



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Síndrome Hemofagocítico em idade pediátrica: novas perspetivas no diagnóstico e terapêutica

Marta Sofia Rodrigues Correia

Junho'2019



LISBOA

UNIVERSIDADE
DE LISBOA



FACULDADE DE
MEDICINA
LISBOA

TRABALHO FINAL

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA

Clínica Universitária de Pediatria

Síndrome Hemofagocítico em idade pediátrica: novas perspetivas no diagnóstico e terapêutica

Marta Sofia Rodrigues Correia

Orientado por:

Dr.^a Sofia Andreia Videira Almeida

Junho'2019

Resumo

O síndrome hemofagocítico (HLH) é uma doença hiperinflamatória, caracterizada pela ativação descontrolada de linfócitos T e macrófagos com produção de níveis elevados de citocinas, podendo afetar múltiplos órgãos e sistemas. Classicamente, é classificado como HLH primário, se associado a mutações genéticas típicas; ou HLH secundário, quando provocado por doenças infecciosas, malignas ou auto-ímmunes. As suas manifestações clínicas são inespecíficas e incluem febre, hepatoesplenomegalia, citopenias, coagulopatia, hipertrigliceridemia, hipofibrinogenemia e hiperferritinemia. O tratamento adequado tem por base *guidelines* desenvolvidas pela *Histiocyte Society* em 1994 e revistas em 2004. Estas compreendem a combinação sistémica de agentes imuno- e mielossupressores, nomeadamente, dexametasona, etoposido e ciclosporina A. Vários esforços têm vindo a ser desenvolvidos para uma melhor compreensão da patogénese do HLH adquirido, para que seja possível desenvolver terapêuticas mais dirigidas com fármacos biológicos.

Apresenta-se uma revisão do HLH secundário, com maior foco no diagnóstico e novas perspectivas terapêuticas, tendo por base o caso clínico de uma criança de 9 anos de idade, que recorreu ao serviço de urgência por apendicite aguda perfurada. A criança evoluiu para um quadro compatível com HLH secundário a infeção, com falência multi-orgânica progressiva, que culminou no óbito em menos de duas semanas após instalação dos primeiros sintomas, mesmo sob terapêutica dirigida. Esta revisão tem como principal objetivo alertar para o reconhecimento desta doença, ainda subdiagnosticada, cujo prognóstico depende da instituição precoce do tratamento, uma vez que na ausência dele, tem um curso rapidamente fatal.

Palavras-chave: Síndrome Hemofagocítico Secundário (HLH); Pediatria; Diagnóstico; Tratamento

O trabalho final exprime a opinião do autor e não da FML.

Abstract

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is an hyperinflammatory syndrome characterized by uncontrolled activation of T cells and macrophages with production of high levels of cytokines, resulting in invasion and dysfunction of multiple organs and systems. Classically, is classified as primary HLH, if associated with typical genetic mutations; or as secondary HLH, when triggered by infections, malignant or autoimmune diseases. Its clinical manifestations are nonspecific and include fever, hepatosplenomegaly, cytopenias, coagulopathy, hypertriglyceridemia, hypofibrinogenemia and hyperferritinemia. The appropriate treatment is based upon guidelines published by the *Histiocyte Society* in 1994 and revised in 2004. These comprise the systemic combination of immuno- and myelosuppressive drugs, namely dexamethasone, etoposide and cyclosporine A. Various efforts have been made to better comprehend the pathogenesis of acquired HLH, in order to develop new biological agents, for a more directed treatment.

We present a review of secondary HLH focused on diagnosis and new therapeutic prospects, based on a case report of a 9 years old female child, who headed to the emergency department with a case of acute perforated appendicitis. The child developed a clinical state compatible with secondary HLH, due to infection, and progressive multiple organ dysfunction, that ended in death in less than two weeks after the onset of the first symptoms, under proper treatment. The main objective is to increase medical awareness for this syndrome, still underdiagnosed, and whose prognosis depends on early treatment institution, since it has a rapidly fatal course without it.

Key-words: Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH); Pediatrics; Diagnosis; Treatment

The final work expresses the opinion of the author and not of the FML.

Índice

RESUMO	2
ABSTRACT	3
GLOSSÁRIO DE ABREVIATURAS.....	5
INTRODUÇÃO	6
CASO CLÍNICO	8
1. IDENTIFICAÇÃO	8
2. ANTECEDENTES FAMILIARES	8
3. ANTECEDENTES PESSOAIS	8
4. HISTÓRIA DA DOENÇA ATUAL.....	8
5. EVOLUÇÃO DURANTE O INTERNAMENTO	9
DISCUSSÃO E REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	11
CONCLUSÃO	27
AGRADECIMENTOS.....	28
BIBLIOGRAFIA	29

Glossário de Abreviaturas

HLH – síndrome hemofagocítico

SNC – sistema nervoso central

IVIg – imunoglobulina endovenosa

HSM – hospital de Santa Maria

SU – serviço de urgência

UCI – unidade de cuidados intensivos

PCR – proteína C reativa

SNG – sonda nasogástrica

AST – aspartato aminotransferase

ALT – alanina aminotransferase

FMO – falência múltipla de órgão

LCR - líquido céfalo-raquidiano

SAM – síndrome de ativação macrofágico

TNF – fator de necrose tumoral

IFN – interferão

IL – interleucina

M-CSF – *macrophage colony-stimulating factor*

EBV – vírus *Epstein-Barr*

ATG – globulina antitimócito

JAK – janus quinase

Introdução

O Síndrome Hemofagocítico (HLH) é uma doença hiperinflamatória potencialmente fatal, caracterizada pela ativação patológica e persistente de linfócitos T citotóxicos e células NK, que leva a um aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias, ativação de macrófagos e a sua infiltração nos tecidos¹⁻⁴.

Pode ser classificado em HLH primário ou familiar, correspondendo a uma doença genética autossômica recessiva, que, na maioria dos casos, se manifesta no início da infância⁵. Caso o HLH ocorra na ausência de uma anomalia genética predisponente, é classificado como secundário, adquirido ou reativo^{1,2,5}. O HLH secundário encontra-se associado a doentes com patologia subjacente, que pode ser de natureza infecciosa, reumatológica, maligna, metabólica ou imunológica (imunodeficiências hereditárias e adquiridas)^{1,6}. Dados recentes apontam para que cerca de 15% dos doentes adultos diagnosticados com HLH secundário apresentem mutações nos genes associados ao HLH familiar¹ – PRF1, UNC13D, STX11, STXBP2^{1,4,7,8}.

Não existem dados concretos sobre a incidência de HLH secundário, tanto em crianças como em adultos, mas presume-se que seja uma patologia subdiagnosticada, pela sua semelhança com outras doenças hiperinflamatórias^{4,8-10}. A incidência estimada da doença primária advém principalmente de estudos retrospectivos¹. *Meeths et al*, num estudo realizado na Suécia com dados recolhidos entre 2007 e 2011, estimou uma incidência anual de 0,12 por 100 000 crianças^{8,11}. Não é claro que exista predominância por sexo¹.

Trata-se de uma doença caracterizada por uma constelação de sinais e sintomas pouco específicos, que englobam: febre, citopenias, hepatoesplenomegalia com disfunção hepática e alterações neurológicas^{1,4}. A evidência de hemofagocitose – macrófagos ativados que fagocitam eritrócitos, leucócitos, plaquetas e as suas células precursoras⁴ – no aspirado de medula óssea, gânglios linfáticos ou baço é um achado pouco sensível, estando muitas vezes ausente nas fases iniciais da doença; e pouco específico, podendo ser encontrado igualmente em doenças infecciosas e auto-imunes, pós-transfusões sanguíneas e na falência de medula óssea^{7,12}.

Sem tratamento, é rapidamente progressiva e evolui quase sempre de forma fatal na doença primária¹. A taxa de mortalidade sem tratamento na doença secundária não se encontra tão bem definida, mas estima-se que ronde os 50-75%¹. Deste modo, é de

extrema importância o diagnóstico precoce e o rápido início de tratamento, cujos objetivos principais são a supressão da hiperinflamação e atuação na doença subjacente^{4,7,13}.

Dado que, inicialmente, as alterações genéticas não se encontram confirmadas, o tratamento instituído é igual para doentes com a variante primária ou secundária¹. Atualmente, o tratamento baseia-se em *guidelines* publicadas pela *Histiocyte Society* em 1994 e revistas em 2004 (HLH-94 e HLH-2004, respetivamente), baseado no uso de uma combinação de agentes imunossuppressores e mielossuppressores^{1,3}.

O protocolo HLH-94 inclui uma fase de indução com dexametasona e etoposido, que pode ser seguida de terapêutica de manutenção com adição de ciclosporina A como ponte para transplante alogénico de células estaminais hematopoiéticas em crianças com doença familiar conhecida ou HLH secundária grave e persistente^{1,3,5}. Caso exista envolvimento do sistema nervoso central (SNC), a administração intratecal de metotrexato é considerada⁵.

O protocolo HLH-2004 introduziu a ciclosporina A no início da terapia de indução, com o objetivo de aumentar a intensidade do tratamento e interromper a hiperinflamação provocada pelo excesso de citocinas^{3,5}. Englobou ainda a combinação de dexametasona e metotrexato intratecal no caso de doença do SNC³.

Mesmo com estas modificações, cerca de 30% dos doentes com HLH não responde à terapêutica convencional³. Assim, a procura contínua por novas abordagens terapêuticas mantém-se uma prioridade da investigação médica.

Caso Clínico

1. Identificação

C.R.L., sexo feminino, 9 anos.

2. Antecedentes familiares

Pais não consanguíneos. Mãe de 37 anos e pai de 39 anos, saudáveis. Irmão de 6 anos, saudável. Sem doenças de transmissão heredo-familiar conhecidas.

3. Antecedentes pessoais

Gestação vigiada, sem intercorrências, com parto eutócico às 39 semanas no Hospital de Santa Maria (HSM). Período neonatal sem intercorrências.

Desenvolvimento estatura-ponderal e psicomotor adequados à idade. Atualmente no 4º ano de escolaridade, com bom aproveitamento escolar.

Plano nacional de vacinação atualizado. Sem doenças, internamentos ou cirurgias anteriores.

4. História da Doença Atual

Aparentemente saudável até oito dias antes do internamento, quando iniciou quadro de dor abdominal de agravamento progressivo, inicialmente localizada nos quadrantes superiores e com posterior migração para os quadrantes inferiores. Contexto epidemiológico familiar de gastroenterite aguda (no irmão).

Foi observada no serviço de urgência (SU) do Hospital da área de residência, tendo tido alta com medidas sintomáticas. Por agravamento do quadro, associado ao aparecimento de vômitos biliosos e febre recorreu novamente ao SU. A avaliação analítica revelou aumento dos parâmetros inflamatórios (leucócitos 22470/uL, 91,4% neutrófilos; Proteína C Reativa (PCR) 32,2 mg/dL) e a ecografia abdominal mostrou sinais de apendicite. Nesse contexto, iniciou antibioticoterapia com cefoxitina e gentamicina e foi transferida para o HSM.

Foi submetida a apendicectomia, tendo sido constatado intraoperatoriamente apendicite perfurada com peritonite. Foi colhido líquido purulento para exame bacteriológico que se

revelou negativo. Ficou internada no serviço de Cirurgia Pediátrica, mantendo antibioterapia com amoxicilina + ácido clavulânico e metronidazol e suporte nutricional.

Em D2 de pós-operatório, recomeçou febre, pelo que se decidiu iniciar Ertapenem.

Em D4, no contexto de vômitos biliosos com manutenção da febre, e aumento dos parâmetros inflamatórios, repetiu avaliação ecográfica que evidenciou líquido não puro coletado (diâmetro máximo de 3,5 cm), associado a distensão e espessamento parietal das ansas intestinais. Foi colocada sonda nasogástrica (SNG) em aspiração ativa de baixa pressão, que ficou funcionante com saída de conteúdo bilioso escuro. Em D5 de pós-operatório, por manter febre e achados ecográficos de líquido intra-peritoneal multiloculado, foi submetida a nova cirurgia: laparotomia exploradora, lavagem intra-peritoneal e colocação de dreno multitubular.

Foi transferida para a unidade de cuidados intensivos pediátricos (UCI) no pós-operatório, em respiração espontânea em ar ambiente, hemodinamicamente estável, com abdômen distendido, mas depressível.

5. Evolução durante o internamento

Em D2 de internamento na UCI, mantinha febre e constatou-se esplenomegalia ao exame objetivo. Laboratorialmente, apresentava leucopenia de 2340/uL (neutrófilos 1660/uL) e trombocitopenia de 140.000/uL, AST 1107 UI/L e ALT 279UI/L. Colocou-se a hipótese de síndrome hemofagocítico secundário a infecção, tendo-se pedido avaliação da ferritina e triglicéridos que se revelaram elevados: 72 400 ug/L e 260 mg/dL, respetivamente.

Nas primeiras 12h, verificou-se um agravamento rápido da neutropenia para 940/uL (valor mais baixo) e da trombocitopenia para 97.000/uL (valor mínimo de 23.000/uL em D4), associado a anemia de 10 g/dL (valor mínimo de 8.2 g/dL em D4) e coaguloptatia com hipofibrinogenemia de 1,8 g/L (agravamento progressivo até valor mínimo de 0,55 g/L em D4).

Na tarde de D2, iniciou terapêutica com imunoglobulina endovenosa (IVIg) e dexametasona. Alterou-se antibioticoterapia para ciprofloxacina, vancomicina e metronidazol.

Em D3 apresentou uma convulsão tónico-clónica generalizada, da qual recuperou após diazepam. Realizou TC-CE, que se revelou normal, e RM-CE que mostrou alterações

discretas de restrição à difusão no córtex parieto-frontal e occipital bilateral, interpretadas como alterações compatíveis com status pós-ictal.

Após este episódio, manteve alteração do estado de consciência, alternando períodos de apatia, em que não cumpria ordens nem interagia com o meio envolvente, com períodos de agitação motora, traduzida por movimentos descoordenados dos membros.

Assumindo possível estado de mal convulsivo, foi submetida a impregnação com fenitoína, sem efeito. Em poucas horas, assistiu-se a um agravamento rápido do seu estado neurológico, ficando progressivamente menos reativa, com reação apenas à dor, pelo que foi ventilada de forma invasiva para proteção da via aérea.

Afastada a hipótese de mal convulsivo e com valores de amônia baixos (excluindo encefalopatia por insuficiência hepática), o quadro neurológico foi interpretado como resultado de encefalopatia no contexto de HLH. Perante a gravidade do quadro, decidiu adicionar-se à terapêutica etoposido e ciclosporina A.

Mesmo sob este tratamento, verificou-se agravamento rápido do quadro clínico para falência multiorgânica: cardiovascular, com necessidade de suporte aminérgico a partir de D4; renal, com acidose metabólica e hipercaliemia refratárias a terapêutica médica, progredindo para anúria, com início de hemodiafiltração veno-venosa contínua em D4; hepática (valores máximos de AST 21116 U/L, ALT 2639 U/L, GGT 291 U/L, bilirrubina total 4,26 mg/dL); hematológica com necessidade de múltiplas transfusões de hemoderivados. Neurologicamente, não se verificou recuperação, repetindo vários episódios convulsivos em D5, refratários ao aumento da dose de midazolam em perfusão. Evoluiu para um quadro irreversível, com critérios de morte cerebral em D6.

Laboratorialmente, observou-se duplicação dos valores de ferritina a cada 12 horas (valor máximo de 242 228 ng/mL em D4). Todas as culturas realizadas foram negativas – no sangue, líquido intra-abdominal colhido no bloco e através do dreno e secreções respiratórias. As serologias para o EBV, Herpes vírus tipo 1 e 2, VIH, CMV, *Coxsackie virus*, Parvovirus e *Mycoplasma pneumoniae* foram negativas.

Discussão e Revisão Bibliográfica

Identificar um doente com HLH é um desafio e requer uma grande suspeita clínica, uma vez que não existem manifestações clínicas ou laboratoriais patognomónicas e os sinais são pouco específicos^{1,12,14,15}. No entanto, perante um doente com febre elevada persistente, que não cede a antimicrobianos, associada a hepatoesplenomegalia e citopenias, o síndrome hemofagocítico deve ser sempre excluído^{4,16}.

Tal como no caso clínico apresentado, os doentes encontram-se frequentemente gravemente doentes e progridem rapidamente para um quadro semelhante ao choque séptico com falência múltipla de órgão (FMO)^{1,14,15,17}, tornando difícil o diagnóstico e o início precoce de um tratamento adequado. Paralelamente, mesmo quando reconhecido, há muita resistência em administrar terapêutica imunossupressora num doente em sépsis, por exemplo^{1,8,14,18}.

O diagnóstico de HLH baseia-se em critérios pouco específicos introduzidos nas *guidelines* de 1998 e revistos em 2004^{4,5}, necessitando da presença de cinco de oito critérios clínicos e laboratoriais ou da presença de um diagnóstico molecular consistente com HLH, como listado na *tabela 1*⁵.

TABLE I. Revised Diagnostic Guidelines for HLH

The diagnosis HLH can be established if one of either 1 or 2 below is fulfilled

(1) A molecular diagnosis consistent with HLH

(2) Diagnostic criteria for HLH fulfilled (five out of the eight criteria below)

(A) Initial diagnostic criteria (*to be evaluated in all patients with HLH*)

- Fever
- Splenomegaly
- Cytopenias (affecting ≥ 2 of 3 lineages in the peripheral blood):
 - Hemoglobin < 90 g/L (in infants < 4 weeks: hemoglobin < 100 g/L)
 - Platelets $< 100 \times 10^9$ /L
 - Neutrophils $< 1.0 \times 10^9$ /L
- Hypertriglyceridemia and/or hypofibrinogenemia:
 - Fasting triglycerides ≥ 3.0 mmol/L (i.e., ≥ 265 mg/dl)
 - Fibrinogen ≤ 1.5 g/L
- Hemophagocytosis in bone marrow or spleen or lymph nodes
- No evidence of malignancy

(B) New diagnostic criteria

- Low or absent NK-cell activity (according to local laboratory reference)
- Ferritin ≥ 500 μ g/L
- Soluble CD25 (i.e., soluble IL-2 receptor) $\geq 2,400$ U/ml

Tabela 1 - Critérios de diagnóstico para HLH, adaptada de Henter JI et al. HLH-2004: Diagnostic and Therapeutic Guidelines for Hemaphagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;

Embora inicialmente C.R.L. não cumprisse estritamente os critérios, verificou-se um agravamento laboratorial rápido e em menos de 12h cumpria 5 critérios do total de 8: febre, esplenomegalia, hiperferritinemia >500 ug/L, citopenias afetando pelo menos duas linhagens (neutropenia de 940/uL, trombocitopenia de 97.000/uL), hipertrigliceridemia (embora em valor *borderline* de 260 mg/dL). Neste caso, não foi realizada a pesquisa de hemofagocitose na medula óssea, doseamento do recetor de IL-2 (CD25 solúvel) nem pesquisa de atividade das células NK. Os dois últimos, que não implicavam a realização de técnicas mais invasivas, poderiam ter reforçado o diagnóstico. No entanto, face à presença dos outros critérios clínicos e laboratoriais e progressão rápida do quadro clínico, os seus resultados, provavelmente morosos, não teriam influenciado a decisão de iniciar terapêutica dirigida.

Na prática clínica, os critérios utilizados para o diagnóstico podem não ser completamente adequados para as formas secundárias, dado que foram inicialmente desenvolvidos para a população pediátrica com doença primária^{6,14,19,20}. Assim, desenvolveu-se um *score* a partir de dados de amostras de adultos com suspeita de HLH, com o objetivo de aumentar a especificidade no diagnóstico da doença secundária: *HScore*^{19,20}. Engloba nove variáveis (*tabela 2*) com pontuação máxima de 337 – imunossupressão de base conhecida, temperatura corporal, organomegalias, número de citopenias, níveis de ferritina, triglicéridos, fibrinogénio, AST, e hemofagocitose no aspirado de medula óssea – e calcula a probabilidade do diagnóstico de HLH num doente, sendo que o *cut-off* de 169 apresenta o melhor equilíbrio entre sensibilidade e especificidade^{1,19}. Posteriormente, o *HScore* foi validado para a população pediátrica, onde se concluiu que o valor de *cut-off* ótimo à apresentação seria 120, com sensibilidade de 100%, superior ao protocolo de 2004; e especificidade de 80%^{1,20}.

Parameter	No. of points (criteria for scoring)
Known underlying immunosuppression*	0 (no) or 18 (yes)
Temperature (°C)	0 (<38.4), 33 (38.4–39.4), or 49 (>39.4)
Organomegaly	0 (no), 23 (hepatomegaly or splenomegaly), or 38 (hepatomegaly and splenomegaly)
No. of cytopenias†	0 (1 lineage), 24 (2 lineages), or 34 (3 lineages)
Ferritin (ng/ml)	0 (<2,000), 35 (2,000–6,000), or 50 (>6,000)
Triglyceride (mmoles/liter)	0 (<1.5), 44 (1.5–4), or 64 (>4)
Fibrinogen (gm/liter)	0 (>2.5) or 30 (≤2.5)
Serum glutamic oxaloacetic transaminase (IU/liter)	0 (<30) or 19 (≥30)
Hemophagocytosis features on bone marrow aspirate	0 (no) or 35 (yes)

* Human immunodeficiency virus positive or receiving long-term immunosuppressive therapy (i.e., glucocorticoids, cyclosporine, azathioprine).

† Defined as a hemoglobin level of ≤9.2 gm/dl and/or a leukocyte count of ≤5,000/mm³ and/or a platelet count of ≤110,000/mm³.

Tabela 2 - *Hscore*, adaptada de Fardet L *et al.* Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. Arthritis Rheumatol. 2014

Utilizando estes critérios, C.R.L. atinge um *score* de 169 à entrada na UCI: temperatura máxima de 38,7°C (33); esplenomegalia (23); ferritina de 72 400 ug/L (50); triglicéridos de 2,94 mmol/L (44); AST de 1107 UI/L (19). Com o agravamento dos parâmetros laboratoriais [citopenias em duas linhagens – leucócitos e plaquetas (24); e hipofibrinogenemia (30)] o *score* alterou-se para 223. A probabilidade da doente apresentar HLH, com os scores calculados é de 54% e 96%, respetivamente¹⁹.

C.R.L. apresentou sempre níveis muito elevados de ferritina, que foram aumentando progressivamente, mesmo sob tratamento, até um máximo de 242228 ng/mL. Esta é uma das manifestações laboratoriais que se encontra presente na quase totalidade dos doentes com HLH, sendo produzida por macrófagos ativados em resposta à hemoglobina livre e DNA em circulação^{4,14,15}. *Allen et al.* demonstrou que níveis de ferritina superiores a 10 000 ng/ml estavam associados a uma sensibilidade de 90% e especificidade de 96% para o diagnóstico de HLH, subindo para 98% na presença de febre²¹. Num estudo mais recente, *Lehmberg et al.* revelou que, embora níveis de 7500 ou 10 000 ng/ml tivessem especificidade elevada (94 a 96%), a sensibilidade era muito mais baixa ao demonstrado anteriormente (37% e 29%, respetivamente)²², colocando em causa a utilidade deste parâmetro no diagnóstico e monitorização da resposta à terapêutica.

Paralelamente, é preciso ter em consideração que a decisão para iniciar tratamento específico, depende em grande parte da gravidade e evolução dos sintomas e não apenas da presença de todos os critérios citados^{4,6,12,23}. A gravidade pode ser avaliada por manifestações que não fazem parte dos critérios, mas que reforçam a suspeita de HLH, nomeadamente: sintomas neurológicos, pleocitose do líquido céfalo-raquidiano (LCR), hiperbilirrubinemia conjugada, elevação das transaminases, hipoalbuminemia, hiponatremia e elevação dos D-dímeros^{6,15}. Para além disso, existem outras alterações dos parâmetros laboratoriais que podem fazer suspeitar de HLH, por exemplo, a diminuição da velocidade de sedimentação eritrocitária – por consumo do fibrinogénio associado à disfunção hepática – a contrastar com o aumento da PCR em doentes sépticos^{15,23,24}.

Estima-se que exista envolvimento neurológico em cerca de dois terços dos casos de HLH durante o curso da doença, tanto primária como secundária^{1,9,25,26}. É considerado um marcador de mau prognóstico, reduzindo a sobrevivência aos cinco anos de 67% para 40% e nos sobreviventes pode resultar em sequelas neurológicas tardias^{9,27}. O

envolvimento neurológico foi de facto significativo no caso descrito, manifestando-se por crises convulsivas tónico-clónicas, uma das manifestações neurológicas mais comuns no HLH (33-83% dos doentes que se apresentam com alterações do SNC), bem como alterações do estado de consciência e sinais de encefalopatia (31-47% dos casos)⁹.

A ressonância magnética é o exame imagiológico de excelência para a documentação de alterações que se podem apresentar como lesões multifocais e bilaterais da substância branca, com uma alta taxa de simetria (cerca de 53%), reforço leptomeníngeo, nodular ou em anel e edema difuso^{9,13}. Podem ainda verificar-se alterações do LCR quando realizada punção lombar – pleocitose e aumento das proteínas^{1,9}.

O caso clínico exposto trata-se, provavelmente, de um caso de apresentação secundária de HLH, ligada a um *trigger* infeccioso, tendo em conta tratar-se de uma criança mais velha, previamente saudável, sem história de consanguinidade entre os pais ou história familiar de HLH^{14,18}.

Dentro das causas infecciosas, a mais comum é a infeção viral, nomeadamente pelo vírus *Epstein-Barr* (EBV), por proliferação e hiperativação dos linfócitos T infetados^{1,4,7,25}. No entanto, outros vírus encontram-se implicados na etiologia de HLH secundário como citomegalovírus, *Herpes simplex* tipo 1 e 2, *Varicella-zoster*, *Roseolovirus*, *Adenovirus*, *Influenza A*, vírus associados a febres hemorrágicas, entre outros^{1,4,16}. Dentro dos *triggers* bacterianos, fúngicos e parasíticos, menos comuns, destacam-se as espécies de *Rickettsia* e *Mycobacterium*, *Histoplasma* e *Plasmodium*, *Leishmania* e *Babesia*, respetivamente^{1,12}. No caso de C.R.L. foram realizados diversos estudos culturais e serológicos que se revelaram todos negativos, impossibilitando a identificação de um agente etiológico.

A neoplasia é uma etiologia pouco comum na população pediátrica, contando para cerca de 8% dos casos¹, e compreende, maioritariamente, neoplasias hematológicas como linfomas^{1,16}. O HLH relacionado com doença auto-imune subjacente designa-se por Síndrome de Ativação Macrofágica (SAM), sendo a Artrite Juvenil Idiopática a mais frequente, com 30 a 40% dos doentes com esta doença a desenvolver algum grau de SAM^{1,4,7}. Outras doenças imunes associadas são o Lúpus Eritematoso Sistémico e a Doença de Kawasaki¹. Também foram observados casos de HLH em doentes pós-transplante hematopoiético ou imunossuprimidos por outras causas, incluindo

imunodeficiências primárias (associadas a mutações nos genes *MAGT1*, *ITK*, *CD27*, *IKBKG* e *GATA 2*)^{1,12,25}; após períodos prolongados de nutrição parentérica total⁷; e em casos de hipersensibilidade a fármacos¹⁹.

No entanto, não é evidente o motivo pelo qual apenas uma pequena proporção dos indivíduos com os fatores mencionados desenvolve HLH. Nos últimos anos, tem-se assistido à descoberta de novas alterações genéticas que tornam difícil a distinção entre doença primária e secundária e que apoiam uma classificação da doença em espectro, baseando-se na interação complexa entre defeitos genéticos e polimorfismos herdados e estímulos imunes extrínsecos^{8,28,29}. Mutações que resultam na ausência de função de uma proteína – como a perforina - relacionam-se com início precoce da doença, habitualmente antes do primeiro ano de idade, enquanto que mutações funcionais ou polimorfismos podem manifestar-se apenas na idade adulta^{1,8}.

Chinn et al, num estudo de 2018, analisou o exoma de crianças diagnosticadas com HLH, identificando variações nos genes relacionados com a via citolítica de desgranulação mediada pela perforina, em crianças com o diagnóstico presumido de HLH secundário²⁹. Neste mesmo estudo foram identificadas em 23% das crianças sem defeitos de HLH primário bialélicos, alterações em outros genes com um papel preponderante na regulação da ativação e proliferação imunes – *NLRC4*, *NLRP12*, *NLRP4* e *NRLC3*²⁹. A mutação no gene *NLRC4* está associada a hiperativação de inflamassomas nas células hematológicas e gastrointestinais, com a produção de elevadas quantidades de IL-18 – uma potente citocina indutora de IFN- γ ^{12,30}. Em outro estudo, *Cetica et al.* demonstrou que 18% dos doentes com doença secundária apresentavam mutações monoalélicas num dos genes relacionados com HLH primário - *PRF1*, *UNC13D*, *STX11*, *STXBP2* ou *RAB27A*³¹. Apesar de se poderem encontrar estes polimorfismos em pessoas saudáveis, a sua frequência é muito mais elevada nestes doentes, o que vai de encontro à teoria do espectro de interação entre estímulos intrínsecos e ambientais³¹. Concluindo, a deteção de mutações heterozigóticas e outros polimorfismos tem vindo a tornar-se mais frequente nos doentes com HLH secundário, mas o significado dessas alterações para a patogénese da doença ainda não se encontra completamente estabelecida⁸.

No caso clínico descrito, foram realizadas colheitas para investigação genética, cujos resultados não se encontram disponíveis à data de realização desta revisão. A investigação de mutações relacionadas com o HLH foi considerada pertinente pela existência de um

irmão mais novo que ainda não teria tido manifestações clínicas, permitindo uma eventual vigilância neste sentido.

A acrescentar às dúvidas relativas ao papel de polimorfismos genéticos na etiologia de HLH secundário, a sua patogénese também não se encontra totalmente esclarecida^{4,9,25}.

Sabe-se que as manifestações clínicas derivam da produção anormal de citocinas pró-inflamatórias (*tabela 2*) – essencialmente IFN- γ , TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-8 e M-CSF – por linfócitos T citotóxicos e células NK (as mais importantes no controlo da ativação macrófagica), numa tentativa de eliminação do estímulo patológico^{4,8,14,25}. A inadequação na remoção do estímulo antigénico pelos linfócitos T e células NK, impede os mecanismos de *feedback* negativo fisiológicos do sistema imunitário através da apoptose dessas mesmas células, pelo que é perpetuado o ciclo de amplificação de hiperativação dos macrófagos, libertação de citocinas e resposta inflamatória^{1,8,16,28}.

HLH symptom/sign	Causative factors
Fever	IL-1; IL-6, TNF- α
Cytopenia in peripheral blood	Suppressive activity of TNF- α , INF- γ , and the heavy unit of ferritin on hematopoiesis; hemophagocytosis
High concentration of triglycerides in blood	Suppressive action of increased levels of TNF- α on lipoprotein lipase
Low concentration of fibrinogen in blood	High levels of plasminogen activator secreted by macrophages stimulate plasmin and in consequence lead to hyperfibrinolysis
High concentration of ferritin in serum	Released by activated histiocytes/macrophages
High concentration of the α chain of the sIL-2R in blood	Secreted by activated T lymphocytes
Hepatosplenomegaly	Organ infiltrations with activated lymphocytes and histiocytes/macrophages
Increased liver transaminases and bilirubin in blood	
Neurological abnormalities	

Tabela 3 – Sinais e sintomas de HLH e as suas causas, adaptada de Madkaikar M *et al.* Current Updates on Classification, Diagnosis and Treatment of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH). Indian J Pediatr. 2016

A ferritina ativa as células estreladas do fígado, produzindo lesão hepática e aumenta a expressão de *toll-like receptor 9* (TLR.9) nas células imunes inativadas, impedindo uma resposta imune adaptativa através da inibição da linfopoiese¹⁴. Este mecanismo cria um *loop* positivo de ativação macrófagica, produção de ferritina e perpetuação dos mecanismos patológicos¹⁴.

A ativação persistente de linfócitos T CD8⁺ e a sua consequente expansão descontrolada, encontra-se na base de utilização de etoposido na terapêutica do HLH, uma vez que este fármaco tem toxicidade aumentada contra células T ativadas, para além da sua atividade pró-apoptótica^{3,8,32}. O padrão de ativação de linfócitos T CD8⁺ é semelhante na doença primária e secundária, apesar de menos exuberante na doença secundária não relacionada com infeções³³. Por outro lado, a hiperativação dos linfócitos T CD4⁺ é característico da doença primária, podendo auxiliar na compreensão da patogénese e permitir um melhor diagnóstico diferencial³³.

Os níveis de citocinas anti-inflamatórias, como IL-10 e IL-18 *binding protein*, também se encontram aumentados, o que sugere que os doentes retenham algum mecanismo de supressão imune, embora não seja suficiente para compensar a hiperativação encontrada^{1,28,34}.

Das citocinas pró-inflamatórias mencionadas, o IFN- γ parece ter um papel predominante na patogénese do HLH, especificamente em algumas das manifestações, sobretudo as citopenias e a disfunção hepática^{1,8,35,36}. Adicionalmente, foi demonstrado que a sua produção se relaciona com os níveis sanguíneos de duas quimiocinas: CXCL9 e CXCL10, que são induzidas diretamente pela atividade do IFN- γ e cujos valores séricos também se correlacionam com parâmetros laboratoriais de HLH ativo: trombocitopenia, linfopenia e hiperferritinemia^{35,37}. Deste modo, a neutralização do IFN- γ é um dos alvos de estudo potenciais para uma terapêutica biológica mais específica^{1,35}. No entanto, é importante ter em conta que os níveis de IFN- γ detetado no sangue podem não refletir a magnitude da sua produção no organismo, devido ao seu catabolismo rápido, o que inviabiliza a sua utilização como biomarcador de atividade da doença³⁵.

Quando o *trigger* inicial é a infeção pelo EBV, em doentes sem imunossupressão evidente, as células infetadas são na sua maioria células T citotóxicas, para além das células B, associadas à infeção típica por este vírus^{1,8,16}. Apesar da proliferação clonal e da produção de citocinas, estas células não expressam proteínas muito imunogénicas, pelo que se conseguem evadir da sua remoção do organismo por outras células T citotóxicas¹⁶.

No caso de SAM e HLH induzida por fármacos, a causa subjacente principal é a atividade reduzida das células NK, não relacionada com o seu número absoluto^{14,16,30}. Como já descrito, encontram-se frequentemente associados a hipomorfias ou heterozigotias para os genes da via das perforinas-granzimas, pelo que alguma atividade é conservada^{8,14}.

Este é também o motivo pelo qual estes doentes respondem de maneira satisfatória a terapêuticas anti-inflamatórias¹⁴.

Pelo contrário no HLH relacionado com a sépsis grave e FMO, o mecanismo principal é a diminuição do número de células NK que mantêm uma atividade citolítica normal, mas insuficiente para controlar a proliferação desregulada de macrófagos^{14,18}. Neste subtipo, tanto o número de linfócitos T como a produção de IFN- γ é baixa ou mesmo quase nula e, por conseguinte, o tratamento com etoposido poderá ser prejudicial, por impedir a recuperação de células T¹⁴. Deste modo, especula-se que as terapêuticas com anticorpos anti IFN- γ , noutros casos aparentemente promissoras, nestes doentes poderão não ter o efeito desejado¹⁴. Podemos especular se não terá sido um dos motivos de ausência de resposta satisfatória ao etoposido no caso de C.R.L.

Dada a natureza agressiva deste síndrome com progressão rapidamente fatal, um início célere do tratamento é essencial para otimizar a sobrevivência dos doentes^{4,6,18}.

Antes da introdução do primeiro estudo clínico internacional dirigido para HLH em 1994 a sobrevivência a longo prazo era de cerca de 4%³². O protocolo HLH-94 desenvolvido é composto por um período de indução de oito semanas, com a administração de etoposido, 150 mg/m² duas vezes por semana nas primeiras duas semanas e depois uma vez por semana, em combinação com a administração de dexametasona, com dose inicial de 10 mg/m² e desmame progressivo ao longo das semanas seguintes^{1,3,6,32}. Em crianças com evidência de doença do SNC, recomenda-se terapêutica intratecal com metotrexato, a partir da terceira semana de tratamento^{9,32}. Em doentes com HLH secundário não se encontra recomendada terapêutica de manutenção com pulsos de dexametasona, combinados com etoposido e ciclosporina A, como ponte para transplante hematopoiético de células estaminais^{1,6,32}.

Com o protocolo de 1994 a sobrevivência a 5 anos aumentou para 54% com remissão permanente ou sobrevivência até ao transplante hematopoiético em 71% dos doentes³².

A partir da análise dos efeitos da implementação do protocolo de HLH-94 e o desenvolvimento de novos estudos, em 2004 publicaram-se novas *guidelines* com uma atualização das medidas terapêuticas (HLH-2004)^{1,5}.

Os óbitos precoces representam a causa única mais frequente de falência do tratamento, sendo difícil de clarificar se resultaram do tratamento imunossupressor ou da própria doença, em doentes com sepsis e FMO^{5,32}. Apesar disso, sabe-se que a maioria dos doentes que faleceram apresentavam HLH ativo, pelo que se especula que a causa de morte seja o próprio HLH³². Deste modo, o HLH-2004 recomenda a intensificação da fase de indução com ciclosporina A associada ao etoposido, com o objetivo de potenciar a limitação da ativação e proliferação do sistema imune, sem aumentar a mielotoxicidade^{1,5}

Verificou-se ainda que nos óbitos registados existia uma relação com a presença de alterações do SNC⁵. Deste modo, sugere-se a realização de análise do LCR a cada quatro semanas, para detetar recaídas precoces⁵. Na maioria dos doentes, as manifestações clínicas de doença do SNC, bem como as alterações do LCR e imagiológicas respondem à terapêutica sistémica administrada, sendo a dexametasona o corticóide com maior penetração e concentração no LCR, e com maior tempo de semi-vida^{9,17,27}. Ambos os protocolos defendem, no entanto, que a terapêutica intratecal poderá ter benefícios adicionais, pelo que recomendam a administração intratecal de metotrexato em doentes com sintomas do SNC ou pleocitose do LCR inalterada ou a piorar após duas semanas de terapêutica sistémica^{5,6,9,27}. Baseando-se nos efeitos benéficos sistémicos dos corticóides, o protocolo de 2004 acrescentou prednisolona intratecal ao metotrexato⁵. A administração é semanal, ao longo de quatro semanas e preferencialmente até haver resolução dos sintomas e ausência de alterações no LCR^{5,6,9}. No entanto, os benefícios da terapêutica intratecal necessitam de confirmação adicional por estudos de maior escala⁹.

Na *figura 1* encontram-se os esquemas terapêuticos sugeridos por ambos os protocolos descritos.

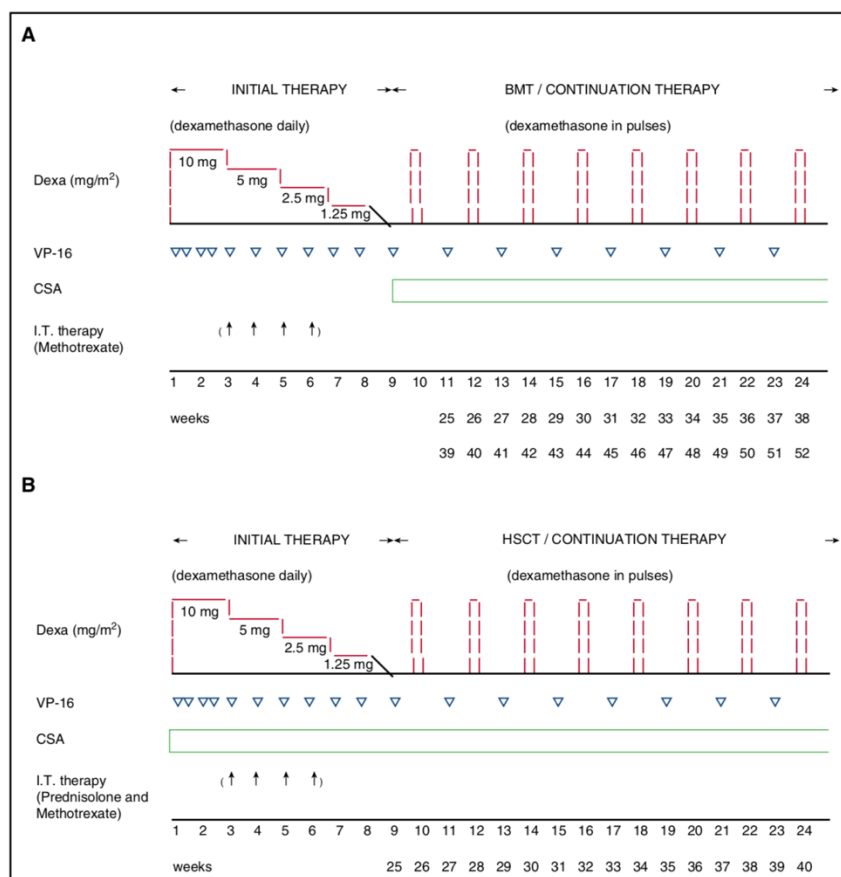


Figura 1 - Esquemas terapêuticos dos protocolos de 1994 e 2004, adaptada de Bergsten E. *et al.* Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: Long-Term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood*. 2017

Em Dezembro de 2017 foram publicados os resultados a longo prazo do protocolo de 2004, com foco na sobrevivência, mortalidade, toxicidade e comparação com o protocolo de 1994²⁷.

A sobrevivência geral a 5 anos no HLH-2004 foi de 62%, aumento que não alcançou significado estatístico quando comparado com os 54% do HLH-94 (*p-value* 0,15), de modo a que o HLH-2004 fosse recomendado em detrimento do primeiro^{6,27}. Concomitantemente, a mortalidade pré- transplante de células hematopoiéticas nos doentes com doença primária ou secundária persistente ou reativada diminuiu de 27% para 19%, que juntamente com a taxa mortalidade e reativação nos dois primeiros meses, não conquistaram resultados estatisticamente significativos²⁷.

A adição de corticóides intratecais, bem como a de ciclosporina A no início da terapêutica de indução, tinha como um dos objetivos diminuir os efeitos neurológicos graves a longo prazo^{1,27}. No entanto, constatou-se que 32% dos doentes apresentavam alterações neurológicas no diagnóstico, 17% depois de dois meses e 19% no início da terapêutica de condicionamento pré-transplante, percentagens muito semelhantes às de 1994²⁷.

A associação de ciclosporina A com dexametasona no início do tratamento esteve também associada a maior nefrotoxicidade^{6,12,38}. Adicionalmente, a ciclosporina A pode provocar síndrome de encefalopatia posterior reversível, e só deve ser administrada após exclusão de neoplasia hematológica associada, pois pode atrasar o seu diagnóstico^{6,16,38}.

Considerando todos estes resultados, concluiu-se que não haveria base científica para recomendar o protocolo de 2004 em detrimento do protocolo de 1994, que se recomenda que permaneça como abordagem terapêutica *standard* para HLH^{3,6,27}. Acrescenta-se ainda que é de extrema importância a pesquisa do desencadeante do HLH e de outras patologias associadas, uma vez que poderá permitir uma janela para abordagens terapêuticas alternativas mais específicas e menos agressivas^{3,6,28}.

Os protocolos descritos são extremamente imunossupressores e, por isso, é recomendada terapêutica profilática com cobertura para *Pneumocystis jirovecii* e *Aspergillus*^{5,6,12,16}.

Num estudo em França, incluindo apenas formas familiares de HLH, foi utilizado um esquema alternativo com globulina antitímócito (ATG) associada a corticóides e ciclosporina A, esta última introduzida apenas na fase de manutenção³⁸⁻⁴⁰. A análise retrospectiva de 38 doentes demonstrou o alcance de uma resposta completa em 73% dos doentes e resposta parcial em 24% adicionais^{39,40}. No entanto, dos doentes que posteriormente não progrediram para transplante hematopoiético, todos tiveram recidiva do HLH³⁹. Adicionalmente, ATG associou-se a efeitos adversos como febre, arrepios, neutropenia em mais de 15% dos doentes e infeções em mais de 20%⁴⁰.

Embora a taxa de mortalidade tenha melhorado substancialmente desde a introdução de terapêutica específica, os números mantêm-se significativos, verificando-se o óbito de cerca de metade dos doentes^{3,7,18,27}. Deste modo, é imperativo continuar a pesquisa de opções terapêuticas tanto para primeira linha, como para “tratamento de resgate” em doentes que não respondem a esta última^{1,6,40,41}.

Uma das questões que permanece é a de se o tratamento convencional será o mais adequado como primeira linha para as formas secundárias de HLH ou se o controlo da hiperinflamação e da doença subjacente seria suficiente para estes doentes^{3,14,18,38}. Vários estudos reportam que no HLH provocado por infeção e associado a FMO a terapêutica com corticóides, IVIg e plasmaferese está associada a melhores outcomes^{14,18}. A plasmaferese é útil por diminuir os níveis de mediadores pró-inflamatórios e de tóxicos no sangue, ao remover a hemoglobina livre, ferritina extracelular e renovar os níveis de complemento, plaquetas e outros componentes sanguíneos essenciais, sendo igualmente benéfica nos doentes que se apresentem com lesão renal aguda^{14,16-18}. No entanto, caso não haja uma resposta satisfatória, as recomendações apoiam iniciar o protocolo HLH-94^{6,18,24,42}.

Para o tratamento do SAM, os protocolos HLH-94 e HLH-2004 não são a primeira linha, uma vez que uma terapêutica menos imunossupressora é mais vantajosa^{1,6}. Esta consiste em altas doses de metilprednisolona associada a fármacos biológicos dirigidos à doença reumatológica de base, como os antagonistas da IL-1 e IL-6 – Anakinra e Tocilizumab^{1,3,14}. Em casos refratários aos corticóides, recomenda-se a administração de ciclosporina A^{1,3}.

Baseando-se no excesso de citocinas como mecanismo principal das manifestações clínicas, a terapêutica com o anticorpo monoclonal anti-recetor IL-1, Anakinra (2,5 mg/kg 3x dia, máximo 100mg/dia), tem demonstrado resultados satisfatórios^{38,40,42}. Apesar da sua utilização se concentrar em estudos com *cohorts* com números baixos de doentes ou mesmo em casos individuais, o Anakinra não se encontra associado a efeitos adversos graves que impliquem interrupção do tratamento, pelo que a sua utilização poderá ser promissora nos casos de HLH secundária refratária e na associada a doenças reumatológicas^{3,6,40,42}.

Com base no mesmo mecanismo do Anakinra, sugere-se que a terapêutica com Tocilizumab, anticorpo monoclonal anti-recetor IL-6 (utilizado no tratamento de artrite idiopática juvenil), também possa ser benéfica no HLH secundário^{7,14,41,43}. Em doentes com artrite idiopática juvenil, o tratamento com Tocilizumab não previne o desenvolvimento de SAM, confirmando que a inibição de apenas uma citocina não é suficiente para impedir o desencadear da doença⁴³. No doentes com HLH secundário, a elevação sérica de IL-6 não se encontra consistentemente presente e a resposta ao

bloqueio do seu recetor é independente dos níveis séricos basais da citocina⁴¹. Aguardam-se os resultados de um estudo clínico fase 2, que tem como objetivo avaliar a eficácia, segurança e impacto na atividade da doença (NCT02007239)^{40,41}.

Fármacos que têm como alvo o TNF- α , como o Infliximab ou Etanercept, também foram utilizados em casos individuais de HLH refratário descritos na literatura, embora apenas em idade adulta^{3,44,45}.

No HLH causado por EBV, uma das abordagens utilizadas é o uso do anticorpo monoclonal anti-CD20, Rituximab, que tem como alvo específico os linfócitos B, que funcionam como reservatório viral^{6,16,38,46}. É útil mesmo nos doentes com infecção das células T e NK pelo EBV e também nos imunodeprimidos, uma vez que nestes as principais células afetadas são as B^{16,46}. A um melhor prognóstico está associado uma redução da carga viral de mais de 1500 cópias/ml e ferritina inferior a 1000 $\mu\text{g/l}$, após a administração de Rituximab⁴⁶. É um fármaco com alguns efeitos adversos imediatos, como febre, calafrios, hipotensão e broncospasmo. Apesar de causar depleção da população de linfócitos B, não reduz os valores de imunoglobulinas, pelo que, geralmente, é bem tolerado⁴⁶.

O Alemtuzumab, anticorpo monoclonal contra CD52 – uma proteína expressa à superfície dos linfócitos T, linfócitos B, linfócitos NK, monócitos e macrófagos – encontra-se referenciado na literatura como opção terapêutica para HLH refratário^{3,7,40,47}. No entanto, nos casos descritos não foi alcançada nenhuma resposta completa ao fármaco (definida como normalização total dos níveis de: CD25 solúvel, ferritina, triglicéridos, contagens neutrófilos e plaquetas, hemoglobina, ALT, nível de consciência e presença de hemofagocitose nas amostras de biópsias colhidas), embora 77% dos doentes sobrevivessem até ao transplante⁴⁷. Foram reportados efeitos adversos como agravamento de citopenias e reativação de infeções latentes, relacionada com a imunossupressão prolongada^{40,47}. Atualmente decorre em França, um estudo clínico de HLH familiar, que utiliza Alemtuzumab como primeira linha terapêutica até ao transplante de células hematopoiéticas (NCT02472054)⁴⁰.

Encontram-se descritos ainda dois outros fármacos que se apresentam como promissores na abordagem terapêutica do HLH: Ruxolitinib e Emapalumab¹.

Dado o papel preponderante da citocina IFN- γ no mecanismo do HLH, ponderou-se que a sua inibição poderia ter um efeito benéfico no tratamento desta doença³⁷. Foi, então, desenvolvido o Emapalumab ou NI-0501, anticorpo monoclonal anti-IFN- γ , que se encontra a ser testado num estudo de fase 2/3 como opção terapêutica para o HLH primário (NCT01818492)^{1,36,37}. Os resultados preliminares foram publicados em 2015, com nove das treze crianças do estudo a alcançarem respostas satisfatórias, sem incidência significativa de efeitos tóxicos, tendo sido aprovado recentemente nos Estados Unidos da América pela *Food and Drug Administration*^{1,37,48}. Um *case report* publicado no início de 2019, descreve a utilização de Emapalumab numa criança com HLH secundário refratário, com recuperação completa, pelo que esta abordagem poderá ser uma hipótese nos casos secundários³⁷. Encontram-se outros dois estudos em curso: NCT03311854 e NCT02069899, em que o primeiro explora a utilização de Emapalumab em doentes com SAM e o segundo aborda o follow-up a longo prazo de doentes já tratados com este fármaco.

O IFN- γ , juntamente com outras citocinas importantes para a patogénese do HLH como a IL-2, IL-6 ou M-CSF, ligam-se a recetores na superfície das células que posteriormente sinalizam intracelularmente através da via Janus Quinase (JAK)^{49,50}. Como se verifica que nem todos os doentes com HLH apresentam níveis elevados IFN- γ ou um perfil de expressão genética com a assinatura de IFN- γ , colocou-se a hipótese se a inibição desta via a jusante poderia ser mais eficaz em reduzir os níveis destas citocinas pró-inflamatórias^{36,49}. Desta hipótese, propõe-se a utilização do inibidor da JAK 1/2 – Ruxolitinib, com eficácia clínica no tratamento de policetemia vera, mielofibrose, outras doenças mieloproliferativas, artrite reumatoide, colite ulcerosa, psoríase e alopecia areata^{1,36,49}.

Foram realizados dois estudos que utilizam modelos de ratinhos com defeitos citotóxicos, onde se verificou uma redução significativa das manifestações clínicas, parâmetros histológicos, incluindo a infiltração celular do SNC, e ainda aumento da sobrevivência nos modelos de ratinhos com HLH em comparação com o grupo de controlo^{1,36,49}. Num dos estudos comparou-se esta abordagem terapêutica com a administração de anticorpo anti-IFN- γ , concluindo-se que a taxa de sobrevivência era semelhante³⁶.

Para além de interferir com a sinalização das citocinas pró-inflamatórias, a inibição da JAK diminui os níveis de IL-10, pelo que se colocou a hipótese de poder exacerbar a

inflamação, como verificado em estudos prévios de modelos de HLH secundário⁴⁹. Adicionalmente, já se encontrava reportado que este fármaco poderia afetar negativamente a função das células dendríticas e NK, assim como atenuar a resposta das células T e, assim, contribuir para a imunossupressão e gravidade da doença⁴⁹. No entanto, neste estudo, apurou-se que não havia um atraso na recuperação dos ratinhos aos quais se administrou Ruxolitinib⁴⁹.

Dado estes resultados promissores, encontra-se atualmente em curso um estudo clínico de fase 2 (NCT02400463) para o uso de Ruxolitinib no tratamento de HLH secundário e foram já publicados *case reports* de doentes tratados com sucesso com este fármaco^{50,51}. É necessário que se realizem mais estudos para determinar as doses mais eficazes, duração de tratamento e os seus efeitos adversos⁵¹.

C.R.L. apresentou um quadro de HLH secundário a infeção, na sequência de uma apendicite perfurada com peritonite. Como discutido, a escolha de uma terapêutica menos imunossupressora (sem etoposido) numa fase inicial, é uma abordagem recomendada nos casos de HLH secundário^{14,17,18}. Dado os níveis de ferritina na ordem das dezenas de milhar, elevação dos níveis de LDH, trombocitopenia e lesão renal aguda, poderia ter-se considerado a realização de plasmaferese, embora a instabilidade da doente, nomeadamente cardiovascular, tivesse dificultado esta opção^{14,17,18}.

Uma vez que C.R.L. não respondeu à terapêutica administrada, com um agravamento clínico e laboratorial muito rápido, com vários fatores de mau prognóstico (não redução dos níveis ferritina, presença de manifestações clínicas de doença no SNC^{1,4}), decidiu-se escalar terapêutica, com a adição de etoposido e ciclosporina A^{6,18}. Apesar da terapêutica com etoposido no HLH relacionado com infeções poder produzir efeitos deletérios, por impedir a recuperação das células hematopoiéticas, necessárias à resolução das infeções concomitantes, a rápida e grave evolução do quadro clínico prevaleceu a favor da sua administração¹⁴. As manifestações neurológicas de C.R.L. eram exuberantes, mas, ainda assim, optou-se por não realizar terapêutica intratecal. A instabilidade neurológica precoce, cardiovascular e coagulopatia impediam uma administração intratecal de fármacos com segurança. Considerou-se que os riscos ultrapassavam os eventuais benefícios desta terapêutica, os quais carecem ainda de confirmação⁹.

Mesmo com a adição destes fármacos, observou-se uma evolução desfavorável muito rápida, com falência de vários órgãos e registou-se o óbito em menos de duas semanas

desde o início de instalação do quadro clínico, o que impossibilitou a ponderação da administração de “tratamento de resgate” com novos fármacos biológicos. Das opções discutidas, os dirigidos apenas a uma citocina, como a IFN- γ ou IL-6 poderiam não ser adequados, uma vez que não existe a confirmação que os seus níveis se encontrassem elevados neste caso. Como terapêutica experimental mais promissora e uma vez que já se encontra aprovado para o tratamento de doenças mieloproliferativas, a introdução de Ruxolitinib poderia ter sido uma mais valia, uma vez que atua diminuindo o nível de um grande leque de citocinas^{3,51}. A terapêutica com Anakinra poderia ser ponderada, uma vez que o seu uso se encontra recomendado quando existe disfunção hepatobiliar associada e nos casos de doença secundária refratária¹⁴.

Conclusão

O HLH constitui um desafio de diagnóstico e o seu reconhecimento está provavelmente aquém da sua verdadeira incidência. Deste modo, este trabalho foi desenvolvido como forma de sensibilização para esta patologia, das suas nefastas consequências e possíveis alternativas terapêuticas.

Vários esforços têm sido feitos, não só para aumentar a sensibilidade e especificidade do diagnóstico, mas também no campo da terapêutica, sendo notável o número de estudos clínicos em curso no que toca ao desenvolvimento de novos fármacos para o HLH.

É fundamental manter a suspeição clínica perante doentes em estado crítico e com apresentação clínica com febre, citopenias, alterações da coagulação e alterações nas provas hepáticas, de modo a instituir rapidamente a terapêutica e aumentar a probabilidade de sobrevivência destes doentes.

Agradecimentos

Gostaria de agradecer à Dr.^a Sofia Almeida, por ter aceite ser minha orientadora, me ter fornecido os dados necessários à escrita do caso clínico e me ter guiado ao longo de todo o processo de escrita.

À minha família pelo apoio demonstrado ao longo destes seis anos.

Aos meus amigos pelos momentos que me proporcionaram durante o curso, sem dúvida que tornaram esta viagem muito fácil e, certamente, melhor.

Bibliografia

1. Al-Samkari H, Berliner N. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Annu Rev Pathol Mech Dis*. 2017;13:1-23. doi:10.1146/annurev-pathol-020117-043625
2. Ramachandran S, Zaidi F, Aggarwal A, Gera R. Recent advances in diagnostic and therapeutic guidelines for primary and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Cells, Mol Dis*. 2017;64:53-57. doi:10.1016/j.bcmd.2016.10.023
3. Wang Y, Wang Z. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Curr Opin Hematol*. 2017;24(1):54-58. doi:10.1097/MOH.0000000000000302
4. Madkaikar M, Shabrish S, Desai M. Current Updates on Classification, Diagnosis and Treatment of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH). *Indian J Pediatr*. 2016;83(5):434-443. doi:10.1007/s12098-016-2037-y
5. Henter J-I, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and Therapeutic Guidelines for Hemaphagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2007;48(2):124-131. doi:10.1002/pbc.21039
6. Ehl S, Astigarraga I, von Bahr Greenwood T, et al. Recommendations for the Use of Etoposide-Based Therapy and Bone Marrow Transplantation for the Treatment of HLH: Consensus Statements by the HLH Steering Committee of the Histiocyte Society. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2018;6(5):1508-1517. doi:10.1016/j.jaip.2018.05.031
7. Esteban YM, de Jong JLO, Teshler MS. An Overview of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Ann*. 2017;46(8):e309-e313. doi:10.3928/19382359-20170717-01
8. Allen CE, McClain KL. Pathophysiology and epidemiology of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematology*. 2015;2015(1):177-182. doi:10.1182/asheducation-2015.1.177
9. Horne AC, 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). doi:10.1007/s11940-017-0439-4
10. Buyse S, Teixeira L, Galicier L, et al. Critical care management of patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Intensive Care Med*. 2010;36(10):1695-1702. doi:10.1007/s00134-010-1936-z

11. Meeths M, Horne A, Sabel M, Bryceson YT, Henter J-I. Incidence and clinical presentation of primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in Sweden. *Pediatr Blood Cancer*. 2015;62(2):346-352. doi:10.1002/pbc.25308
12. Risma KA, Marsh RA. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: Clinical Presentations and Diagnosis. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019;7(3):824-832. doi:10.1016/j.jaip.2018.11.050
13. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, Filipovich AH, McClain KL. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2011;118(15):4041-4052. doi:10.1182/blood-2011-03-278127
14. Carcillo JA, Shakoory B, Castillo. Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis, Macrophage Activation Syndrome, and Hyperferritinemic Sepsis- Induced Multiple-Organ Dysfunction Syndrome in the Pediatric ICU. *Pediatr Crit Care*. 2019:245-255. doi:10.1007/978-3-319-96499-7
15. Machowicz R, Janka G, Wiktor-Jedrzejczak W. Similar but not the same: Differential diagnosis of HLH and sepsis. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017;114:1-12. doi:10.1016/j.critrevonc.2017.03.023
16. Morimoto A, Nakazawa Y, Ishii E. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: Pathogenesis, diagnosis, and management. *Pediatr Int*. 2016;58(9):817-825. doi:10.1111/ped.13064
17. Demirkol D, Yildizdas D, Bayrakci B, et al. Hyperferritinemia in the critically ill child with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis/sepsis/multiple organ dysfunction syndrome/macrophage activation syndrome: What is the treatment? *Crit Care*. 2012;16(2):R52. doi:10.1186/cc11256
18. Haytoglu Z, Yazici N, Erbay A. Secondary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: Do we really need chemotherapeutics for all patients? *J Pediatr Hematol Oncol*. 2017;39(2):e106-e109. doi:10.1097/MPH.0000000000000740
19. Fardet L, Galicier L, Lambotte O, et al. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol*. 2014;66(9):2613-2620. doi:10.1002/art.38690
20. Debaugnies F, Mahadeb B, Ferster A, et al. Performances of the H-score for diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adult and pediatric patients. *Am J Clin Pathol*. 2016;145(6):862-870. doi:10.1093/AJCP/AQW076

21. Allen CE, Yu X, Kozinetz CA, McClain KL. Highly Elevated Ferritin Levels and the Diagnosis of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2008;(March):1227-1235. doi:10.1002/pbc
22. Lehmberg K, McClain KL, Janka GE, Allen CE. Determination of an appropriate cut-off value for ferritin in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2014;61(11):2101-2103. doi:10.1002/pbc.25058
23. Sen ES, Steward CG, Ramanan A V. Diagnosing haemophagocytic syndrome. *Arch Dis Child*. 2017;102(3):279-284. doi:10.1136/archdischild-2016-310772
24. Chesshyre E, Ramanan A V., Roderick MR. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis and Infections: An Update. *Pediatr Infect Dis J*. 2019;38(3):e54-e56. doi:10.1097/INF.0000000000002248
25. Wysocki CA. Comparing hemophagocytic lymphohistiocytosis in pediatric and adult patients. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2017;17(6):405-413. doi:10.1097/ACI.0000000000000405
26. Xu XJ, Wang HS, Ju XL, et al. Clinical presentation and outcome of pediatric patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis in China: A retrospective multicenter study. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(4):1-6. doi:10.1002/pbc.26264
27. Bergsten E, Horne AC, Aricó M, et al. Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: Long-Term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood*. 2017;130(25):2728-2738. doi:10.1182/blood-2017-06-788349
28. Reis P, Almeida S, Behrens E. Uma Nova Era no Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Hemofagocítica. *Acta Pediátrica Port*. 2016;47:333-344.
29. Chinn IK, Eckstein OS, Peckham-Gregory EC, et al. Genetic and mechanistic diversity in pediatric hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2018;132(1):89-100. doi:10.1182/blood-2017-11-814244
30. Mazodier K, Marin V, Novick D, Farnarier C, Robitail S. Severe imbalance of IL-18/IL-18BP in patients with secondary hemophagocytic syndrome. *Blood*. 2005;106(10):3483-3489. doi:10.1182/blood-2005-05-1980
31. Cetica V, Sieni E, Pende D, et al. Genetic predisposition to hemophagocytic lymphohistiocytosis: Report on 500 patients from the Italian registry. *J Allergy Clin Immunol*. 2016;137(1):188-196.e4. doi:10.1016/j.jaci.2015.06.048

32. Trottestam H, Horne A, Arico M, et al. Chemoimmunotherapy for hemophagocytic lymphohistiocytosis: long-term results of the HLH-94 treatment protocol. *Blood*. 2011;118(17):4577-4584. doi:10.1182/blood-2011-06-356261
33. Ammann S, Lehmborg K, zur Stadt U, et al. Primary and secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis have different patterns of T-cell activation, differentiation and repertoire. *Eur J Immunol*. 2017;47(2):364-373. doi:10.1002/eji.201646686
34. Brisse E, Matthys P, Wouters CH. Understanding the spectrum of haemophagocytic lymphohistiocytosis: Update on diagnostic challenges and therapeutic options. *Br J Haematol*. 2016;174(2):175-187. doi:10.1111/bjh.14144
35. Buatois V, Chatel L, Cons L, et al. Use of a mouse model to identify a blood biomarker for IFN γ activity in pediatric secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Transl Res*. 2017;180:37-52.e2. doi:10.1016/j.trsl.2016.07.023
36. Maschalidi S, Sepulveda FE, Garrigue A, Fischer A, De Saint Basile G. Therapeutic effect of JAK1/2 blockade on the manifestations of hemophagocytic lymphohistiocytosis in mice. *Blood*. 2016;128(1):60-71. doi:10.1182/blood-2016-02-700013
37. Louder DT, Bin Q, De Min C, Jordan MB. Treatment of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis with emapalumab despite severe concurrent infections. *Blood Adv*. 2019;3(1):47-50. doi:10.1182/bloodadvances.2018025858
38. Marsh RA. Epstein-Barr virus and hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Front Immunol*. 2018;8(DEC):1-9. doi:10.3389/fimmu.2017.01902
39. Mahlaoui N, Ouachee-Chardin M, de Saint Basile G, et al. Immunotherapy of Familial Hemophagocytic Lymphohistiocytosis With Antithymocyte Globulins: A Single-Center Retrospective Report of 38 Patients. *Pediatrics*. 2007;120(3):e622-e628. doi:10.1542/peds.2006-3164
40. Marsh RA, Jordan MB, Talano JA, et al. Salvage therapy for refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis: A review of the published experience. *Pediatr Blood Cancer*. 2017;64(4):1-7. doi:10.1002/pbc.26308
41. Faguer S, Vergez F, Peres M, et al. Tocilizumab added to conventional therapy reverses both the cytokine profile and CD8+Granzyme+ T-cells/NK cells expansion in refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Hematol Oncol*. 2014;34(1):55-57. doi:10.1002/hon.2174

42. Rajasekaran S, Kruse K, Kovey K, et al. Therapeutic role of anakinra, an interleukin-1 receptor antagonist, in the management of secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis/sepsis/multiple organ dysfunction/macrophage activating syndrome in critically ill children. *Pediatr Crit Care Med*. 2014;15(5):401-408. doi:10.1097/PCC.0000000000000078
43. Yokota S, Itoh Y, Morio T, Sumitomo N, Daimaru K, Minota S. Macrophage activation syndrome in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis under treatment with tocilizumab. *J Rheumatol*. 2015;42(4):712-722. doi:10.3899/jrheum.140288
44. Komiya Y, Saito T, Mizoguchi F, Kohsaka H. Hemophagocytic Syndrome Complicated with Dermatomyositis Controlled Successfully with Infliximab and Conventional Therapies. *Intern Med*. 2017;56(23):3237-3241. doi:10.2169/internalmedicine.7966-16
45. Henzan T, Nagafuji K, Tsukamoto H, et al. Success with infliximab in treating refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol*. 2006;81(1):59-61. doi:10.1002/ajh.20462
46. Chellapandian D, Das R, Zelle K, et al. Treatment of Epstein Barr virus-induced haemophagocytic lymphohistiocytosis with rituximab-containing chemo-immunotherapeutic regimens. *Br J Haematol*. 2013;162(3):376-382. doi:10.1111/bjh.12386
47. Marsh RA, Allen CE, McClain KL, et al. Salvage therapy of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis with alemtuzumab. *Pediatr Blood Cancer*. 2012;60(1):101-109. doi:10.1002/pbc.24188
48. Jordan M, Locatelli F, Allen C. A Novel Targeted Approach to the Treatment of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis (HLH) with an Anti-Interferon Gamma (IFN γ) Monoclonal Antibody (mAb), NI-0501: First Results from a Pilot Phase 2 Study in Children with Primary HLH. *Blood*. 2015;126(23):LBA-3. <http://www.bloodjournal.org/content/126/23/LBA-3/tab-article-info>.
49. Das R, Guan P, Sprague L, et al. Janus kinase inhibition lessens inflammation and ameliorates disease in murine models of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*. 2016;127(13):1666-1675. doi:10.1182/blood-2015-12-684399
50. Broglie L, Pommert L, Rao S, et al. Ruxolitinib for treatment of refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Adv*. 2017;1(19):1533-1536. doi:10.1182/bloodadvances.2017007526

51. Slostad J, Hoversten P, Haddox CL, Cisak K, Paludo J, Tefferi A. Ruxolitinib as first-line treatment in secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: A single patient experience. *Am J Hematol*. 2018;93(2):E47-E49. doi:10.1002/ajh.24971