

KAZUISTIKA

Sekundární hemofagocytující lymfohistiocytóza při infekci virem SARS-CoV-2

Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in SARS-CoV-2 infection

Radka Závodná, Lucie Šrámková, Martina Suková, Jan Starý

Klinika dětské hematologie
a onkologie 2. LF UK a FN
Motol

SOUHRN

Závodná R, Šrámková L, Suková M, Starý J. Sekundární hemofagocytující lymfohistiocytóza při infekci virem SARS-CoV-2

Hemofagocytující lymfohistiocytóza neboli HLH je heterogenní skupina onemocnění charakterizovaná nekontrolovatelnou aktivací a proliferací T lymfocytů a makrofágů, která vede k nadprodukci cytokinů a k hemofagocytóze v kostní dřeni a tkáních. Jedná se o stav, který bez adekvátní a včasné léčby ohrožuje pacienta na životě. V našem sdělení představujeme kazuistiku kojence, který byl u nás na klinice hospitalizován s rozvojem sekundární HLH při infekci virem SARS-CoV-2. Covid-19 přináší do medicíny celou řadu výzev, jednou z nich je i včasné rozpoznání vzácných komplikací, které pacientovi přináší.

Klíčová slova: hemofagocytující lymfohistiocytóza, covid-19, pancytopenie, hepatosplenomegalie

SUMMARY

Závodná R, Šrámková L, Suková M, Starý J. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in SARS-CoV-2 infection

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is heterogeneous disease characterized by uncontrolled proliferation of T lymphocytes and macrophages result of which is overproduction of cytokines and hemophagocytosis. Without adequate therapy this condition could be life-threatening. We present a case of infant with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis in SARS-CoV-2 infection.

Key words: hemophagocytic lymphohistiocytosis, COVID-19, pancytopenia, hepatosplenomegaly

Korespondenční adresa:

MUDr. Radka Závodná
Klinika dětské hematologie a onkologie 2. LF UK a FN Motol
V Úvalu 84/1
150 06 Praha 5
Radka.Zavodna@fnmotol.cz

ÚVOD

Hemofagocytyjící lymfohistiocytóza (HLH) je heterogenní skupina onemocnění charakterizovaná nekontrolovatelnou aktivací a proliferací T lymfocytů a makrofágů, která vede k nadprodukci cytokinů a k hemofagocytóze v kostní dřeni a tkáních. HLH vzniká na podkladě vrozené (primární) či získané (sekundární) poruchy imunitního systému, který reaguje neadekvátně, aniž by byl schopen vytvořit účinnou imunitní odpověď. Klinicky se jedná o syndromický obraz charakterizovaný horečkami, hepatosplenomegalií, rychle se rozvíjející pancytopenií v důsledku hemofagocytózy. Bez léčby vede rychle k multiorgánovému selhání. K laboratorním markerům HLH patří hypertriacylglycerolemie, hypofibrinogenemie, hyperferitinemie a hemofagocytóza v kostní dřeni.⁽¹⁾ U pacientů nalézáme zvýšené hladiny cytokinů, typicky interferonu gama (IFN- γ), tumor necrosis faktoru alfa (TNF- α), dále interleukinů (IL), jako je IL-6, IL-10 a IL-12, a také solubilního receptoru pro IL-2 (sCD25).⁽²⁾

Primární HLH je typická pro raný dětský věk, ale může postihovat i mladé dospělé. Je podmíněna mutacemi v genech účastnících se v cytotoxických funkcích NK buněk a T lymfocytů. Mezi primární HLH řadíme: familiární hemofagocytyjící lymfohistiocytózu (FHL), Chediakův–Higashiho syndrom, Griscelliho syndrom a X-vázaný lymfoproliferativní syndrom (XLP). Bližší specifikace těchto onemocnění není cílem tohoto textu.

Se sekundární HLH se setkáváme v každém věku, může být vyvolána různými spouštěči, jako jsou infekce, malignita či autoimunitní onemocnění. Z infekcí se nejčastěji jedná o herpetické viry, a to zejména EBV, ale vyvolávajícím stimulem mohou být i bakterie, parazité či houby.⁽¹⁾

Rozlišení mezi primární a sekundární HLH je zásadní vzhledem k určení léčebného postupu. Rychlá diagnostika a včasné zahájení cytotoxické (anticytokinové) terapie jsou zásadní pro prognózu. V diferenciální diagnostice HLH myslíme zejména na sepsi, hematologické malignity, některé metabolické vady a histiocytózu z Langerhansových buněk (LCH). Na rozdíl od LCH není v případě HLH populace histiocytů klonální.^(2,4)

Zásadním léčebným zásahem u HLH je potlačení cytokinové bouře. Využíváme k tomu kombinovanou cytotoxickou léčbu, která zahrnuje dexamethason, cyklosporin A a etoposid (protokol HLH-2004). Kauzální je pak alogenní transplantace kmenových buněk krvetvorby. U sekundární HLH lze od cytotoxické léčby (různé intenzity) očekávat úplné potlačení projevů HLH, nezbytná je léčba příčiny.⁽³⁾

Akutní infekční onemocnění způsobené SARS-CoV-2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2) se označuje covid-19 a bylo poprvé identifikováno ve Wu-chanu v Číně. V březnu 2020 vyhlásila Světová zdravotnická organizace pandemii covidu-19. K 6. 6. 2021 uvádí WHO přes 170 milionů potvrzených případů a přes 3,5 milionu úmrtí ve spojitosti s touto infekcí.⁽⁵⁾ Ve světové literatuře jsou popisovány případy těžkého průběhu covidu-19, kdy pacienti splnili diagnostická kritéria pro HLH.^(2,6) V našem sdělení uvádíme případ kojence, kterého jsme hospitalizovali na naší klinice s rozvojem sekundární HLH při infekci virem SARS-CoV-2.

KAZUISTIKA

2,5měsíční dívka byla původně přijata na dětské oddělení spádové nemocnice s obrazem těžké dehydratace po krátké anamnéze vodnatých průjmu a odmítání kojení. Jeden den před hospitalizací byla u dítěte PCR testem prokázána pozitivita SARS-CoV-2. Vyšetření bylo indikováno při pozitivním nález u symptomatické kojící matky. Při přijetí byla dívka spavá a měla naznačenou centralizaci oběhu. Byla zahájena parenterální a následně i perorální rehydratace. Po 16 hodinách hospitalizace došlo k poruše vědomí, hypertonu a rytmickým záškubům pravé horní a dolní končetiny provázeným tachykardií (180 tepů za minutu) a desaturacemi k 60 %. Byly podány benzodiazepiny, po kterých došlo k odeznění křečí a obnově vědomí. Pacientka byla následně přeložena na vyšší pediatrické pracoviště.

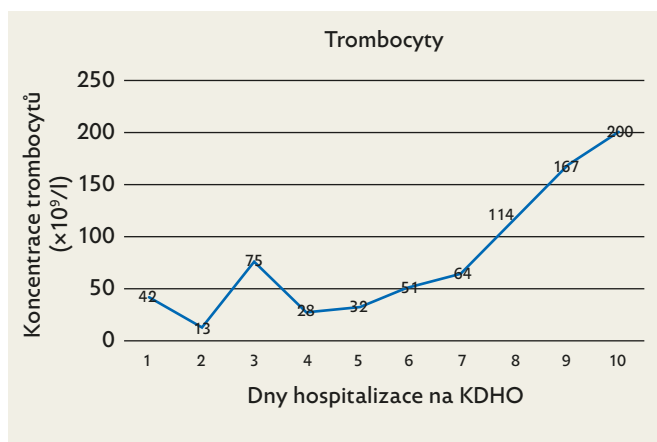
Zde laboratorně dominovala metabolická acidóza s nízkými zánětlivými parametry a rychle se rozvíjející pancytopenií (anemie, leukopenie, trombocytopenie). Lumbální punkce a vyšetření na metabolické vady neprokázaly příčinu tonicko-klonických křečí, pravděpodobně se jednalo o projev metabolického rozvratu při dehydrataci. Vyšetření na původce virových gastroenteritid bylo negativní. Jediným prokázaným patogenem zůstal tedy v té době SARS-CoV-2. Klinický stav se během hodin dále zhoršil, došlo k prudké elevaci zánětlivých parametrů. Pacientka byla zajištěna empirickou dvoukombinací antibiotik (ampicilin/sulbaktam a gentamicin). Podezření na enterogenní sepsi bylo potvrzeno nálezem *E.coli* v hemokultuře. Při rychle progredujícím septickém stavu byl do antibiotické kombinace přidán meropenem. Laboratorně byly přechodně patrné známky zatížení myokardu – elevace troponinu a NT-proBNP, což bylo hodnoceno jako přetížení oběhu tekutinami. Z dalších laboratorních markerů byla

Tab. 1: Vývoj laboratorních nálezů v průběhu hospitalizace na Klinice dětské hematologie a onkologie FN Motol

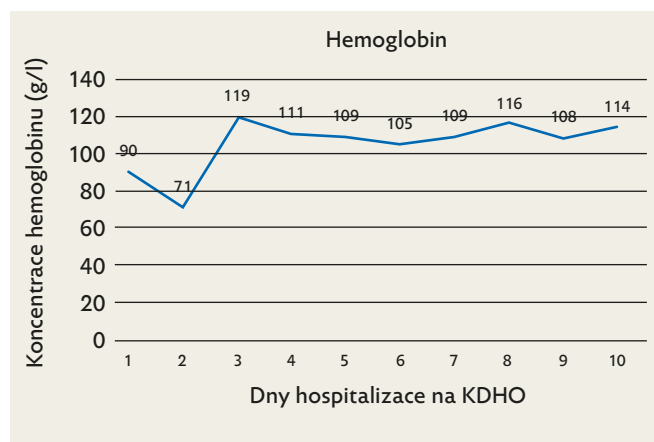
Den hospitalizace	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Leukocyty ($\times 10^9/l$)	19,5	12	7	8	8,3	4,1	23	20,7	20,7
RBC ($\times 10^{12}/l$)	3,9	2,5	2,4	2,45	2,7	2,45	3,58	3,85	3,23
Hgb (g/l)	120	77	74	74	83	75	66	117	97
MCHC (g/l)		339	355	346	349	349	342	350	352
MCV (fl)	95,1	90,8	87,1	87,3	88,1	89,4	86,9	86,2	85,8
RDW (%)		15,7	15,3	15,3	15,4	15	14,2	14,2	14,5
Trombocyty ($\times 10^9/l$)	710	368	409	389	425	274	28	12	51
Lymfocyty ($\times 10^9/l$)		1,93	1,94	3,15	2,54	1,28	3,45	4	2,44
Neutrofilý ($\times 10^9/l$)		8,02	3,14	3,52	4,27	2,57	19,32	15,86	15,86
Eosinofily ($\times 10^9/l$)		0	0	0,05	0,05	0,01	0	0	0,05
Monocyty ($\times 10^9/l$)		1,93	1,06	1,17	1,37	0,16	0,05	0,75	0,75
Bazofily ($\times 10^9/l$)		0,12	0	0,02	0,01	0,01	0	0,1	0
CRP (mg/l)	12,7	5,3	54,9	46,5	26,1	15,3	216	277	226
PCT ($\mu g/l$)		0,36	6,27	2,91	0,96	0,94	33,7	41,6	78,6
LD ($\mu kat/l$)							7,47		
TAG (mmol/l)								1,79	
Feritin ($\mu g/l$)								1428	
hsTnT (ng/l)								70	
NT-proBNP (ng/l)								29 688	
FW	85/109								

Tab. 2: Diagnostická kritéria hemofagocytující lymfohistiocytózy (požadováno splnění minimálně 5 z 8 kritérií)

Diagnostická kritéria HLH dle protokolu HLH-2004	Patofyziologie
A) Molekulární průkaz HLH	
B) Přítomnost minimálně 5 kritérií z následujících:	
1. Horečka (trvajících > 7 dní, se špičkami > 38,5°C)	Působení prozánětlivých cytokinů
2. Splenomegalie (> 3 cm pod žeberní oblouk)	Infiltrace lymfocyty, makrofágy
3. Cytopenie (alespoň 2 ze 3 krevních řad + příčinou není hypoplazie či dysplazie kostní dřeně): Hgb < 90 g/l, Plt < $100 \times 10^9/l$, neutrofilý < $1,0 \times 10^9/l$	Fagocytóza aktivovanými makrofágy + tlumivý efekt TNF- α , INF- γ
4. Hypertriglycerolemie a/nebo hypofibrinogemie: TAG > 2,0 mmol/l nebo > 3 SD normální hodnoty, fibrinogen < 1,5 g/l nebo < 3 SD	TNF- α inhibuje lipoproteinovou lipázu + zvýšená hladin a aktivátoru plasminogenu
5. Hemofagocytující makrofágy v kostní dřeni, slezině, lymfatických uzlinách	
6. Nízká nebo nulová aktivita NK buněk	
7. Feritin > 500 $\mu g/l$	Uvolňován z aktivovaných makrofágů
8. Solubilní CD25 (IL-2 rec) > 2400 U/ml	Receptor na aktivovaných T lymfocytech



Graf 1: Vývoj počtu trombocytů v průběhu hospitalizace na Klinice dětské hematologie a onkologie FN Motol



Graf 2: Vývoj hladiny hemoglobinu v průběhu hospitalizace na Klinice dětské hematologie a onkologie FN Motol

zjištěna elevace feritinu, TAG a hyperlaktacidemie. Při intenzivní antibiotické a infuzní terapii došlo sice ke stabilizaci stavu, ale zároveň se v řádu hodin vyvinula hepatosplenomegalie, anemie a trombocytopenie, která progredovala až k potřebě substituce krevními deriváty. Podrobně vývoj laboratorního obrazu zachycuje tabulka 1. Pro suspekci z rozvoje hemofagocytující lymfohistiocytózy (HLH) byla provedena aspirace kostní dřeně, která byla dobře buněčná, bez atypických buněk, ale s přítomností aktivovaných a hemofagocytujících makrofágů. S tímto obrazem byla pacientka přeložena na naše pracoviště. Při příjmu byla pacientka febrilní s výraznou hepatosplenomegalií a tachydyspnoí při kapilárním leaku. V krevním obraze byla bicytopenie (Hgb 71g/l, Tr $13 \times 10^9/l$), koagulační časy a hladina fibrinogenu byly v normě, dále dominoval nízký antitrombin a vysoká (neměřitelná) hladina solubilního receptoru IL-2. Zánětlivé parametry byly v poklesu.

Pacientka splnila laboratorně-klinické parametry pro HLH (tab. 2), proto jsme i vzhledem ke klinickému stavu zahájili neodkladně anticytokinovou terapii kombinací dexamethasonu v dávce 10 mg/m² a intravenózních imunoglobulinů v dávce 2×1 g/kg. Tato léčebná dvoukombinace je doporučována i ve světové literatuře při terapii sekundární HLH vyvolané infekcí virem SARS-CoV-2.⁽⁶⁾ Vzhledem k věku jsme vylučovali i primární HLH, exprese perforinu i degranulační testy byly v normě.

Ze zkušeností víme, že u pacientů se sekundární HLH je dostačující právě terapie dexamethasonem, výjimečně v kombinaci s etoposidem, současně s léčbou eventuální příčiny HLH, kdežto primární HLH vždy vyžaduje celou cytotoxickou terapii dle

léčebného protokolu HLH-2004, která má za cíl navození remise onemocnění, a následně je indikována transplantace kostní dřeně.^(1,6)

Již jeden den od zahájení kortikoterapie byla pacientka celkově zlepšena, došlo k ústupu febrilií, regredovala nejdříve splenomegalie a postupně i hepatomegalie, již 4. den léčby se normalizovaly hodnoty krevního obrazu. Pacientka začala tolerovat stravu a aktivně se přisávala k prsu. Při stabilizaci trombocytopenie jsme zahájili i antikoagulační terapii LMWH v profylaktické dávce v rámci prevence tromboembolické nemoci, která je častá při infekci SARS-CoV-2. Zvýšené riziko trombózy jsme vnímali i díky opakovaně zvýšeným D-dimerům a nízkým hladinám antitrombinu. Terapie kortikoidy byla komplikována hypertenzemi a bradykardií. Před dimisí byla provedena kontrolní echokardiografie a EKG, oboje bez patologického nálezu. Po zhodnocení kontrolního EEG pacientka nevyžadovala profylaktické podávání antiepileptik.

Po 15 dnech od zahájení kortikoterapie jsme pacientku propustili do ambulantního sledování. Při klinicky dobrém stavu a v laboratorní remisi byl po 21 dnech vysazen dexamethason, na který se při hypokortikalismu navázalo substitučním hydrokortisolem. Zároveň byla pacientka přechodně zajištěna antiagregačně kyselinou acetylsalicylovou, která byla indikována pro možný překryv s hyperinflamatorní odpovědí na infekci covid-19 (PIMS-TS).⁽⁷⁾ V současnosti je dítě 4 měsíce po stanovení diagnózy v celkově dobrém stavu, bez léčby, v kompletní remisi HLH. Imunologická vyšetření provedená s odkladem od kortikoterapie vylučují primární imunodeficit jako podklad původního stavu. Očkování pacientky bude řízeno ve spolupráci s Očkovacím centrem FN Motol.

DISKUSE

Hemofagocytující lymfohistiocytóza může být způsobena virovou infekcí, a tedy i SARS-CoV-2, což by mohlo vysvětlit závažný průběh onemocnění u některých pacientů. Na iniciální poškození respiračního traktu virem může navazovat hyperinflamatorní odpověď. Hyperinflamatorní syndrom spojený s covidem-19 může mít vícero podob, může probíhat pod obrazem PIMS-TS (paediatric inflammatory multisystem syndrome temporally associated with SARS-CoV-2), CRS (cytokine-release syndrom), ARDS (acute respiratory distress syndrome) či právě pod obrazem HLH. Do určité míry jsou si jednotlivé syndromy podobné a hranice mezi nimi nejsou přesně vytyčeny.⁽⁹⁾ V dospělé populaci jsou hyperinflamatorní stavy spojené s vyšší mortalitou covid-19.⁽⁶⁾

V pediatrické populaci je opakovaně zmiňován syndrom multisystémové zánětlivé odpovědi (PIMS-TS), stejně jako v případě HLH se jedná o neadekvátní imunitní odpověď organismu na SARS-CoV-2. Typicky se manifestuje 4–6 týdnů po expozici virionu, kdežto HLH se projevuje v akutní fázi covidu-19. Klinicky nejzávažnějším projevem PIMS-TS je postižení kardiovaskulárního systému a může vést až k multiorgánovému selhání.^(7,9) V průběhu hospitalizace naši pacientky jsme měli PIMS-TS na paměti, ale dívka nesplnila diagnostická kritéria a opakované kardiologické vyšetření neprokázalo patologii.

Hlavními projevy HLH jsou vysoká horečka, splenomegalie, cytopenie, koagulopatie, ikterus, neurologické symptomy a multiorgánové selhání, jmenovitě respirační, tam kde jsou spouštěčem infekce respirační viry.^(1,9) V anamnéze je důležitá jak rodinná (nevyjasněné úmrtí malých kojenců), tak cestovatelská anamnéza (viscerální leishmanióza). V klinickém vyšetření je důležité zhodnocení hepatosplenomegalie a dynamiky vývoje stavu. Laboratorní vyšetření při podezření na HLH zahrnuje:

- krevní obraz a mikroskopický diferenciál – opakovaně, důležitá je dynamika změn;
- biochemismus: zejména LDH, TAG, feritin, transaminázy, bilirubin;
- koagulace (hladina fibrinogenu);
- sCD25 (solubilní IL-2 receptor).

Diagnostická kritéria HLH jsou postavena na kombinaci klinických a laboratorních parametrů, pro stanovení diagnózy je potřeba 5 z 8 kritérií (tab. 2). Naše pacientka splnila 7 z 8.

V kojeneckém věku myslíme na prvním místě na primární HLH, kromě základních laboratorních parametrů je potřebné odeslat vzorek i k vyšetření

průtokovou cytometrií. Stanovení aktivovaných cytotoxických T lymfocytů není specifické, zvýšenou hladinu můžeme vidět například i u pacientů se sepsí či multiorgánovým selháním, naopak negativní výsledek nevylučuje HLH. Dále se provádí test exprese perforinu a degranulační testy, které nám pomohou odlišit jednotlivé typy primární HLH, který definitivně určí až průkaz specifické mutace.

V diagnostickém algoritmu je důležité vyšetření kostní dřeně, specifický je nález hemofagocytujících buněk, ale ani ten nemusí být u všech pacientů.⁽²⁾ Lumbální punkci provádíme vždy u pacientů při podezření na primární HLH, u pacientů se sekundární HLH v indikovaných případech. Lumbální punkce se provádí až po stabilizaci stavu pacienta, není potřebné vyšetření provést před zahájením terapie, jako je tomu například u podezření na hemoblastózu. Nález pleiocytózy, zvýšené bílkoviny v likvoru, charakterizuje postižení CNS.

Článek argentinských autorů, který byl publikován v lednu letošního roku, poukazuje na blízký vztah mezi vážným průběhem infekce covid-19 a HLH. Udává, že rozvoj HLH byl prokázán pouze u méně než 5 % dospělých pacientů s vážným průběhem infekce. Naproti tomu splenomegalie či hepatomegalie je popsána až u 15 % pacientů s infekcí covid-19, což vede autory k myšlence poddiagnostikování HLH u těchto pacientů. Je velice důležité u pacientů, u kterých pozorujeme perzistentní horečky, progresi pancytopenie a hepatosplenomegalii, myslet na HLH a cíleně screenovat její laboratorní známky. Pokud zjistíme hyperferitinemii, hypertriacylglycerolemii a hypofibrinogenemii, je suspekce na HLH vysoká. Hladina triacylglycerolů nebývá zvýšená u pacientů s covidem-19, také u nich spíše vidíme hyperfibrinogenemii, která vzniká nadprodukcí IL-6, hypofibrinogenemie se může objevit při rozvoji DIC či právě HLH. Naopak hyperferitinemii vidíme jak u pacientů s covidem-19, tak i u pacientů s HLH. Specifičtější nálezem je pak snížená aktivita NK buněk či zvýšená hladina solubilní CD25.⁽⁹⁾

Na závěr je také nutné zmínit možný podíl enterogenní sepse *E.coli* na rozvoji HLH v případě námi prezentovaného případu.⁽¹⁰⁾ Sepse je definována jako život ohrožující stav, který vzniká na podkladě dysregulované odpovědi organismu na infekci a je spojen s orgánovou dysfunkcí.⁽¹¹⁾ Sepse a HLH sdílí velké množství laboratorních známek, jako je cytopenie, hypofibrinogenemie, hypertriacylglycerolemie, elevace feritinu a solubilního receptoru pro IL-2, také hemofagocytózu můžeme často vidět u pacientů se sepsí. Při sepsi může být hyperinflamatorní odpověď natolik vystupňovaná, že HLH kritéria budou

splněna. Proto se nemůžeme dívat na HLH jako na samostatné onemocnění, ale jako na důsledek závažné nekontrolovatelné zánětlivé odpovědi, která je předzvěstí neschopnosti organismu zvládnout infekci.⁽¹⁰⁾

Covid-19 přináší do medicíny celou řadu nových poznání a výzev. Jednou z nich je i včasné

rozpoznání komplikací, které pacientovi přináší. V případě vážného průběhu infekce musíme myslet, a to i v pediatrické populaci, na možný rozvoj hemofagocytyjící lymfohistiocytózy, která vzniká jako neadekvátní imunitní odpověď na infekci SARS-CoV-2.

LITERATURA

1. Suková M, Mejstříková E, Vodičková E, et al. Hemofagocytyjící lymfohistiocytóza. Vnitr Lek 2010; 56(2): 157–169.
2. Lima R, Filho CC, Ferreira Filho CM, et al. Hemophagocytic syndrome and COVID-19. [online]. Dostupné na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7347481>.
3. Paul La Rosée, AnnaCarin Horne, Melissa Hines, et al. Recommendations for the management of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. Blood 2019; 133(23): 2465–2477.
4. Rosado FGN, Kim AS. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: An Update on Diagnosis and Pathogenesis. Am J Clin Pathol 2013; 139(6): 713–727.
5. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard, 2021. [online]. Dostupné na: <https://covid19.who.int/>.
6. Opoka-Winiarska V, Grywalska E, Roliński J. Could hemophagocytic lymphohistiocytosis be the core issue of severe COVID-19 cases? [online]. Dostupné na: <https://doi.org/10.1186/s12916-020-01682-y>.
7. David J, Šibíková M, Jonáš J, et al. Závažná komplikace COVID-19 u dětí: syndrom multisystémové zánětlivé odpovědi. Pediatr Praxi 2021; 22(1): 8–11.
8. Gustine JN, Jones D. Immunopathology of Hyperinflammation in COVID-19. Am J Clin Pathol 2021; 191(1): 4–17.
9. Retamozo S, Brito-Zerón P, Sisó-Almirall A, et al. Haemophagocytic syndrome and COVID-19. Clin Rheumatol 2021; 40: 1233–1244.
10. Janka GE, Lehmborg K. Hemophagocytic syndromes--an update. Blood Rev 2014; 28(4): 135–42.
11. Máca J, Sklienka P, Reimer P, Holub M. Nová definice sepse (Sepsis-3): cíle, přednosti a kontroverze. [online]. Dostupné na: <https://www.prolekare.cz/casopisy/epidemiologie/2018-1-12/nova-definice-sepse-sepsis-3-cile-prednosti-a-kontroverze-63471>. (Accessed July 01, 2021).





EUROPEAN
SOCIETY

**OF PAEDIATRIC
CLINICAL RESEARCH**

30th meeting

**16 - 17th
June 2022**

BRNO CZECH REPUBLIC



UNIVERSITY
HOSPITAL
BRNO

DEPARTMENT
OF PEDIATRICS

BRNO
FACULTY
OF MEDICINE

MASARYK UNIVERSITY