

lek. Magdalena Wołowicz

**Charakterystyka kliniczna dzieci
z limfohistiocytozą hemofagocytarną**

**Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych i nauk o zdrowiu
w dyscyplinie nauki medyczne**

Promotor: dr hab. n. med. Iwona Malinowska

Miejsce wykonania pracy: Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii
i Onkologii WUM



Obrona rozprawy doktorskiej przed Radą Dyscypliny Nauk Medycznych
Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego

Warszawa 2020 r.

Malinowska
M. Wołowicz

Streszczenie

Wstęp

Limfohistiocytoza hemofagocytarna (ang. *Hemophagocytic lymphohistiocytosis*, HLH) jest stanem ciężkiego, zagrażającego życiu zapalenia, wywołanego nadmierną, przedłużoną i nieefektywną odpowiedzią immunologiczną. Wyróżnia się postać pierwotną (uwarunkowaną genetycznie) oraz wtórną (nabytą) choroby. Główną rolę w patogenezie pierwotnej postaci HLH odgrywa uwarunkowany genetycznie defekt cytotoksyczności zależnej od ziaren. Postaci wtórne rozwijają się w następstwie intensywnej aktywacji układu immunologicznego w przebiegu zakażeń, chorób nowotworowych, autoimmunizacyjnych lub innych.

HLH charakteryzuje się szerokim spektrum objawów klinicznych, od przedłużającej się gorączki do zespołu niewydolności wielonarządowej. Kryteria rozpoznania HLH obejmują obecność mutacji typowej dla HLH lub występowanie minimum 5 z 8 nieprawidłowości: gorączki, splenomegalii, cytopenii, hipertriglicerydemii i/lub hipofibrynogemii, hemofagocytozy, niskiej aktywności komórek NK, hiperferrytynemii, podwyższonego stężenia sIL-2R.

Przebieg choroby w postaciach pierwotnych i wtórnych jest podobny, a rokowanie bardzo poważne. Brak właściwego leczenia prowadzi nieuchronnie do śmierci pacjentów z wrodzonymi postaciami HLH oraz w większości przypadków wtórnych.

Terapia każdej formy HLH opiera się na wygaszaniu pobudzenia układu odpornościowego oraz na usunięciu czynnika wywołującego chorobę, a w przypadkach genetycznie uwarunkowanych na korekcji istniejącego defektu poprzez transplantację hematopoetycznych komórek macierzystych.

Zapadalność na pierwotne HLH u dzieci wynosi 0,12-0,15 na 100 000 na rok. Opublikowane dane z różnych krajów wskazują na różnice w zakresie typu mutacji i częstości występowania HLH w różnych populacjach i grupach etnicznych. Brak jest w piśmiennictwie danych na temat podłoża genetycznego rozwoju HLH w Polsce.

Celem realizowanej pracy jest ustalenie podłoża rozwoju HLH u dzieci w Polsce, analiza przebiegu klinicznego choroby z uwzględnieniem odpowiedzi na leczenie, częstości występowania nawrotów choroby oraz prawdopodobieństwa przeżycia w całej badanej grupie i w poszczególnych postaciach HLH.

Material i metody

Badaną grupę stanowiło 63 pacjentów z HLH diagnozowanych i leczonych w 12 pediatrycznych ośrodkach hematologicznych w Polsce w okresie od sierpnia 2008 do kwietnia 2018 r.

Pacjenci poddani byli badaniu podmiotowemu i przedmiotowemu. Badania laboratoryjne wykonywano zgodnie z protokołem HLH-2004 i obejmowały one morfologię krwi z rozmazem, stężenie fibrynogenu, ferrytyny, analizę mielogramu oraz badania immunologiczne: test cytotoksyczności, test degranulacji oraz oznaczenie wewnątrzkomórkowego stężenia perforyny. Ponadto wykonywano badania obrazowe OUN, punkcję łądźwiową, a w przypadku podejrzenia choroby nowotworowej biopsję i ocenę histopatologiczną węzłów chłonnych. Badania w kierunku zakażenia wirusami EBV i CMV wykonywane były metodą PCR, a badania w kierunku zakażenia innymi wirusami metodą serologiczną. Badania molekularne wykonywano metodą NGS i potwierdzano sekwencjonowaniem bezpośrednim. Rozpoznanie HLH stawiane było na podstawie kryteriów HLH-2004.

Pacjenci leczeni byli zgodnie z aktualnym protokołem HLH-2004. Po 8 tygodniach leczenia indukcyjnego oceniano wstępną odpowiedź na leczenie na podstawie kryteriów określonych w protokole. Następnie analizowano dalszy przebieg kliniczny choroby, w tym wystąpienie nawrotu oraz kwalifikację do SCT. Ponadto przeprowadzono analizę przeżycia metodą Kaplana-Meiera w całej badanej grupie i w poszczególnych postaciach HLH.

Wyniki

W badanej grupie wiek rozpoznania wynosił od 10 dni do 17 lat i 10 miesięcy (mediana 3,96 lat). Dominującymi objawami klinicznymi oraz laboratoryjnymi stwierdzanymi w czasie rozpoznania były gorączka i powiększenie śledziony oraz pancytopenia i hiperferrytynemia. U 13 pacjentów stwierdzono zajęcie OUN.

W badanej grupie zidentyfikowano 14 pacjentów (22,2%) z mutacjami typowymi dla HLH w genach *PRF1*, *UNC13D*, *SH2D1A* i *BIRC4*. U tych pacjentów rozpoznano pierwotną postać HLH, w tym u 10 pacjentów postać rodzinną (FHL) oraz u 4 pacjentów zespół limfoproliferacyjny sprzężony z chromosomem X (XLP). U pozostałych 49 pacjentów (77,8%) rozpoznana została wtórna postać HLH.

W grupie pacjentów z FHL u 9 rozpoznano FHL3 spowodowaną mutacją *UNC13D*. FHL2 spowodowana mutacją *PRF1* potwierdzona została u 1 pacjentki. U żadnego pacjenta z

FHL nie wykryto ewidentnego czynnika infekcyjnego wywołującego wystąpienie choroby. U wszystkich pacjentów z XLP czynnikiem tym było zakażenie EBV.

W grupie pacjentów z wtórną postacią HLH u 6 z nich podłożem rozwoju HLH była choroba nowotworowa, u 7 - choroba autoimmunizacyjna, u 1 pacjenta - wrodzona choroba metaboliczna, u pozostałych 35 pacjentów rozpoznano HLH na podłożu infekcyjnym. Najczęstszym czynnikiem wywołującym I-HLH było zakażenie EBV. U 4 pacjentów z wtórną HLH wykryto warianty genów HLH.

Po 8 tygodniach leczenia wg protokołu HLH-2004 u 6 pacjentów z FHL i 3 z XLP uzyskano remisję choroby. Nawrót HLH obserwowano u 1 pacjenta z FHL i 2 pacjentów z XLP. W grupie pacjentów z wtórną HLH remisję choroby uzyskano u 43 (89,6%), ale u 9 z nich wystąpił nawrót choroby, w tym u 8 z I-HLH.

Łącznie 28 pacjentów zostało zakwalifikowanych do SCT, w tym 14 pacjentów z pierwotną postacią HLH i 14 pacjentów z wtórną postacią HLH, zakwalifikowanych na podstawie przebiegu klinicznego choroby.

Przeszczepienie krwiotwórczych komórek macierzystych przeprowadzono u 22 spośród 28 pacjentów zakwalifikowanych do tej procedury. Łącznie 6 spośród 28 zakwalifikowanych pacjentów (21%) zmarło przed wykonaniem SCT. Spośród pacjentów niezakwalifikowanych do SCT w chwili zakończenia obserwacji żyło 30.

Czas obserwacji pacjentów z badanej grupy wyniósł od 0 do 9,15 lat (mediana 1,95 lat). W chwili zakończenia obserwacji żyło 47 spośród 63 dzieci, a mediana czasu przeżycia wynosiła 2,29 lat. Prawdopodobieństwo całkowitego przeżycia 5-letniego w badanej grupie pacjentów wyniosło 62,4%. U pacjentów poddanych SCT prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia wyniosło 67%, w tym w grupie FHL 66,7%. Prawdopodobieństwo 5-letniego przeżycia u pacjentów bez wskazań do SCT w grupie I-HLH wyniosło 79,6%, w M-HLH 50% a w MAS 100%.

Wnioski

Przedstawione w tej pracy wyniki badań pozwalają na sformułowanie następujących wniosków:

1. Najczęściej występującą postacią HLH jest I-HLH w przebiegu zakażenia EBV.
2. Najczęściej występującym typem rodzinnej postaci HLH jest FHL3 spowodowana mutacjami w genie *UNC13D*.

3. Rodzinne postaci HLH występują u dzieci w wieku niemowlęcym, mają ciężki przebieg kliniczny, często z zajęciem OUN, brakiem remisji po leczeniu, wysokim ryzykiem zgonu przed przeszczepieniem macierzystych komórek krwiotwórczych.
4. Objawy XLP występują u dzieci w wieku od 3 do 5 lat najczęściej w przebiegu zakażenia EBV.
5. Dominującymi objawami klinicznymi i laboratoryjnymi w przebiegu HLH są gorączka, splenomegalia, pancytopenia i hiperferrytynemia.
6. Dzięki kompleksowej diagnostyce, obejmującej procedury uwzględniane w kryteriach diagnostycznych HLH-2004 oraz poszukiwanie czynników etiologicznych i wyzwalających HLH, możliwe jest ustalenie właściwego rozpoznania u większości pacjentów.
7. W diagnostyce HLH wykonanie szybkich testów immunologicznych, takich jak test degranulacji i oznaczenie ekspresji perforyny oraz białek SAP i XIAP, pozwala na ustalenie rozpoznania pierwotnego HLH.
8. Nawroty HLH występują najczęściej w pierwotnych postaciach HLH.
9. Przeszczepienie komórek macierzystych wykazuje największą skuteczność w pierwotnych postaciach HLH, jednak wysoka śmiertelność pacjentów przed SCT sugeruje konieczność poszukiwania nowych metod leczenia przeciwwzapalnego.
10. W Polsce dostępne są obecnie wszystkie metody badań immunologicznych i molekularnych pozwalające na przeprowadzenie diagnostyki HLH zgodnie ze standardami Histiocyte Society i Polskiego Towarzystwa Hematologii i Onkologii Dziecięcej.