

Percorsi
Pediatrici
del
Val di Noto
2020

**SINDROME DA
ATTIVAZIONE
MACROFAGICA
(MAS)**

Giovanna Russo

Onco-ematologia Pediatrica
AOU Policlinico-Vittorio
Emanuele
Università di Catania

- Haemophagocytic syndrome, also known as **haemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH)**, is a rare but potentially fatal multi-system inflammatory disorder characterised by uncontrolled hyperactivation of macrophages (histiocytes) and T lymphocytes
- **Primary HLH is a genetic disease** resulting from recessive defects in the cytolytic pathway of natural killer (NK) cells and cytotoxic T lymphocytes (CTLs)
- **Secondary, or acquired, HLH** is triggered by a wide variety of **infections, malignancies** and **autoimmune diseases**.
- Secondary HLH in the context of **rheumatic diseases**, such as systemic juvenile idiopathic arthritis (sJIA), is often designated macrophage activation syndrome (**MAS**)

EPIDEMIOLOGY

Incidence primary HLH 0.12-0.34/100 000/year

Prevalence 1.07/100 000 <18 yrs

MAS secondary to sJIA 7-13% of pts

Subclinical MAS
(on BM findings at Dx) 53% of pts

Primary HLH (with associated gene)	Secondary HLH
HLH associated with lymphocyte cytotoxic defects Familial HLH type 2 (<i>PRF1</i>) Familial HLH type 3 (<i>UNC13D</i>) Familial HLH type 4 (<i>STX11</i>) Familial HLH type 5 (<i>STXBP2</i>) X-linked lymphoproliferative disorder type 1 (<i>SH2D1A</i>) Griscelli syndrome type 2 (<i>RAB27A</i>) Chediak-Higashi syndrome (<i>LYST</i>)	Infection-associated HLH Virus-associated HLH Epstein-Barr virus-associated HLH Cytomegalovirus-associated HLH HLH associated with other herpes virus infections Human immunodeficiency virus-associated HLH Influenza-associated HLH HLH associated with other viral infections Bacteria-associated HLH Parasite-associated HLH Fungal-associated HLH
HLH associated with abnormalities of inflammasome activation X-linked lymphoproliferative disorder type 2 (<i>BIRC4</i>) Mutation of Nod-like receptor family, caspase recruitment domain-containing 4 (<i>NLRC4</i>)	Malignancy-associated HLH Malignancy-triggered HLH (HLH at onset of malignancy) Hematological malignancies T cell lymphoblastic lymphoma/leukemia T cell nonlymphoblastic lymphomas B cell leukemias B cell lymphomas (non-Hodgkin) Hodgkin lymphomas NK cell lymphomas/leukemias Myeloid neoplasia Other hematological malignancies Solid tumors Unclassified malignancies HLH occurring during chemotherapy HLH associated with a malignancy, but not further defined
HLH associated with defined Mendelian disorders affecting inflammation Lysinuric protein intolerance (<i>SLC7A7</i>) Mutation of heme oxygenase 1 (<i>HMOX1</i>)	HLH associated with defined rheumatologic conditions (macrophage activation syndrome) HLH associated with systemic onset juvenile idiopathic arthritis HLH associated with adult-onset Still disease HLH associated with systemic lupus erythematosus HLH associated with vasculitis HLH associated with other defined autoimmune conditions HLH associated with an undefined autoimmune condition
Familial (apparently Mendelian) HLH of unknown origin	Transplant-related HLH
	HLH associated with iatrogenic immune activation
	HLH associated with iatrogenic immune suppression
	HLH associated with other apparently non-Mendelian conditions

Hemophagocytic lymphohistiocytosis

Genetic, primary HLH

- **FHLH**

- Chromosome 9 linkage
- *PRF1* mutations
- *UNC13D* mutations
- *STX11* mutations
- Unknown mutations

- **Immune deficiencies**

- CHS
- Griscelli syndrome
- XLP

Acquired, secondary HLH

Exogenous agents

- infectious organisms, toxins (VAHS, IAHS)

Endogenous products

- tissue damage
- radical stress
- metabolic products

Rheumatic diseases (MAS)

HLH

Malignancies

Blood Reviews (2007) 21, 245–253



REVIEW

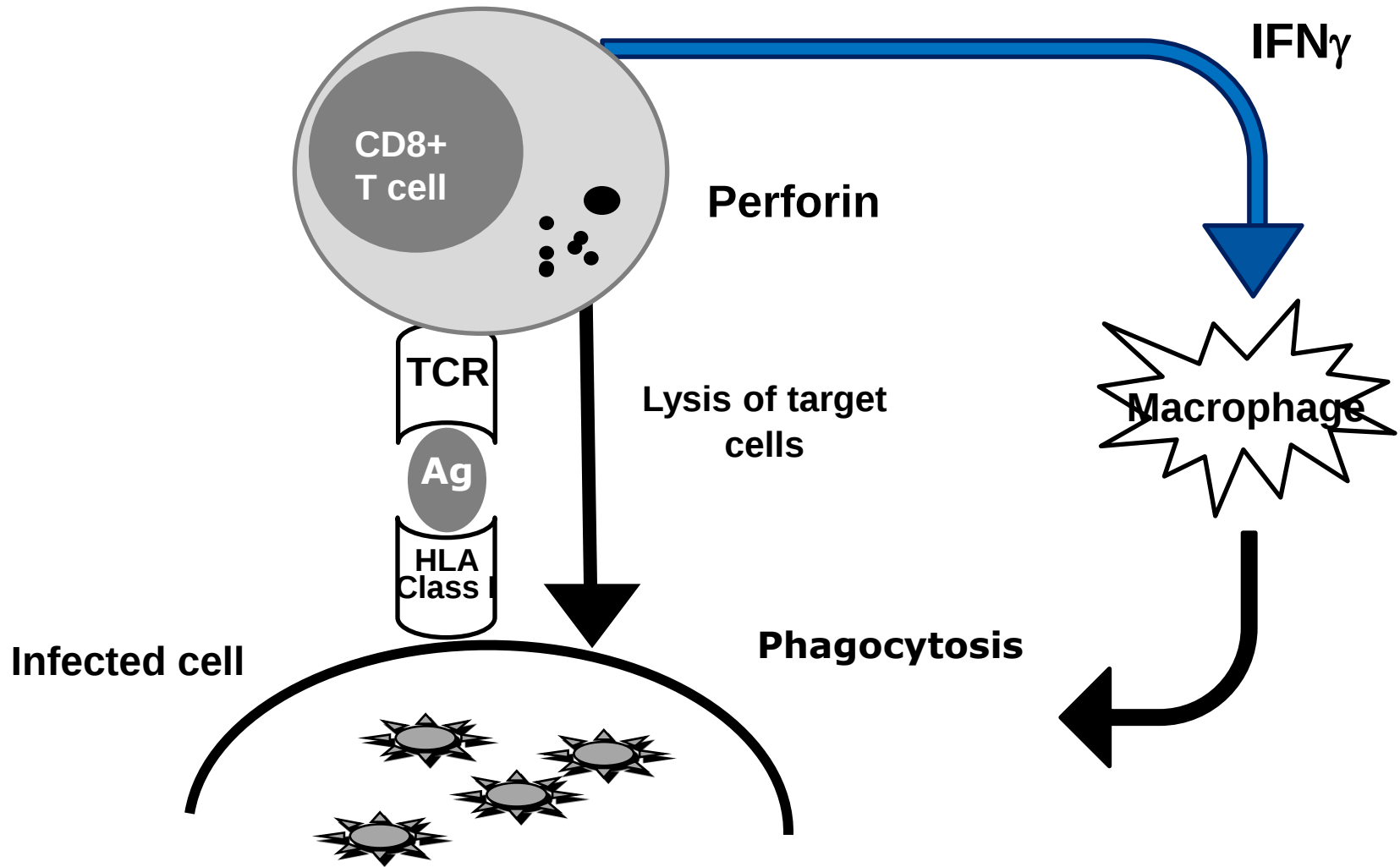
Hemophagocytic syndromes

Gritta E. Janka *

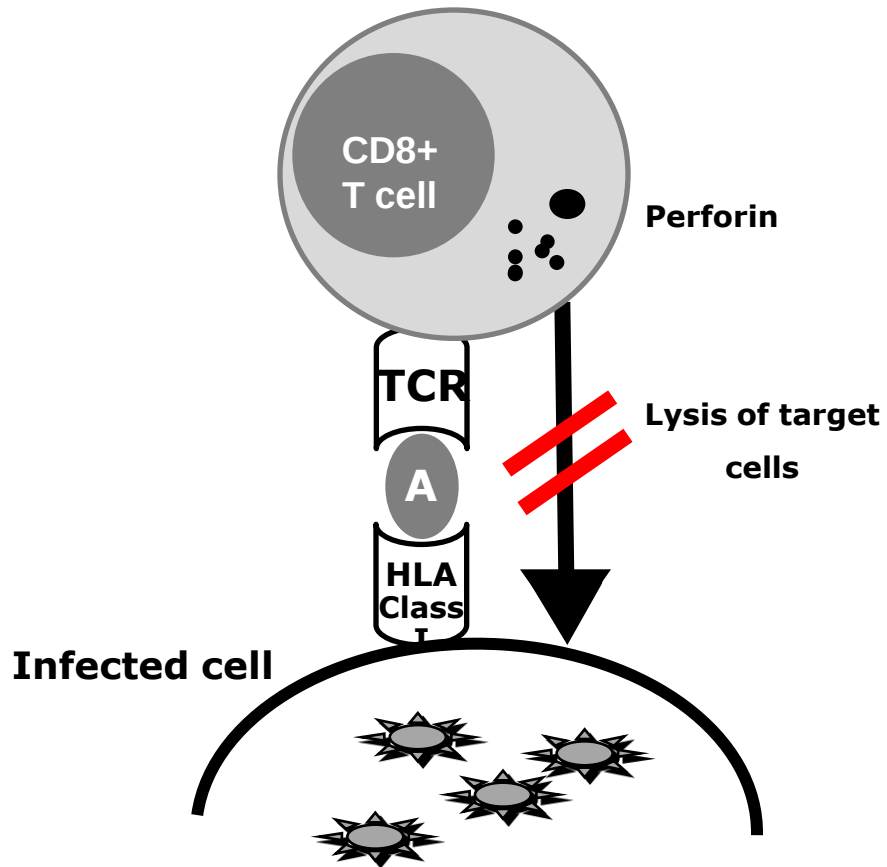


www.elsevierhealth.com/journals/blre

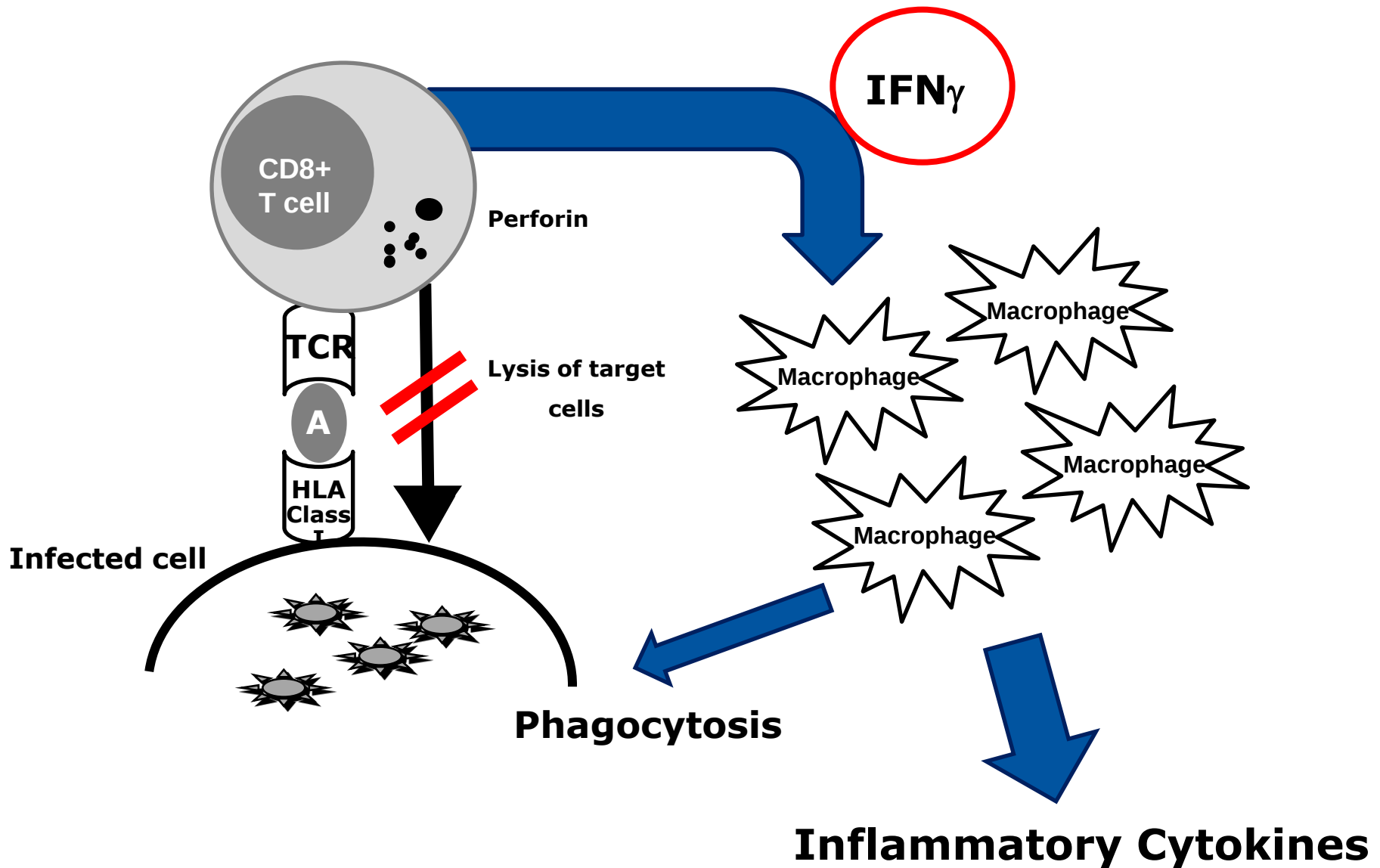
Killing mechanism



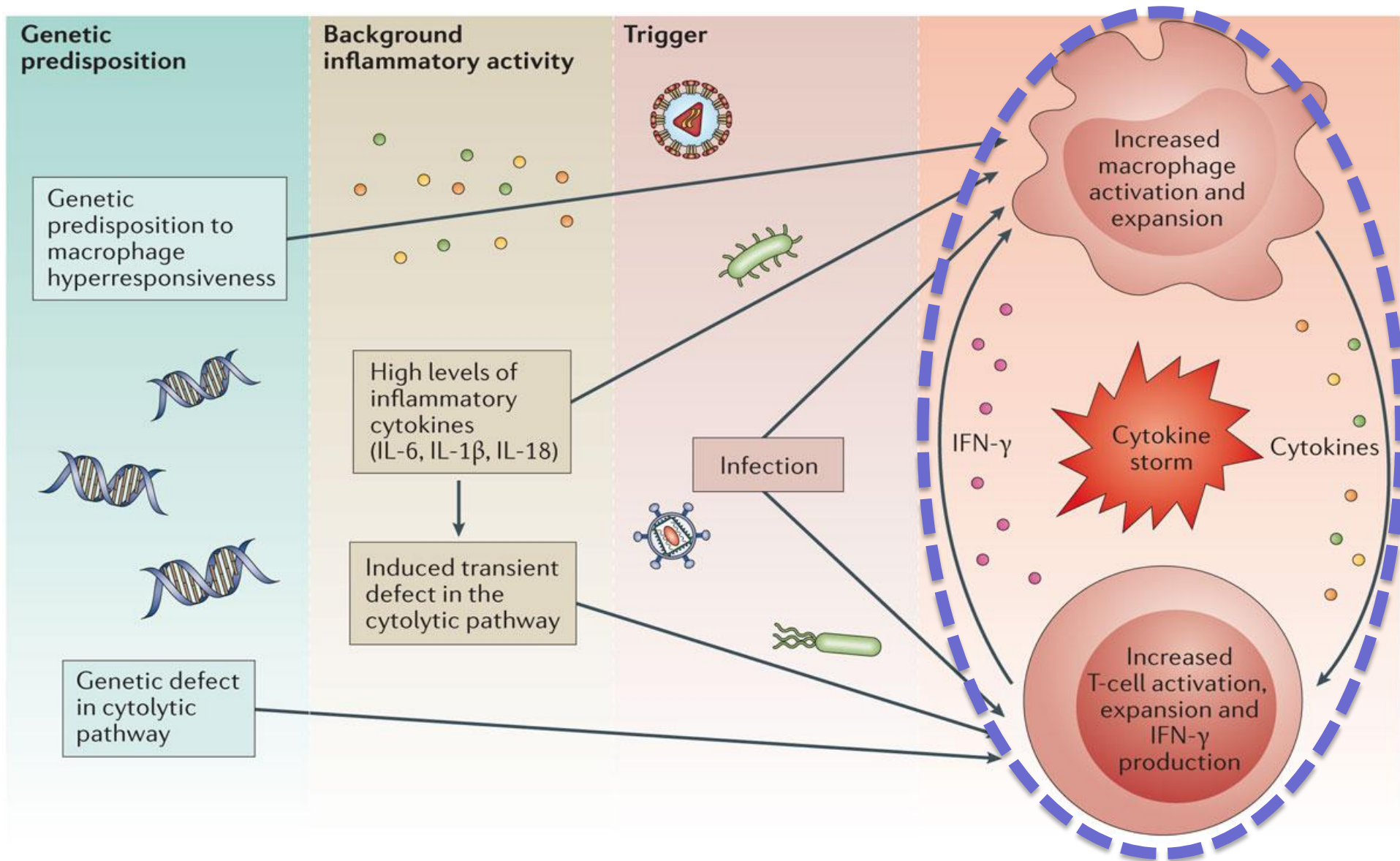
Patogenesi

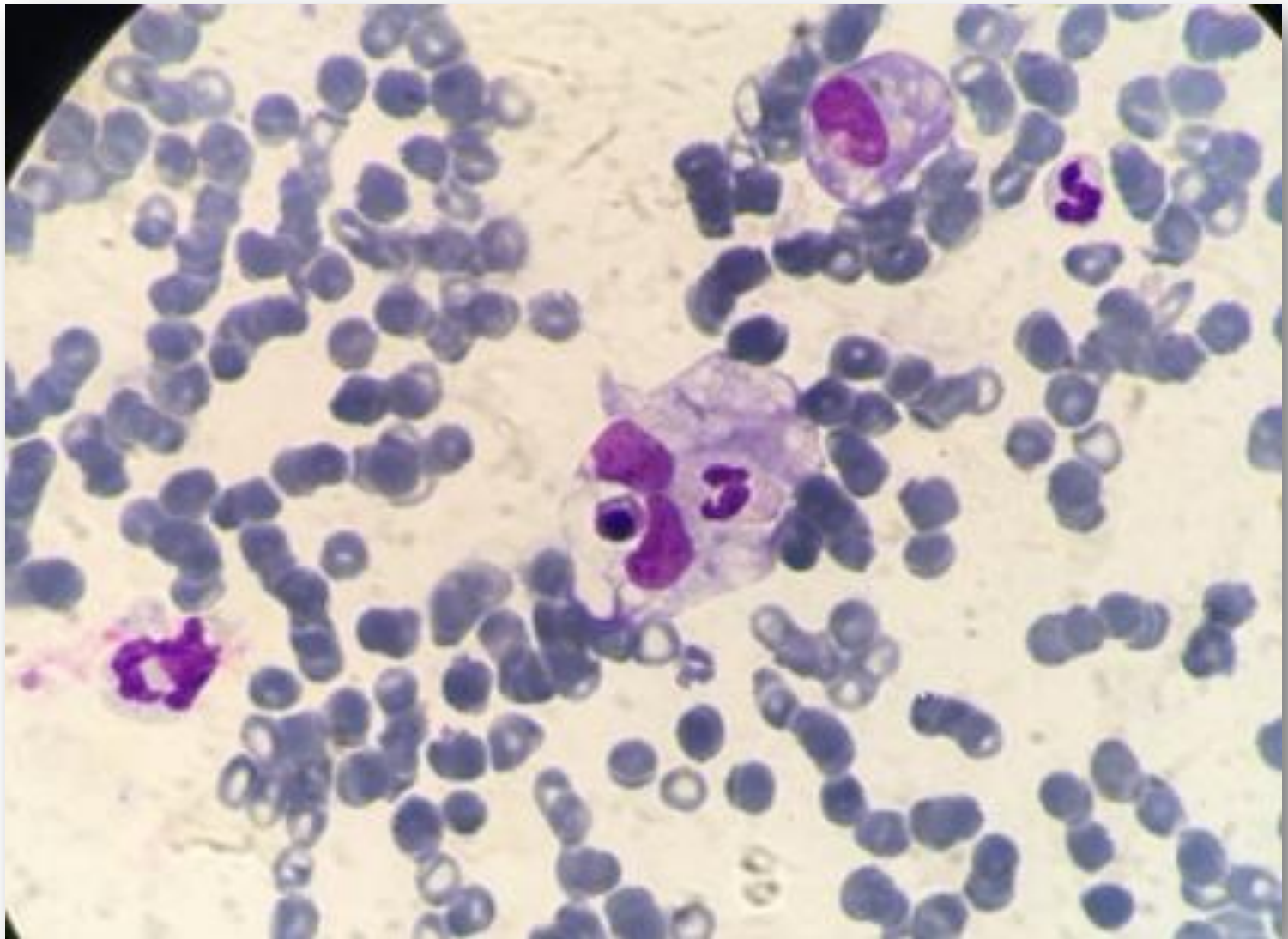


Patogenesi



Pathogenic events leading to MAS





Criteria for the diagnosis of HLH

A) Molecular diagnosis consistent with HLH (PRF1, UNC13D, STXBP2, RAB27A, STX11, SH2D1A, or XIAP)

B) Presence of five of the eight following clinical criteria:

- Fever
- Splenomegaly
- Cytopenias affecting 2/3 lineages
 - Hb < 9 g/dl
 - PLT < $100 \times 10^9/l$
 - Absolute PMN < $1 \times 10^9/l$
- Hypertriglyceridemia and/or hypofibrinogenaemia
 - Triglycerides > 265 mg/dl
 - Fibrinogen $\leq$ 150 mg/dl
- Hemophagocytosis in bone marrow or spleen or lymph nodes
- Low or absent Natural Killer cell activity
- Ferritin > 500 $\mu g/l$
- Elevated Soluble CD25 (i.e. soluble IL2 receptor) $\geq$ 2400 l/ml

Table 1
Comparison of clinical and laboratory features of active sJIA and MAS

Feature	sJIA	MAS
Fever pattern	Intermittent	Continuous
Rash	Maculopapular, evanescent	Petechial or purpuric
Hepatosplenomegaly	+	++
Lymphadenopathy	+	++
Splenomegaly	+	++
Arthritis	++	—
Serositis	+	—
Hemorrhages	—	+
Encephalopathy	—	+
White blood cells and neutrophils	↑↑	↓
Hemoglobin	Normal or ↓	↓
Platelets	↑↑	↓
ESR	↑↑	Normal or ↓
Liver transaminases	Normal	↑↑
Bilirubin	Normal	Normal or ↑
Lactate dehydrogenase	Normal or ↑	↑↑
Triglycerides	Normal	↑
Prothrombin time	Normal	↑
Partial thromboplastin time	Normal	↑
Fibrinogen	↑	↓
D-dimer	↑	↑↑
Ferritin	Normal or ↑	↑↑
Soluble IL-2 receptor alpha (or soluble CD25)	Normal or ↑	↑↑
Soluble CD163	Normal or ↑	↑↑

Box 2

Preliminary diagnostic guidelines for MAS complicating sJIA

Laboratory criteria

1. Decreased platelet count ($\leq 262 \times 10^9/L$)
2. Increased levels of aspartate aminotransferase (>59 U/L)
3. Decreased white blood cell count ($\leq 4.0 \times 10^9/L$)
4. Hypofibrinogenemia (≤ 2.5 g/L)

Clinical criteria

1. CNS dysfunction (irritability, disorientation, lethargy, headache, seizures, coma)
2. Hemorrhages (purpura, easy bruising, mucosal bleeding)
3. Hepatomegaly (≥ 3 cm below the costal arch)

Histopathologic criterion

Evidence of macrophage hemophagocytosis in the bone marrow aspirate

Diagnostic rule:

The diagnosis of MAS requires the presence of at least 2 laboratory criteria or the presence of at least 1 laboratory criterion and 1 clinical criterion. A bone marrow aspirate for the demonstration of hemophagocytosis may be required only in doubtful cases.

Adapted from Ravelli A, Magni-Manzoni S, Pistorio A, et al. Preliminary diagnostic guidelines for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Pediatr* 2005;146(5):598–604.

Box 3

The classification criteria for MAS in sJIA

A febrile patient with known or suspected sJIA is classified as having MAS if the following criteria are met:

Ferritin level greater than 684 ng/mL and any 2 of the following:

Platelet count less than or equal to $181 \times 10^9/L$

Aspartate aminotransferase level greater than 48 U/L

Triglyceride level greater than 156 mg/dL

Fibrinogen level less than or equal to 360 mg/dL



CASO CLINICO 1

Scuola di Specializzazione in
Pediatria

Università degli studi di Catania
U.O di Oncoematologia Pediatrica
Direttore Prof.ssa Giovanna Russo
Dott.ssa Carmen Gulizia

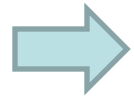
Femmina, 2 anni

- ✓ Anamnesi patologica remota: dall'età di 3 mesi, eseguiti **diversi ricoveri** per comparsa di sintomatologia tussigena insistente, febbre, crisi di apnea; faringite; episodio di gastroenterite; faringotracheite con febbre.
- ✓ Anamnesi patologica prossima: da circa 3 settimane febbre elevata con picchi ogni 12 ore responsiva al paracetamolo e trattata con terapia antibiotica.



Eseguito accesso al P.S del luogo

RX torace: quadro bronchitico ➡ Terapia: Claritromicina, Bentelan più terapia aerosolica

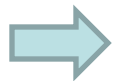


Nessun beneficio dalla terapia prescritta.



- ✓ Nuovo accesso presso P.S; si esegue prelievo ematochimico che mostra aumento delle transaminasi, della PCR, con monocitosi. Nel sospetto di Mononucleosi viene dimessa con terapia Antivirale (Aciclovir) a domicilio.

Per approfondimento diagnostico sulla
sintomatologia tussigena esegue ricovero
programmato presso U.O. di Broncopneumologia
Pediatria



- ✓ Hb: 11 g/dl; PLT 96.000 mmc; GOT 383 U/L; GPT 272 U/L; LDH 1044 U/L; PCR 18.4;
- ✓ Ferritina 2004 ng/ml.
- ✓ Versamento pericardico di 4 mm in sede declive.
- ✓ A 24 ore: Hb 9.7 g/dl; PLT 73.000 mmc; GOT 415 U/L; GPT 322 U/L;
 - Dosaggio immunoglobuline: IgA<5; IgG< 200; IgM< 25.



Trasferimento presso l'U.O. di Oncoematologia
Pediatrica

- ✓ E.O all'ingresso: Condizioni generali buone.
Febbrile (TC 39°C). Obiettività cardiopolmonare nella norma. Micropoliadenia laterocervovale.
Splénomegalia (milza a 2 cm dall'arco).
- ✓ Prelievo ematochimico:
 - Hb 9.7 g/dl; GB 6670 mmc; N 32%; PLT 73.000 mmc; GOT 415 U/L; GPT 322 U/L; LDH 1109 U/L; Ferritina > 1500 ng/ml; Trigliceridi 211 mg/dl
- ✓ Sottopopolazioni linfocitarie:
 - Linfociti T CD57 in CD58 ridotti (3%)
 - Linfociti B CD19 ridotti (4%)
 - Linfociti natural killer CD 16 ridotti (2%)
 - Linfociti CD25 ridotti (6%)

- ✓ Immunoglobuline sieriche: IgA < 6; IgG < 200; IgM < 25
- ✓ Aspirato midollare: assenza di metaplasia.
Riccamente rappresentata la serie mieloide in tutte le fasi maturative. Assenza di Leishmanie morfologicamente visibili.
- ✓ Emocoltura da vena periferica al picco febbrile: negativa.
- ✓ Ricerca EBV PCR quantitativo: Negativo
- ✓ Ricerca CMV PCR quantitativo: Negativo

...Sospetto diagnostico?...

✓ Criteri clinici:

- Febbre;
- Splenomegalia;

✓ Criteri laboratoristici:

- Citopenia (almeno 2 linee): Hb 9.7 g/dl;
PLT 73.000 mmc;
- Ipertrigliceridemia 211 mg/dl;
- Attività NK ridotta;
- Ferritina > 1500 ng/ml;
- CD 25 ridotti;

HLH Primaria

- HLH familiare tipo 2 (PRF1);
- HLH familiare tipo 3 (UNC13D);
- HLH familiare tipo 4 (STX11);
- HLH familiare tipo 5 (STXBP2);
- Sindrome di Griscelli tipo 2 (RAB27A);
- Sindrome di Chediak-Higashi (LYST);



- Disordine linfoproliferativo X-linked di tipo 2 (BIRC4);
- HLH associata ad anomalie di attivazione dell'inflammasoma;
- Mutazione dell'eme-ossigenasi 1 (HMOX1);
- HLH familiare di origine sconosciuta;

HLH Secondaria

1. Associata ad infezioni

- EBV;
- CMV;
- HIV;
- Infezioni Batteriche;
- Infezioni da Parassiti;
- Infezioni da Miceti;

2. Associata a patologie maligne

- Malattie maligne ematologiche
- Linfoma di Hodgkin
- Tumori solidi

3. Associata a patologie reumatologiche

- AIG; Vasculiti;
- LES; Malattie autoinfiammatorie



**Linfoistiocitosi
emofagocitica
primaria o familiare?**

Espressione di perforina
nella norma.

Degranulazione valutata
mediante espressione
di CD107a nella norma

**Linfoistiocitosi
emofagocitica
secondaria**

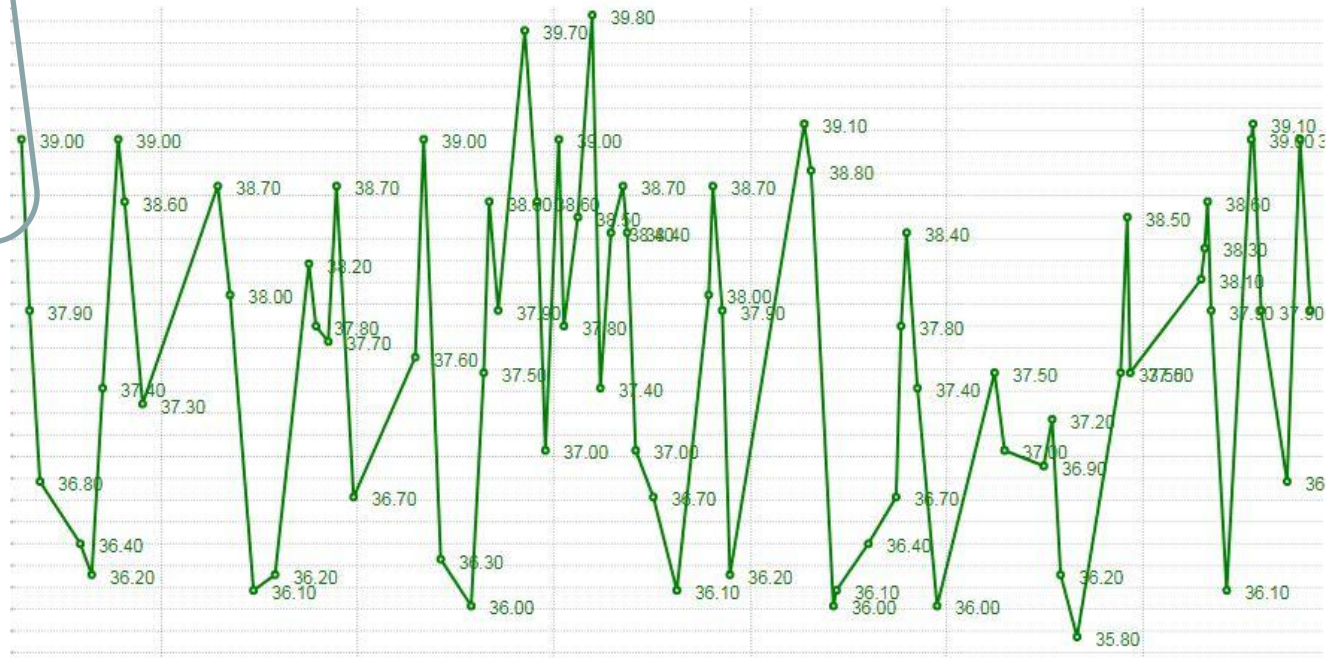
Ipotizzata una forma post-
infettiva

Trattamento:
Desametasone 10
mg/m²/die secondo
protocollo di trattamento
HLH 2004

Evoluzione clinica...

- ✓ Febbre continua remittente
- ✓ Dopo 7 giorni: Hb 7.1 g/dl; GB 5810 mmc; N 60%; PLT 72.000 mmc; Fibrinogeno 131 mg/dl (ridotto); GPT 213 U/L; GOT 265 U/L; Trigliceridi 368 mg/dl; Ferritina 1937 ng/ml.

Durante
trattamento
con
cortisone



- ✓ Eseguita Real time PCR quantitativa per Leishmania su sangue periferico e midollo risultata positiva.



Diagnosi: **Leishmaniosi viscerale**



Iniziato trattamento con Amfotericina B liposomiale,
per 10 giorni



Amfoco lipos

Date	Price (EUR/kg)
28/3/2019	38.50
28/3/2019	38.20
28/3/2019	36.00
28/3/2019	36.80
28/3/2019	38.40
28/3/2019	38.40
28/3/2019	37.80
28/3/2019	36.00
28/3/2019	38.00
28/3/2019	37.90
28/3/2019	38.50
28/3/2019	36.50
28/3/2019	36.50
28/3/2019	36.50
28/3/2019	36.60
28/3/2019	36.50
28/3/2019	38.00
28/3/2019	37.80
28/3/2019	37.20
28/3/2019	36.70
28/3/2019	37.90
28/3/2019	37.00
28/3/2019	36.30
28/3/2019	36.90
28/3/2019	35.80
28/3/2019	36.50
28/3/2019	35.20
28/3/2019	35.80
28/3/2019	36.00
28/3/2019	36.50
28/3/2019	35.20
28/3/2019	36.00
28/3/2019	36.60
28/3/2019	36.40
28/3/2019	36.00
28/3/2019	36.40

HLH Primaria

- HLH familiare tipo 2 (PRF1);
- HLH familiare tipo 3 (UNC13D);
- HLH familiare tipo 4 (STX11);
- HLH familiare tipo 5 (STXBP2);
- Sindrome di Griscelli tipo 2 (RAB27A);
- Sindrome di Chediak-Higashi (LYST);



- Disordine linfoproliferativo X-linked di tipo 2 (BIRC4);
- HLH associata ad anomalie di attivazione dell'inflammasoma;
- Mutazione dell'eme-ossigenasi 1 (HMOX1);
- HLH familiare di origine sconosciuta;

HLH Secondaria

1. Associata ad infezioni

- EBV;
- CMV;
- HIV;
- Infezioni Batteriche;
- Infezioni da Parassiti;
- Infezioni da Miceti

2. Associata a patologie maligne

- Malattie maligne ematologiche
 - Linfoma di Hodgkin
 - Tumori solidi

3. Associata a patologie reumatologiche

- AIG; Vasculiti;
- LES; Malattie autoinfiammatorie

... Aspetto immunologico...



- ✓ Immunoglobuline sieriche molto basse;
- ✓ Assenza di agglutinine naturali;
- ✓ Linfociti B CD 19 ridotti (4%); Linfociti natural killer CD 16 ridotti (2%);



**Sospetto di deficit immunologico:
congenito o transitorio?**

- ✓ In atto esegue terapia sostitutiva con Immunoglobuline sottocute, 400 mg/Kg/mese.

... in corso follow up...



CASO CLINICO 2

Scuola di Specializzazione in
Pediatria

Università degli studi di Catania
U.O di Oncoematologia Pediatrica
Direttore Prof.ssa Giovanna Russo
Dott.ssa Carmen Gulizia

Maschio, 3 mesi

- ✓ Anamnesi fisiologica: genitori consanguinei, cugini di II grado.
- ✓ Anamnesi patologica: febbre continua remittente da circa 10 giorni, T max 40°C, responsiva al paracetamolo, epatosplenomegalia, pancitopenia.



Ricovero in Oncoematologia Pediatrica

- ✓ E.O all'ingresso: Condizioni generali buone.
Febbrile (TC 37.8°C). Obiettività cardiopolmonare nella norma. Fegato palpabile a 3 cm circa dall'arcata costale. Milza palpabile di consistenza teso elastica a circa 3 cm dall'arcata costale.
- ✓ Prelievo ematochimico:
 - Hb 7.7 g/dl; GB 5650 mmc; N 10%; PLT 84.000 mmc; GOT 328 U/L; GPT 328 U/L; Ferritina 451 ng/ml; Trigliceridi 540 mg/dl.
- ✓ Sottopopolazioni linfocitarie:
 - Linfociti CD25 lievemente ridotti (5%)

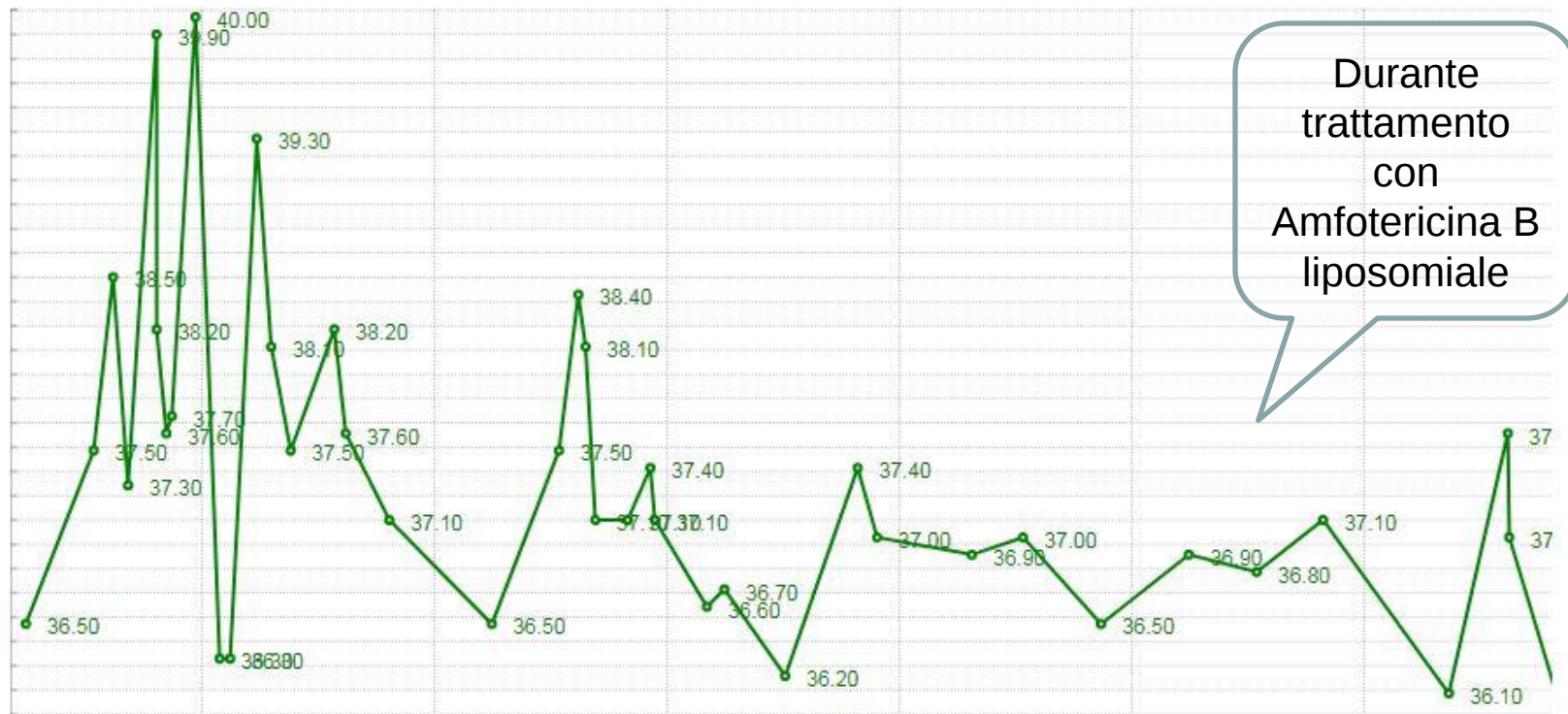
- ✓ Emocoltura da vena periferica al picco febbrile: negativa.
- ✓ Aspirato midollare: reperto morfologico dubbio per presenza di Leishmanie.



Sospetto di **Leishmaniosi viscerale**

eseguita terapia ex adjuvantibus con Amfotericina B liposomiale 20 mg ev per 5 giorni

Miglioramento della curva termica e dei valori ematochimici.



✓ Titolo anticorpale anti-Leishmanie negativo.

Dopo circa un mese...

- ✓ Comparsa di febbre con andamento continuo remittente (TC 39°C), responsiva al paracetamolo.



Accesso presso ambulatorio di Ematologia della nostra U.O con il riscontro di:

- ✓ colorito pallido itterico;
- ✓ epatosplenomegalia;
- ✓ Hb 7.3 g/dl; PLT 29.000 mmc; PCR 71.2

2 ° Ricovero

- ✓ E.O all'ingresso: Condizioni generali discrete. Febbrile (TC 39.3°C). Colorito pallido-itterico. Obiettività cardiopolmonare nella norma. Considerevole epatosplenomegalia.
- ✓ Laboratorio:
 - Hb 6.4 g/dl; GB 2340 mmc; N 14%; PLT 23.000 mmc; Ferritina 1044.6 ng/ml; PCR 73.6 mg/dl; LDH 369 U/L.

- ✓ Indici di attivazione macrofagica moderatamente e cronicamente alterati:
 - citopenia di due linee cellulari;
 - ipertrigliceridemia;
 - ferritina intorno 1000 ng/ml;
 - febbre;
 - epatosplenomegalia



Linfoistiocitosi emofagocitica?

Consanguineità



✓ Valutazione per sospetta **Linfoistiosi emofagocitica familiare**



**Assenza di difetti funzionali e molecolari
suggestivi per FHL**

Espressione di perforina nella norma.

Degranulazione valutata mediante espressione di
CD107a nella norma

Approfondimento su altre forme genetiche...

- ✓ Granulazioni dubbie nei neutrofili
- ✓ Eseguita analisi genetica per **LYST**, una proteina regolatrice del traffico lisosomiale, codificata dal gene CHS1.



Mutazioni in eterozigosi di significato incerto
Sindrome di Chediak – Higashi

- ✓ Eseguita analisi genetica per SH2D1A: Negativa
- ✓ Eseguita analisi genetica per XIAP: Negativa

... Approfondimento diagnostico...

- ✓ Presenza di capelli chiari con ciuffo depigmentato a livello frontale.
- ✓ Per la comparsa nelle fasi di veglia di episodi di sopore con assente contatto visivo



RM encefalo: alterazioni diffuse della sostanza bianca sopra e sottotentoriale associate a neuropatia ottica bilaterale. Reperti compatibile con Sindrome di Chediak – Higashi o in alternativa con altre forme genetiche di Linfoistiocitosi emofagocitica.

- ✓ Eseguita visita dermatologica con analisi del capello: presenza di accumuli globulari di pigmento irregolarmente distribuiti sull'intera lunghezza del fusto di tutti i capelli esaminati.



... ulteriore sospetto diagnostico...



Sindrome di Griscelli?

Eseguita analisi genetica con evidenza di
mutazioni del gene **RAB27A** in omozigosi di
significato patogenetico compatibili con

Sindrome di Griscelli tipo 2

HLH Primaria

- HLH familiare tipo 2 (PRF1);
- HLH familiare tipo 3 (UNC13D);
- HLH familiare tipo 4 (STX11);
- HLH familiare tipo 5 (STXBP2);
- **Sindrome di Griscelli tipo 2 (RAB27A);**
- Sindrome di Chediak-Higashi (LYST);



- Disordine linfoproliferativo X-linked di tipo 2 (BIRC4);
- HLH associata ad anomalie di attivazione dell'inflammasoma;
- Mutazione dell'eme-ossigenasi 1 (HMOX1);
- HLH familiare di origine sconosciuta;

HLH Secondaria

1. Associata ad infezioni

- EBV;
- CMV;
- HIV;
- Infezioni Batteriche;
- Infezioni da Parassiti;
- Infezioni da Miceti

2. Associata a patologie maligne

- Malattie maligne ematologiche
 - Linfoma di Hodgkin
 - Tumori solidi

3. Associata a patologie reumatologiche

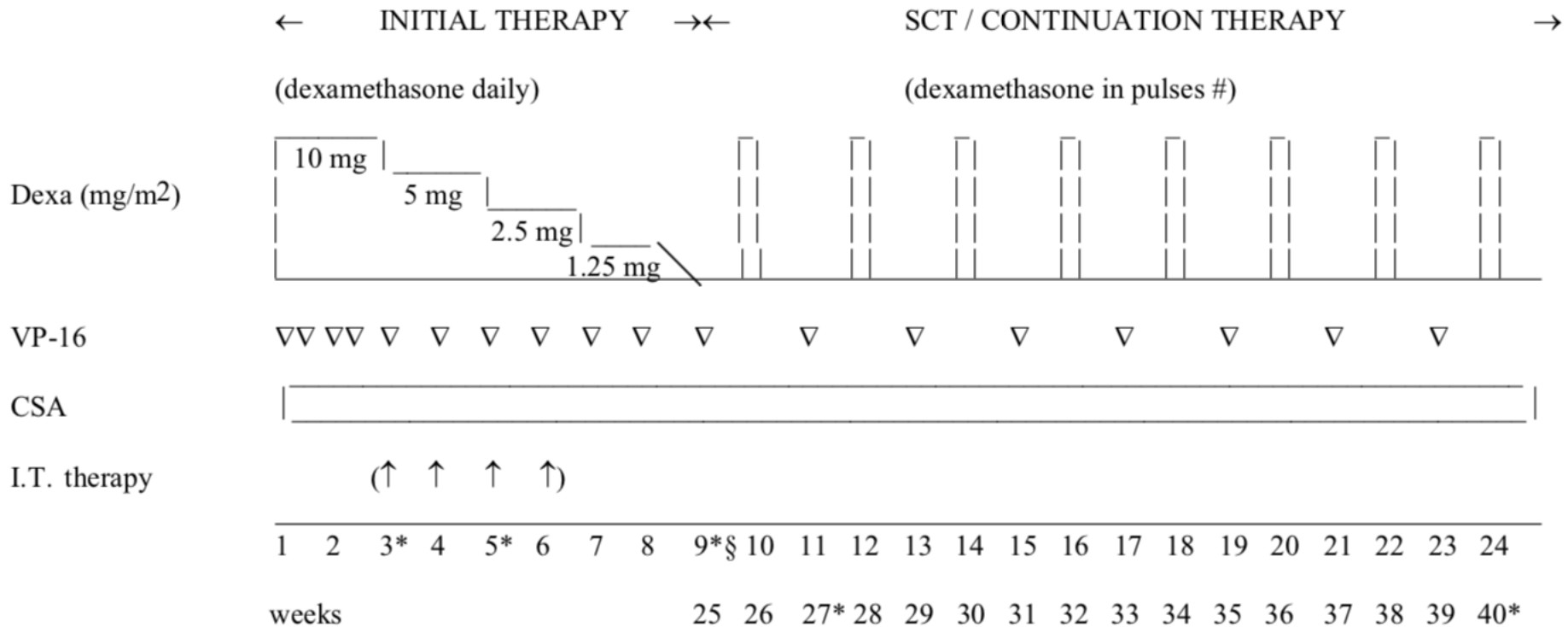
- AIG; Vasculiti;
- LES; Malattie autoinfiammatorie

- ✓ Frequenti episodi febbrili (TC 39°C);
- ✓ Epatosplenomegalia;
- ✓ Citopenia di due linee cellulari, Hb e PLT;
- ✓ Peggioramento degli indici di attivazione macrofagici.



**Trattamento secondo
Protocollo HLH 2004**

Figure 2: Treatment protocol overview for Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH-2004)



Decorso clinico...

- ✓ Periodici controlli clinico – ematologici.
- ✓ Andamento cronico recidivante degli episodi febbrili.
- ✓ Citopenia con frequenti trasfusioni di GRC e PLT.
- ✓ Parziale stabilizzazione degli indici di attivazione macrofagica.
- ✓ Epatosplenomegalia persistente.



- ✓ Rapido decadimento delle condizioni cliniche con insufficienza multiorgano (MOF) ed exitus

Caso 1

- Dx HLH secondaria a leishmania (PCR pos)
- Ipogammaglobulinemia

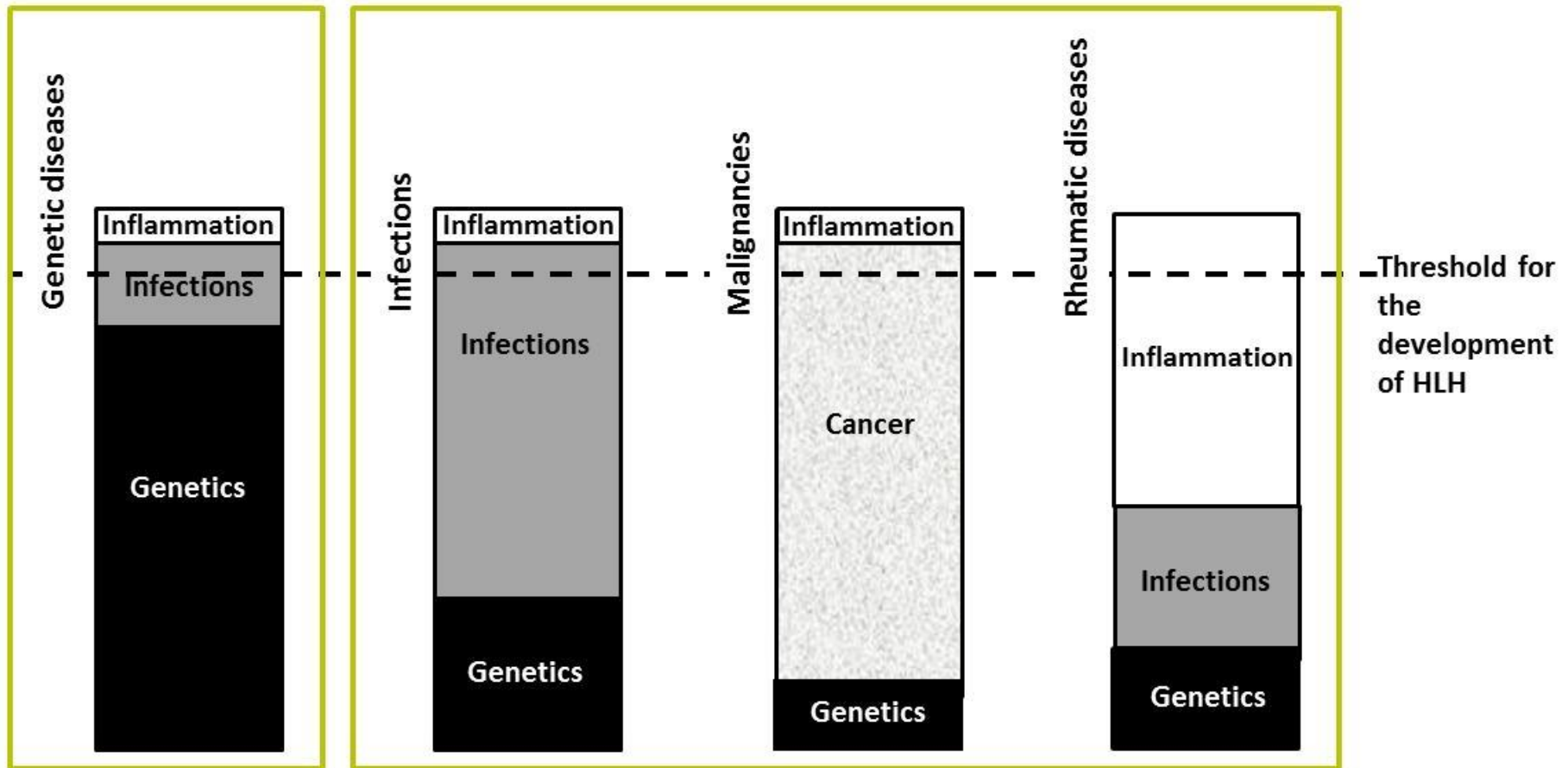
Caso 2

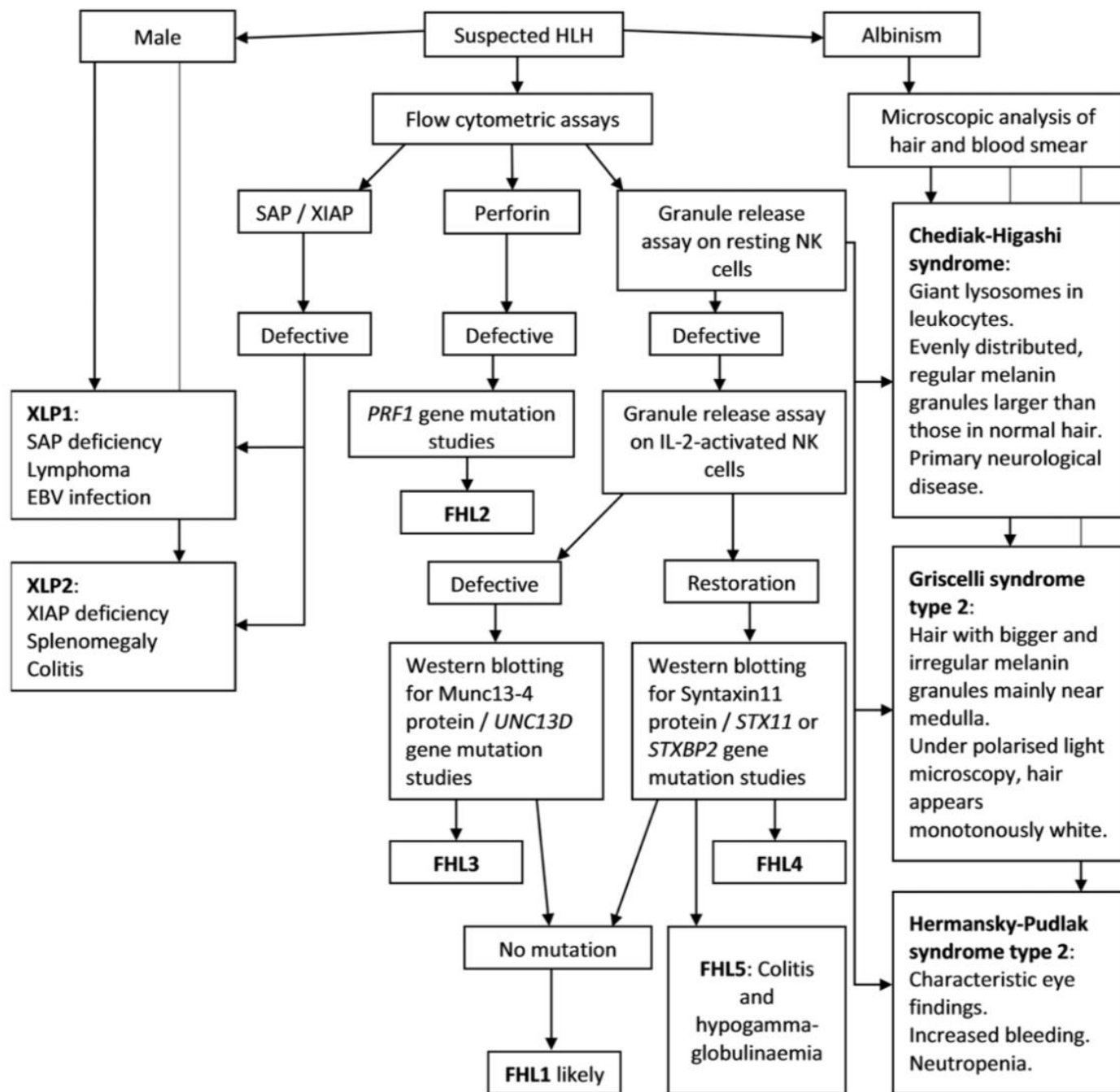
- Possibile dx iniziale leishmania (ex juvantibus)
- Dx tardiva S. Griscelli
- Risposta temporanea alla terapia

HLH: one clinical syndrome characterized by variable contributions from different causes

Primary HLH

Secondary HLH





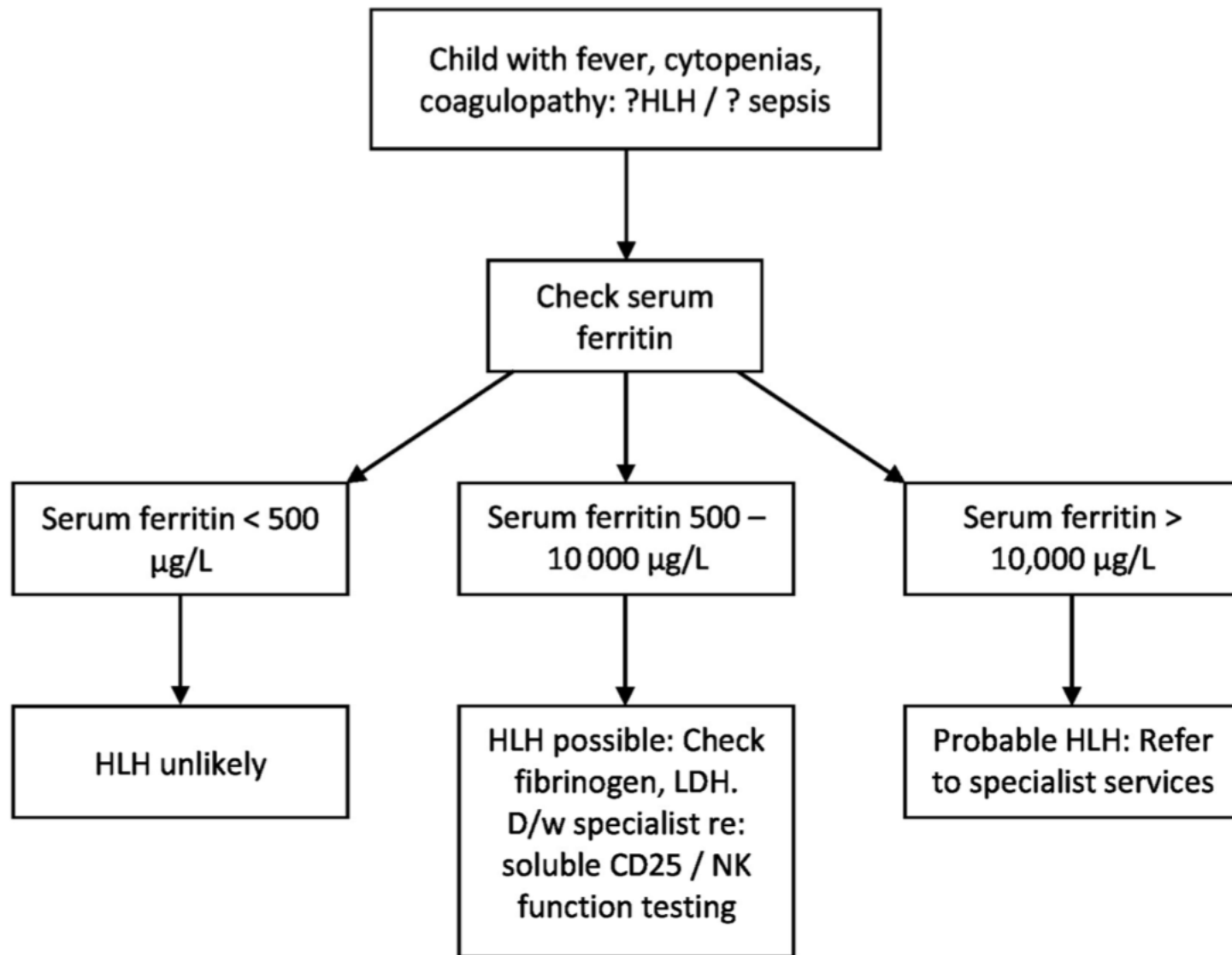
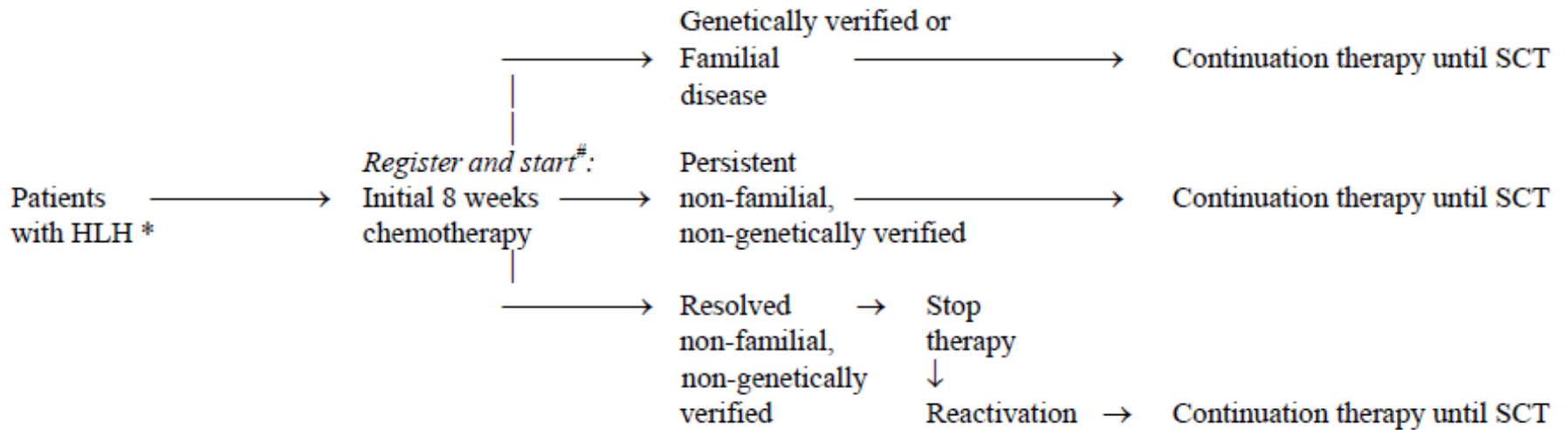


Figure 1: Flow-sheet for Children with Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) in HLH-2004





—FDA Approvazioni—

GAMIFANT, primo farmaco specifico per il trattamento della linfocitosi emofagocitica primaria (HLH), rara sindrome iperinflammatoria genetica

Gamifant
(emapalumab-lzsg)
Injection
50 mg/10 mL
(5 mg/mL)

NDC 72171-505-01

For intravenous infusion only.
Requires dilution prior to administration.
Dispense with Medication separately.

f farmaceuticayounger.science

- Anticorpo monoclonale diretto contro l'interferone gamma
- Capace di portare rapidamente sotto controllo l'iperespressione infiammatoria
- Capace di avviare il paziente al trapianto di cellule staminali ematopoietiche, che è l'unica cura