamo (18):

- ustrezno širokospektralno antibiotično zdravljenje, dokler niso na voljo rezultati odvzetih kultur,
- profilakso s trimetoprim/sulfametoksazolom (dva- do trikrat tedensko),
- peroralni antimikotik med indukcijskim zdravljenjem,
- antivirno zdravljenje v primeru sočasne potekajoče virusne okužbe ter
- intravenske imunoglobuline (0,5 g/kg iv.) vsake štiri tedne med indukcijskim in nadaljevalnim zdravljenjem.

## Indukcijsko zdravljenje

Indukcijsko zdravljenje obsega osem tednov zdravljenja in vključuje etopozid, deksametazon in ciklosporin A (CSA). Pri bolnikih s prizadetostjo OŽ je potrebno tudi intratekalno zdravljenje. Odmerki so preračunani na  $m^2$  tudi pri otrocih, lažjih od 10 kg (18).

### Etopozid

V prvih dveh tednih ga vnašamo 150 mg/ $m^2$  intravensko dvakrat tedensko. V primeru, da je kostni mozeg hipocelularen in število

levkocitov manjše od  $0,5 \times 10^9/l$ , lahko vnos etopozida v prvih dveh tednih opustimo. V naslednjih šestih tednih ga v enaki dozi (150 mg/ $m^2$  iv.) vnašamo enkrat tedensko. Njegovi neželeni učinki vključujejo mielosupresijo (levkopenija, trombocitopenija), hipotenzijo v primeru prehitre infuzije, poškodbo jeter, slabost, bruhanje, vročino, glavobol, bolečine v trebuhu, drisko, anoreksijo, alopecijo in alergijske reakcije, izjemno redko pa tudi sekundarne malignome (levkemija, mielodisplastični sindrom) (18).

### Deksametazon

V prvih dveh tednih ga vnašamo 10 mg/ $m^2$ /dan, nato ga na dva tedna nižamo na polovico prejšnje doze (od tretjega do četrtega tedna 5 mg/ $m^2$ /dan, od petega do šestega tedna 2,5 mg/ $m^2$ /dan in v sedmem tednu 1,25 mg/ $m^2$ /dan). V osmem tednu zdravljenja z deksametazonom ukinemo. Svetovana je sočasna zaščita želodčne sluznice z ranitidinom ali drugimi gastroprotektivnimi učinkovinami. Med neželenimi učinki so najpomembnejši povečan apetit, centripetalna debelost, zadrževanje tekočin, hiperglikemija, imunosupresija, miopatija, osteoporoza, aseptična nekroza, peptični ulkus, vnetje trebušne slinavke, mentalna spremenjenost, katarakta, povišan krvni tlak, upočasnjena rast, amenoreja, slabše celjenje ran in atrofija podkožja (18).

### Ciklosporin A

Doza je odvisna od koncentracije CSA v krvi, ciljna vrednost znaša okoli 200  $\mu g/l$ . Začetna doza v prvem tednu je v primeru normalnega ledvičnega delovanja 6 mg/kg/dan, ki jo praviloma razdelimo v dva odmerka. Izmed neželenih učinkov so najpogostejše opisani nefrotoksičnost, povišan krvni tlak, hipertrihoza, slabost, bruhanje, anoreksija, hiperplazija dlesni, jetrna disfunkcija s povišanimi transaminazami in bilirubinom, tremor, hipomagneziemija, utrujenost, parestezije itd. (18).

### **Intratekalna injekcija metotreksata in prednizolona**

Likvor pregledamo ob diagnozi in dva tedna po začetku zdravljenja. Kadar po dveh tednih ugotovimo klinične dokaze za napredujočo nevrolško simptomatiko ali se rezultati likvorske analize (število celic in beljakovin) niso izboljšali, začnemo s štiritredenskim intratekalnim zdravljenjem. Pri tem moramo biti pozorni na bolnike s povišanim znotrajlobanjskim tlakom. Doza metotreksata znaša 6 mg pri mlajših od enega leta, 8 mg pri starosti od enega do dveh let, 10 mg pri starosti od dveh do treh let in 12 mg pri starejših od treh let. Prednizolon z enakim ozirom na starost odmerjamo po 4, 6, 8 in 10 mg (18).

### **Nadaljevalno zdravljenje**

Z nadaljevalnim zdravljenjem nadaljujemo do vključno 40. tedna po začetku indukcijskega zdravljenja. Njegov namen je ohranjanje bolnika v remisiji. Pri nekaterih otrocih se bolezen v tem času poslabša, zato je potrebno povišati odmerke in poostriiti shemo zdravljenja. Pri bolnikih s sekundarno HLH se za nadaljevalno zdravljenje odločimo le v primeru, da indukcijsko zdravljenje ni ozdravilo bolezni. Nadaljevalno zdravljenje vključuje (18):

- etopozid (150 mg/m<sup>2</sup> iv. vsak drugi teden),
- deksametazon (10 mg/m<sup>2</sup> tridnevni pulzi vsak drugi teden) in
- CSA (ciljna vrednost v krvi je 200 µg/l, treba je spremljati ledvično funkcijo).

### **Presaditev krvotvornih matičnih celic**

Edino pravo možnost ozdravitve v primeru FLH predstavlja alogenska presaditev krvotvornih matičnih celic. Glavno težavo predstavlja iskanje sprejemljivega darovalca in ohranjanje bolnika živega, dokler presaditve ne izvedemo. Slednjo izvajamo v oknu, ko bolezen ni aktivna (18). Druge indikacije za presaditev krvotvornih matičnih celic so tudi hematološki maligno-

mi, ki so povzročili sekundarno HLH, in prizadetost OŽ (19). V primeru sekundarne HLH jo po osemtedenskem zdravljenju in resoluciji opravimo le v primeru reaktivacije bolezni (18).

Pred presaditvijo matičnih celic je potrebna mielo- ali nemieloablativna priprava z zdravili. Zaradi možnosti razvoja reakcije presadka proti gostitelju uvedemo CSA, ki ga ukinemo po šestih mesecih, v kombinaciji z metotreksatom (1., 3., 6. in 11. dan) ali mikofenolat mofetilom prvih 28 dni po presaditvi v primeru oslABLJENE jetrne funkcije (20).

Številne raziskave so dokazale povečano umrljivost ob uporabi mieloablativnih shem zdravljenja (angl. *myeloablative conditioning*, MAC), zato se novejše raziskave osredotočajo na prednosti shem z zmanjšano intenziteto zdravljenja (angl. *reduced-intensity conditioning*, RIC). Slednje imajo manjšo toksičnost, a večjo verjetnost za razvoj mešanega himerizma (21). Tveganje za mešani himerizem je odvisno od bolezni, izvora matičnih celic in sheme zdravljenja z alemtuzumabom. Obstajajo raziskave, ki nakazujejo, da je zadostna že vsaditev 10–20 % celic, ki izražajo perforin, da se prepreči razvoj HLH. Po drugi strani naj bi v 20–30 % himerizem deloval zaščitno pred pozno reaktivacijo, kar dodatno podpira domnevo, da je shema RIC v primerjavi s shemo MAC primernejši pristop k alogenski presaditvi krvotvornih matičnih celic (22).

### **Tarčna zdravila**

Obstaja omejeno število primerov refraktarnih HLH, ki so bile uspešno zdravljene z infliksimabom, anakinro, alemtuzumabom in daklizumabom, trenutno pa še potekajo raziskave o uporabi zdravil proti IFN-γ (23).

Ruksolitinib je zaviralec Janusove kinaze (JAK) 1 in JAK2, ki ju aktivirajo citokini, še posebej IFN-γ, IL-2 in IL-6, ki so glavni mediatorji vnetja v patofiziologiji HLH. Omenjeni citokini se vežejo na receptorje JAK in aktivirajo transkripcijske dejavnike



družine STAT (angl. *signal transducer and activator of transcription*), kar vodi v prepis tarčnih genov, odgovornih za vnetje. Blokada opisane poti zmanjša citokinsko signalizacijo in vnetje. Ruksolitinib je že registriran za zdravljenje policitemije rubre vere in mielofibroze pri odraslih. Nedavne raziskave pa so odkrile, da zmanjša simptome pri številnih provnetnih boleznih, kot so revmatoidni artritis, ulcerozni kolitis, mieloproliferativne bolezni, luskavica in bolezen presadka proti gostitelju, kaže pa tudi potencial za zdravljenje sekundarne HLH (23).

### **NAPOVED IZIDA BOLEZNI**

Brez zdravljenja HLH preživi le 5 % bolnikov, srednje preživetje znaša dva meseca. Z novjšimi kemoterapevtskimi shemami in protokoli se je preživetje zvišalo na 54 %, vendar ostane v 28 % bolezen klinično pomembna, 19 % bolnikov pa ima celo pozne nevrološke zaplete (24). Med ugodne dejavnike za napoved izida bolezni uvrščamo FHL,

nižjo starost (< 50 let), krajši čas do začetka zdravljenja, padec povišane telesne temperature po treh dneh od diagnoze, nizke vrednosti histiocitov v kostnem mozgu, višje vrednosti fibrinogena ter odsotnost diseminirane intravaskularne koagulacije ali kate-  
tere koli druge koagulopatije (25).

### **ZAKLJUČEK**

HLH je redek, vendar življenje ogrožajoč klinični sindrom, ki je zaradi prekrivajočih se bolezenskih stanj in neznačilne klinične slike pogosto spregledan. Nanj moramo pomisliti ob vztrajajoči vročini, ki se ne izboljša po uvedbi antibiotika, hepatosplenomegaliji in citopeniji, še posebej ko omenjeno triado spremljajo okužba, malignom ali avtoimunska bolezen. Z boljšim razumevanjem patogeneze HLH se razvijajo tako specifični diagnostični testi kot tudi nova, predvsem tarčna zdravila, s čimer se viša ne samo delež preživelih, ampak tudi tistih s povrnjeno kakovostjo življenja.

## LITERATURA

- Otrock ZK, Daver N, Kantarjian HM, et al. Diagnostic challenges of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk.* 2017; 17S: S105–S10.
- Vick EJ, Patel K, Prouet P, et al. Proliferation through activation: hemophagocytic lymphohistiocytosis in hematologic malignancy. *Blood Adv.* 2017; 1 (12): 779–91.
- George MR. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: review of etiologies and management. *J Blood Med.* 2014; 5: 69–86.
- Marsh RA. Epstein-Barr virus and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Front Immunol.* 2018; 8: 1902.
- Rosado FG, Kim AS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: an update on diagnosis and pathogenesis. *Am J Clin Pathol.* 2013; 139 (6): 713–27.
- Brise E, Wouters CH, Andrei G, et al. How viruses contribute to the pathogenesis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Front Immunol.* 2017; 8: 1102.
- Filipovich AH, Chandrakasan S. Pathogenesis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015; 29 (5): 895–902.
- Lovisari F, Terzi V, Lippi MG, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis complicated by multiorgan failure: a case report. *Medicine (Baltimore).* 2017; 96 (50): e9198.
- Morimoto A, Nakazawa Y, Ishii E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: pathogenesis, diagnosis, and management. *Pediatr Int.* 2016; 58 (9): 817–25.
- Al-Samkari H, Berliner N. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Annu Rev Pathol.* 2018; 13: 27–49.
- Janka GE, Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes – an update. *Blood Rev.* 2014; 28 (4): 135–42.
- Sepulveda FE, de Saint Basile G. Hemophagocytic syndrome: primary forms and predisposing conditions. *Curr Opin Immunol.* 2017; 49: 20–6.
- Imashuku S. Clinical features and treatment strategies of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Crit Rev Oncol Hematol.* 2002; 44 (3): 259–72.
- Wysocki CA. Comparing hemophagocytic lymphohistiocytosis in pediatric and adult patients. *Curr Opin Allergy Clin Immunol.* 2017; 17 (6): 405–13.
- Horne A, Wickström R, Jordan MB, et al. How to treat involvement of the central nervous system in hemophagocytic lymphohistiocytosis? *Curr Treat Options Neurol.* 2017; 19 (1): 3.
- Sen ES, Steward CG, Ramanan AV. Diagnosing hemophagocytic syndrome. *Arch Dis Child.* 2017; 102 (3): 279–84.
- Degar B. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2015; 29 (5): 903–13.
- Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Study Group. HLH-2004. Stockholm: Histiocyte Society; 2004.
- Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, et al. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood.* 2011; 118 (15): 4041–52.
- Seo JJ. Hematopoietic cell transplantation for hemophagocytic lymphohistiocytosis: recent advances and controversies. *Blood Res.* 2015; 50 (3): 131–9.
- La Rosée P. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2015; 2015 (1): 190–6.
- Wang Y, Wang Z. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Curr Opin Hematol.* 2017; 24 (1): 54–8.
- Brogliè L, Pommert L, Rao S, et al. Ruxolitinib for treatment of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Adv.* 2017; 1 (19): 1533–6.
- Queiroz AF, Benevides GN, Fernandes ICOF, et al. Hemophagocytic syndrome: a dilemma chasing the intensivists. *Autops Case Rep.* 2015; 5 (1): 11–9.
- Akenroye AT, Madan N, Mohammadi F, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis mimics many common conditions: case series and review of literature. *Eur Ann Allergy Clin Immunol.* 2017; 49 (1): 31–41.