

# Uma Nova Era no Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Hemofagocítica

## A New Era for Diagnosis and Treatment of Haemophagocytic Syndromes

Patrícia Costa Reis<sup>1,2,3</sup>, Sofia Almeida<sup>1</sup>, Edward Behrens<sup>2,3</sup>

1. Departamento de Pediatria, Hospital de Santa Maria, Centro Académico Médico da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal

2. Unidade de Reumatologia Pediátrica, The Children's Hospital of Philadelphia, Filadélfia, Estados Unidos da América

3. Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Filadélfia, Estados Unidos da América

Acta Pediatr Port 2016;47:333-44

### Resumo

A síndrome hemofagocítica caracteriza-se pela ocorrência de inflamação generalizada associada à hiperativação de macrófagos e linfócitos T e hipersecreção de citocinas. Pode ser primária, quando causada por defeitos genéticos na citotoxicidade, ou secundária a infeções, neoplasias ou doenças reumatológicas. O quadro clínico típico inclui febre, hepatoesplenomegalia, linfadenopatias, citopenias, disfunção do sistema nervoso central e falência multiorgânica. O diagnóstico precoce é difícil, mas crucial para o início rápido do tratamento e melhoria do prognóstico. Novos critérios clínicos foram desenvolvidos recentemente para o diagnóstico de síndrome hemofagocítica em diferentes contextos. Dados da ciência básica, sobretudo relativos a modelos animais, têm contribuído para um melhor entendimento dos mecanismos de doença e têm permitido fundamentar o uso de fármacos biológicos nas formas secundárias. Neste artigo serão explorados os avanços recentes ao nível do diagnóstico e tratamento da síndrome hemofagocítica e será feita uma revisão dos vários modelos da sua patogénese.

**Palavras-chave:** Criança; Inflamação; Linfocitose Hemofagocítica/diagnóstico; Linfocitose Hemofagocítica/tratamento

### Abstract

Haemophagocytic syndromes are characterized by overwhelming inflammation related to uncontrolled activation of macrophages and T-lymphocytes and hypersecretion of cytokines. These syndromes can be primary, when caused by genetic defects in cytotoxicity, or secondary to rheumatic diseases, infection, or malignancy. Usually patients are acutely ill with fever, splenomegaly, lymphadenopathies, cytopaenia, central nervous system dysfunction and progressive multiorgan failure. Diagnosis is challenging, but essential to provide prompt treatment and increase survival. Recently new criteria have been developed to diagnose haemophagocytic syndromes in different settings. Data from mouse models have helped to better understand the pathogenesis of these conditions and established strong foundations for the use of biological therapies in secondary forms of haemophagocytic syndromes. In this review we highlight recent advances in the diagnosis and treatment of haemophagocytic syndromes and focus on current models of the pathogenesis of these conditions.

**Keywords:** Child; Inflammation; Lymphohistiocytosis, Hemophagocytic/diagnosis; Lymphohistiocytosis, Hemophagocytic/therapy

### Introdução

A síndrome hemofagocítica caracteriza-se por inflamação generalizada, associada à secreção exagerada de citocinas pró-inflamatórias e ativação descontrolada de macrófagos e linfócitos T.<sup>1-3</sup> A presença na medula óssea de hemofagócitos, macrófagos ativados que fagocitam outras células hematopoiéticas, dá o nome à síndrome. A síndrome hemofagocítica pode ser primária, também conhecida como linfocitose hemofagocítica familiar, um grupo de doenças genéticas raras causadas por alterações da citotoxicidade; ou secundária a infeções, neoplasias ou doenças reumatológicas. O termo “síndrome de ativação macrófaga” é muitas vezes utilizado para nomear o último grupo.

O diagnóstico é difícil, particularmente em contexto de cuidados intensivos, assemelhando-se à síndrome de resposta inflamatória ou à falência multiorgânica.<sup>4</sup> A sua identificação é crucial, uma vez que a estratégia terapêutica passa frequentemente pelo recurso a imunossuppressores, abordagem diferente da utilizada na maioria das situações de falência multiorgânica. O início precoce da terapêutica é determinante no prognóstico.<sup>5</sup>

## Manifestações clínicas

As crianças com síndrome hemofagocítica encontram-se, na maioria dos casos, gravemente doentes. É frequente o início súbito de febre alta, citopenias, disfunção hepática, sintomas neurológicos e falência multiorgânica.<sup>5-7</sup>

Em doentes com artrite idiopática juvenil sistêmica (AIJS), a febre alta intermitente, típica de doença ativa, altera-se para um padrão contínuo de febre com o início da síndrome de ativação macrofágica.<sup>7</sup>

As manifestações mucocutâneas podem ser variadas, incluindo exantema, eritrodermia, edema, petéquias, púrpura, equimoses e hemorragia das mucosas.<sup>5-9</sup>

O atingimento do sistema nervoso central ocorre frequentemente, podendo manifestar-se por cefaleia, letargia, irritabilidade, desorientação, ataxia, neuropatia periférica sensitiva e motora, convulsões e coma.<sup>5-7</sup> Por vezes, estas alterações dominam o quadro clínico e são anteriores ao aparecimento de outros sintomas.<sup>10-13</sup>

Mais recentemente, foi descrito envolvimento pulmonar nas formas secundárias, representando um fator de mau prognóstico.<sup>14</sup> Outras manifestações possíveis incluem serosite, miocardite, cardiomegalia, arritmias e falência cardíaca.<sup>5,7,15</sup>

O envolvimento renal também pode ocorrer, com progressão para insuficiência renal e falência multiorgânica.<sup>5,7</sup> Nestes casos, a mortalidade é elevada.<sup>16</sup>

No exame objetivo, os sinais mais frequentes são hepatoesplenomegalia e linfadenopatias generalizadas.<sup>5-7,9,17</sup>

## Alterações laboratoriais

As alterações laboratoriais mais frequentemente observadas nestes doentes incluem pancitopenia e ferritina elevada.<sup>5,6,9,15</sup>

Numa grande coorte de doentes com síndrome hemofagocítica níveis de ferritina superiores a 500, 5 000 e 10 000 ng/mL foram observados em 93%, 42% e 25% dos doentes, respetivamente.<sup>18</sup> Um outro estudo mostrou que um nível de ferritina superior a 10 000 ng/mL tem uma sensibilidade de 90% e uma especificidade de 96% para o diagnóstico de síndrome hemofagocítica, permitindo fazer o diagnóstico diferencial com sépsis e insuficiência hepática.<sup>19</sup> A ferritinemia é importante não só para o diagnóstico, mas também como marcador da atividade da doença, resposta à terapêutica e prognóstico.<sup>6,9</sup> É também frequente detetar-se aumento das enzimas hepáticas,<sup>20,21</sup> da bilirrubina e gamaglutamil transferase,<sup>6,9,11,22</sup> da lactato desidrogenase<sup>21</sup> e dos triglicéridos.<sup>23</sup>

Estes doentes apresentam habitualmente um perfil de coagulação alterado, com tempo de protrombina e tromboplastina parcial ativada prolongados, hipofibrinogenemia e presença de produtos de degradação de fibrina.<sup>6,7,9,15</sup>

Hiponatremia e hipoalbuminemia também são alterações

frequentes.<sup>6,9,15</sup>

Uma diminuição da velocidade de sedimentação eritrocitária é comum e deve levantar a suspeita de síndrome hemofagocítica, sobretudo em doentes com AIJS, que usualmente apresentam uma velocidade de sedimentação aumentada.<sup>6,9,15</sup> O quociente ferritina/velocidade de sedimentação superior a 80 tem uma alta sensibilidade e especificidade na diferenciação entre AIJS e síndrome de ativação macrofágica.<sup>24</sup>

Novos marcadores para síndrome hemofagocítica têm sido recentemente descritos. O receptor solúvel alfa da interleucina (IL)-2 (sIL2R $\alpha$ /sCD25) está muito aumentado na fase aguda da síndrome de ativação macrofágica quando comparado com AIJS de início recente.<sup>25</sup> O CD163, recetor da hemoglobina e marcador específico de macrófagos, encontra-se igualmente muito aumentado no soro, medula óssea e baço de doentes com síndrome hemofagocítica.<sup>25,26</sup> O CD163 e o CD25 solúvel (sCD25) correlacionam-se com a atividade da doença, refletindo o grau de ativação dos macrófagos e dos linfócitos T respetivamente.<sup>25</sup>

## Exame anatomopatológico

A presença de hemofagocitose no aspirado ou biópsia de medula óssea pode ser útil, mas não é suficiente ou necessária para o diagnóstico de síndrome hemofagocítica. Destaca-se que a hemofagocitose nem sempre é demonstrável na fase inicial da doença e doentes com AIJS podem ter hemofagocitose sem evidência clínica de síndrome de ativação macrofágica.<sup>15,27,28</sup> O exame anatomopatológico pode ser, assim, considerado quando o diagnóstico é duvidoso, mas não é essencial. O diagnóstico e tratamento nunca devem ser adiados pela ausência de hemofagocitose na medula óssea

## Diagnóstico diferencial

A síndrome hemofagocítica pode ser desencadeada por múltiplos estímulos, incluindo infeção, neoplasia ou doença reumatológica. Pode ocorrer também no contexto de defeitos genéticos na citotoxicidade. Neste caso, os sintomas surgem geralmente nos primeiros anos de vida, com uma sobrevivência mediana inferior a dois meses na ausência de tratamento.<sup>29</sup> No contexto de doenças reumatológicas, a síndrome de ativação macrofágica é particularmente comum em doentes com AIJS, ocorrendo em pelo menos 7-13% dos doentes<sup>7,15,17</sup> e podendo ser subclínica ou assumir uma forma mais ligeira em outros 30-40%.<sup>15-25</sup> Também pode ocorrer em doentes com lúpus eritematoso sistêmico,<sup>30</sup> doença de Sjogren,<sup>31</sup> dermatomiosite,<sup>31-33</sup> esclerose sistêmica, poliarterite nodosa, doença de Kawasaki, artrite reumatoide,<sup>31</sup> artrite relacionada com entesite,<sup>17,31</sup> sarcoidose<sup>31</sup> e em casos de síndromes de

febre periódica.<sup>17,34,35</sup> Pode surgir espontaneamente ou ser desencadeada por uma infecção ou pelo efeito tóxico de um fármaco.<sup>5,17</sup>

As neoplasias, sobretudo leucemias e linfomas, também se associam a síndrome hemofagocítica, existindo, frequentemente uma infecção concomitante.<sup>36-38</sup> A síndrome hemofagocítica pode preceder, ocorrer simultaneamente à identificação da neoplasia<sup>39</sup> ou ser desencadeada pela imunossupressão induzida pela quimioterapia.<sup>36</sup> A probabilidade de uma doença maligna subjacente aumenta com a idade.<sup>36</sup>

Infeções virais, particularmente pelo vírus Epstein-Barr, podem desencadear formas primárias bem como secundárias de síndrome hemofagocítica.<sup>7,33,40,41</sup> Outros estímulos infecciosos conhecidos incluem citomegalovírus,<sup>41</sup> parvovírus B19,<sup>7,33,42</sup> vírus herpes simplex,<sup>43,44</sup> varicella-zoster,<sup>7</sup> vírus herpes humano-8<sup>45,46</sup> coxsackie,<sup>7</sup> influenza,<sup>47,48</sup> parainfluenza,<sup>49</sup> parechovirus<sup>50</sup> e vírus de imunodeficiência humana (VIH).<sup>51</sup>

Apesar de menos comum, as síndromes hemofagocíticas podem ocorrer igualmente no contexto de infecções bacterianas por *Staphylococcus aureus*,<sup>41</sup> *Escherichia coli*,<sup>41</sup> *Salmonella enteritidis*,<sup>7</sup> *Mycoplasma pneumoniae*,<sup>52</sup> *Ehrlichia chaffeensis*,<sup>53</sup> *Brucella mellitensis*<sup>41</sup> e *Mycobacterium tuberculosis*<sup>41</sup>; parasitas, incluindo *Leshmania spp41* e *Plasmodium falciparum*<sup>54</sup> e *Plasmodium vivax*<sup>55</sup>; e fungos,<sup>33</sup> como *Histoplasma capsulatum*<sup>41,56</sup> e *Coccidioides*.<sup>57</sup>

A síndrome hemofagocítica também pode ocorrer no curso de histiocitose de células de Langerhans,<sup>33</sup> síndrome de Chédiak-Higashi,<sup>58</sup> síndrome de Griscelli tipo 2<sup>59</sup> e síndrome de Hermanski-Pudlak tipo 2.<sup>60</sup> Imunodeficiências adquiridas, incluindo VIH, transplante de células hematopoiéticas<sup>61</sup> e transplante de fígado/rim<sup>62-64</sup> também se associam a maior risco para síndrome hemofagocítica.

Doentes com intolerância à proteína lisínúrica,<sup>65</sup> imunodeficiência combinada grave,<sup>66</sup> síndrome de DiGeorge,<sup>66</sup> síndrome de Omenn's<sup>66,67</sup> e doença granulomatosa crônica,<sup>66</sup> podem apresentar-se de uma forma semelhante a doentes com síndrome hemofagocítica primária. Nestes casos, as infecções são o estímulo mais frequente.<sup>66</sup>

Existem várias doenças que se podem assemelhar a síndrome hemofagocítica, entre as quais a síndrome linfoproliferativa autoimune, a púrpura trombótica trombocitopénica, a síndrome hemolítica urémica, a microangiopatia trombótica, doenças hepáticas primárias e a reação a drogas com eosinofilia e sintomas sistémicos.

## Critérios de diagnóstico

O diagnóstico de síndrome hemofagocítica primária é feito de acordo com os critérios propostos pela *Histiocyte Society* em 2004,<sup>68</sup> que incluem febre, esplenomegalia, bicitopenia, hipertrigliceridemia e/ou hipofibrinogenemia, hiperferritine-

mia, sIL2Rα/sCD25 elevado, atividade de células NK diminuída ou ausente e evidência de hemofagocitose na medula óssea, baço ou gânglios linfáticos. Do total de oito critérios, um mínimo de cinco devem ser preenchidos, a menos que a história familiar ou molecular seja consistente com linfocitose hemofagocítica familiar.<sup>68</sup> Estes critérios não estão validados, no entanto, para o diagnóstico de síndrome hemofagocítica secundária.

Em 2009, a *Pediatric Rheumatology European Society* propôs os seguintes critérios para síndrome de ativação macrofágica em doentes com lúpus eritematoso sistémico<sup>69</sup>:

- Critérios clínicos
  - Febre (> 38°C)
  - Hepatomegalia (≥ 3 cm abaixo do rebordo costal)
  - Esplenomegalia (≥ 3 cm abaixo do rebordo costal)
  - Manifestações hemorrágicas (púrpura, equimoses fáceis ou hemorragia das mucosas)
  - Disfunção do sistema nervoso central (irritabilidade, desorientação, letargia, cefaleia, convulsão ou coma)
- Critérios laboratoriais
  - Citopenia afetando duas ou mais linhagens (hemoglobina ≤ 9,0 g/dL; leucócitos ≤ 4,0 x 10<sup>9</sup>/L ou plaquetas ≤ 150 x 10<sup>9</sup>/L)
  - Aspartato aminotransferase (AST) > 40 U/L
  - Desidrogenase láctica (LDH) > 567 U/L
  - Fibrinogénio ≤ 1,5 g/L
  - Triglicéridos > 178 mg/dL
  - Ferritina > 500 µg/L
- Critérios histopatológicos
  - Evidência de hemofagocitose no aspirado de medula óssea

O diagnóstico de síndrome de ativação macrofágica requer a presença simultânea de pelo menos um critério clínico e dois critérios laboratoriais.<sup>69</sup> O aspirado de medula óssea deve ser considerado apenas se o diagnóstico for duvidoso.<sup>69</sup>

É particularmente difícil distinguir entre síndrome de ativação macrofágica e agudização de AIJS, dado que têm uma apresentação clínica semelhante. Os critérios da *International League of Associations for Rheumatology* para o diagnóstico de AIJS incluem febre, hepatoesplenomegalia e linfadenopatia, achados partilhados pela síndrome de ativação macrofágica.<sup>70</sup> Doentes com esta patologia também apresentam níveis elevados de ferritina,<sup>71</sup> D-dímeros<sup>72</sup> e tempo de protrombina<sup>73</sup> e até 53% podem apresentar hemofagocitose no aspirado da medula óssea.<sup>15</sup> Pensa-se que a AIJS e a síndrome de ativação macrofágica sejam uma entidade única, em que a síndrome de ativação macrofágica é a forma mais grave do espetro.<sup>15</sup>

Recentemente, novos critérios clínicos e laboratoriais foram estabelecidos para o diagnóstico de síndrome de ativação macrofágica em doentes com AIJS que se encontrem febris<sup>74</sup>:

- Ferritina > 684 ng/mL
- E pelo menos dois dos seguintes:
  - Plaquetas  $\leq 181 \times 10^9/L$
  - AST > 48 U/L
  - Triglicéridos > 156 mg/dL
  - Fibrinogénio  $\leq 360$  mg/dL

Curiosamente, os critérios não incluem manifestações clínicas, com exceção da febre, o que reflete a noção de que os sintomas são frequentemente tardios e semelhantes aos de outras doenças. Alterações laboratoriais mesmo que subtis e ainda dentro da normalidade devem, por isso, levantar a suspeita de síndrome de ativação macrofágica.<sup>74</sup>

## Abordagem clínica

A anamnese deve incluir questões sobre infeções recentes, neoplasias, imunodeficiências, doenças reumatológicas, fármacos e história familiar de sintomas semelhantes. No exame objectivo deve ser pesquisada a existência de hepatoesplenomegalia, linfadenopatias, exantema, hemorragias cutâneo-mucosas e alterações neurológicas.

Da avaliação laboratorial e imagiológica, deve fazer parte ecografia abdominal,<sup>75</sup> hemograma, estudo da coagulação, fibrinogénio, AST, alanina aminotransferase (ALT), albumina, perfil lipídico e ferritina.<sup>75</sup>

Se nenhum estímulo for identificado, devem ser procuradas doenças infecciosas, com radiografia de tórax, hemo e urocultura, esfregaço sanguíneo, serologias para vírus Epstein-Barr, citomegalovírus, herpes simplex, *varicella-zoster*, parvovírus, influenza, adenovírus, hepatite B, hepatite C e VIH.<sup>75</sup> Na suspeita de neoplasia, citometria de fluxo periférica, estudos de imagem e biópsia da medula óssea são exames apropriados.<sup>75</sup> Recomenda-se o rastreio da deficiência de perforina por citometria de fluxo.<sup>76</sup> Quando alterado, devem ser estudadas mutações nos genes *PRF1*, *UNC13D*, *STX11*, *STXBP2* e *RAB27A*.<sup>75</sup>

## Tratamento

Em doentes clinicamente estáveis e com um estímulo identificado, é recomendado o início do tratamento dirigido à condição desencadeante. Em caso de infeção deve ser, assim, iniciada imediatamente terapêutica dirigida ao microrganismo suspeito. Em casos de infeção a vírus Epstein-Barr está recomendado rituximabe, um anticorpo monoclonal anti CD20, 375 mg/m<sup>2</sup> semanalmente, durante uma a quatro semanas. Relativamente à linfocitose hemofagocítica familiar o tratamento mais utilizado é o recomendado pela *Histiocyte Society* (Protocolo HLH-94). Inclui uma fase de indução de oito

semanas com dexametasona e etoposido,<sup>11</sup> e, na presença de sintomas neurológicos, metotrexato intratecal. Esta estratégia terapêutica revelou-se eficaz no aumento da sobrevida,<sup>77</sup> mas apenas o transplante de células hematopoiéticas pode garantir a cura.<sup>78,79</sup> Em 2004, o protocolo foi sujeito a uma revisão (HLH-2004), tendo sido incluída a ciclosporina A na fase de indução. No entanto, a indução com terapêutica tripla associa-se a neurotoxicidade, pelo que as recomendações atuais favorecem uma fase de indução com etoposido e dexametasona, seguida de manutenção com ciclosporina A.<sup>80</sup>

Em 2015, foi realizado o primeiro estudo prospetivo em adultos com síndrome hemofagocítica, desencadeada maioritariamente por neoplasia ou infeção. O etoposido e dexametasona foram usados na fase de indução e, nos casos de ausência de remissão parcial em duas semanas, foi implementado tratamento com doxorrubicina, etoposido e metilprednisolona. Os resultados foram bastante promissores, ocorrendo uma resposta ao tratamento em 76% dos doentes.<sup>81</sup>

Relativamente a doentes com síndrome de ativação macrofágica, recomenda-se que o tratamento inicial seja efetuado com corticosteroides isoladamente, sem recurso a etoposido. A monoterapia com corticoide leva a remissão em 71% dos doentes.<sup>7,82</sup> Quando a resposta não é favorável, outros agentes imunossuppressores devem ser utilizados, em vez dos protocolos HLH-94 ou HLH-2004.<sup>75</sup>

A ciclosporina A bloqueia a ativação de linfócitos T, reduz a produção de citocinas inflamatórias e inibe a expressão de moléculas coestimuladoras na superfície de células dendríticas.<sup>83-85</sup> É eficaz no tratamento da síndrome hemofagocítica primária e em casos de síndrome de ativação macrofágica graves ou cortico-resistentes.<sup>5,7,17,86-88</sup> Em alguns doentes ocorre apirexia e melhoria dos valores laboratoriais nas primeiras 12 a 24 horas após o início da terapêutica com ciclosporina A.<sup>89</sup> Estes dados levaram alguns autores a propôr a utilização de ciclosporina A, 2-5 mg/kg/dia, como tratamento de primeira linha na síndrome de ativação macrofágica.<sup>89,90</sup>

Os primeiros fármacos biológicos usados para tratar a síndrome de ativação macrofágica foram os inibidores do fator de necrose tumoral  $\alpha$ .<sup>91-94</sup> Atualmente deixaram de estar recomendados, uma vez que foram identificados vários doentes em que a síndrome de ativação macrofágica poderá ter sido desencadeada pelo uso destes fármacos.<sup>95-98</sup>

O bloqueio da interleucina (IL)-1 e da IL-6 parecem ser mais promissores. Anakinra, um antagonista do receptor da IL-1, é altamente eficaz no tratamento da AIJS.<sup>99</sup> Existem também múltiplas descrições de doentes com AIJS e síndrome de ativação macrofágica que melhoraram quando foi iniciada a terapêutica com anakinra.<sup>100-104</sup> Em contraste, existem também alguns casos de doentes com AIJS em que o desencadear da síndrome de ativação macrofágica se associou ao tratamento com anakinra (1-2 mg/kg/dia).<sup>99,105</sup> Neste grupo de doentes a causa exata foi difícil de estabelecer e a suspensão do trata-

mento não foi necessária, tendo-se verificado inclusivamente melhoria do quadro quando utilizadas doses superiores. Anakinra continua, assim, a ser uma terapêutica recomendada para a síndrome de ativação macrófaga refratária.<sup>2</sup>

O canakinumab, um anticorpo monoclonal que bloqueia a IL-1 $\beta$ , é também eficaz no tratamento da AIJS (4 mg/kg)<sup>106</sup> e, em doses mais elevadas, no tratamento da síndrome de ativação macrófaga (7,5-12,5 mg/kg).<sup>107</sup>

O tocilizumab, um anticorpo monoclonal anti-IL-6, é usado com bons resultados em doentes com AIJS.<sup>108,109</sup> O seu papel no controlo da síndrome de ativação macrófaga ainda não está bem definido, sobretudo porque existem vários casos descritos de doentes com AIJS cuja síndrome de ativação macrófaga foi diretamente relacionada com a utilização de tocilizumab.<sup>110-112</sup>

Recentemente, foram descritos 30 doentes que desenvolveram síndrome hemofagocítica após receberem terapias biológicas, tendo-se concluído que as infeções induzidas pelos agentes biológicos eram os estímulos mais prováveis para a síndrome hemofagocítica e não o fármaco em si.<sup>41</sup>

Em conclusão, corticosteroides e ciclosporina A são os agentes mais frequentemente utilizados para o tratamento da síndrome de ativação macrófaga. Recomendam-se pulsos de metilprednisolona intravenosa 30 mg/kg em três dias consecutivos, seguidos de 2-3 mg/kg/dia em duas a quatro tomas diárias. Se a resposta aos corticoides não for imediata, a administração parentérica de ciclosporina A (2-5 mg/kg/dia) deve ser iniciada.<sup>113</sup> Em doentes refratários a este tratamento, existe uma evidência crescente que terapias biológicas, particularmente inibidores de IL-1, podem ser úteis.<sup>2</sup>

O etoposido é reservado para casos de linfocitose hemofagocítica familiar, síndromes hemofagocíticas secundárias a neoplasias ou infeções, ou em doentes gravemente doentes refratários às restantes terapêuticas.<sup>88,104</sup>

Em doentes com linfocitose hemofagocítica familiar, neoplasias hematológicas, sintomas recorrentes e/ou atingimento do sistema nervoso central está recomendado o transplante de células hematopoiéticas. O prognóstico é melhor se o doente estiver em remissão no momento do transplante.<sup>18,114</sup> Terapêutica pré-transplante com alemtuzumab (anticorpo monoclonal anti CD52), fludarabina e melfalano está associada a menor risco de toxicidade e maior probabilidade de sobrevivência.<sup>115,116</sup>

Novas modalidades terapêuticas estão atualmente a ser desenvolvidas, incluindo terapia génica para a correção de defeitos da perforina e a utilização de um anticorpo monoclonal humano anti-interferão  $\gamma$  para o tratamento das formas primárias.<sup>117,118</sup> Em dois modelos animais diferentes de formas primárias e secundárias de síndrome hemofagocítica, o tratamento com ruxolitinib, um inibidor das Janus kinases (JAK) 1 e 2, levou a uma melhoria franca do quadro clínico, pelo que estes fármacos são considerados muito promissores.<sup>119</sup>

## Prognóstico

Doentes com linfocitose hemofagocítica familiar têm um tempo médio de sobrevivência de aproximadamente dois meses após o diagnóstico, se não tratados.<sup>29,77</sup> No caso dos doentes submetidos ao protocolo HLH-94 a taxa de sobrevivência é de 54% aos 6,2 anos,<sup>18,114</sup> sendo inferior nas crianças diagnosticadas antes dos 6 meses e nos doentes com atingimento neurológico.<sup>18,114</sup> De 124 doentes submetidos a transplante de células estaminais hematopoiéticas alogénico, a sobrevivência aos cinco anos foi de 66%, sendo melhor no subgrupo de doentes em remissão na altura do transplante.<sup>18,114</sup>

As taxas de sobrevivência são maiores na síndrome de ativação macrófaga. Um estudo recente indica uma taxa de mortalidade de 8% em doentes com AIJS que desenvolveram esta complicação.<sup>5</sup>

Valores muito elevados de ferritina e ausência de diminuição significativa destes níveis com o tratamento são factores de mau prognóstico em todos os tipos de síndrome hemofagocítica.<sup>120</sup>

Podem verificar-se recorrências da síndrome, sendo mais provável no primeiro ano após a doença aguda inicial. O risco de recorrência pode ser minimizado reduzindo a exposição a fatores desencadeantes. Dado que recorrências após vacinação têm sido relatadas, é recomendado evitar vacinas nos primeiros seis meses e devem ser administradas uma de cada vez.<sup>121</sup>

## Novos dados sobre a patogénese da síndrome hemofagocítica

Em 1998, descobriu-se que doentes com linfocitose hemofagocítica familiar apresentavam defeitos ao nível da função das células NK.<sup>122</sup> No ano seguinte foi descrita, pela primeira vez, a associação a mutações do gene que codifica a proteína perforina.<sup>123</sup> A perforina localiza-se nos grânulos citotóxicos de células NK e linfócitos T e é secretada mediante conjugação com as células alvo. Na presença de cálcio, insere-se na membrana das células alvo, polimerizando para formar um poro. A granzima B, uma protease também encontrada nas células citotóxicas, entra nas células alvo pelos poros produzidos pela perforina, induzindo apoptose. Dados provenientes de modelos animais indicam que a perforina é importante na defesa contra cancro e agentes infecciosos intracelulares.<sup>124,125</sup> Tem sido igualmente sugerido que a perforina controla a proliferação linfocitária.<sup>123</sup> A deficiência de perforina pode contribuir deste modo para a ativação linfocitária persistente e, consequentemente, para a produção de citocinas pró-inflamatórias, incluindo o interferão  $\gamma$  que ativa os macrófa-



gos. Estima-se que 15-40% dos doentes com linfocitose hemofagocítica familiar tenham mutações no gene que codifica a perforina.<sup>123</sup>

Mutações no gene *UNC13D*, o qual codifica a proteína *MUNC13-4*, têm sido implicadas em 10-30% dos doentes com linfocitose hemofagocítica familiar.<sup>126</sup> Esta proteína participa na ancoragem e fusão de grânulos citotóxicos com a membrana citoplasmática.

Mutações nos genes *STX11* (Syntaxin 11) e *STXBP2* (Syntaxin Binding Protein 2) codificadores de proteínas igualmente importantes no tráfego de grânulos citotóxicos, também têm sido associadas ao desenvolvimento de formas primárias de síndrome hemofagocítica.<sup>127-129</sup>

Em conclusão, desde a descrição do papel da perforina, diversas proteínas relacionadas com a produção, exocitose e função de grânulos citotóxicos de linfócitos T CD8+ e células NK têm sido encontradas alteradas em doentes com linfocitose hemofagocítica familiar.<sup>130</sup> Esta lista vai certamente aumentar nos próximos anos com novos dados a surgirem de estudos de sequenciação genómica/exómica.

Curiosamente, nos últimos anos a distinção entre síndromes hemofagocíticas primárias e secundárias está a tornar-se mais difícil à medida que novas causas genéticas são identificadas. Num estudo de 2014, em 281 doentes italianos com síndrome hemofagocítica classificados como formas não familiares, 43 (15%) tinham mutações monoalélicas em um dos genes associados a linfocitose hemofagocítica familiar.<sup>131</sup> Doentes com formas secundárias podem apresentar, assim, mutações monoalélicas nos mesmos genes que produzem linfocitose hemofagocítica familiar quando ambos estão mutados.<sup>131</sup> Conceptualmente, estes dados são consistentes com um modelo *multi-hit*: indivíduos geneticamente suscetíveis quando expostos a determinados estímulos desenvolvem hiper-inflamação.<sup>26</sup> Todos estes dados permitem concluir que a função citotóxica não é apenas importante como função efetora imune, mas também para resolução da inflamação.<sup>26</sup>

Modelos animais permitiram compreender com mais exatidão a patogénese da síndrome hemofagocítica. Ratinhos com deficiência de perforina (*Prf*<sup>-/-</sup>) infetados com vírus linfocítico de coriomeningite exibem características clínicas semelhantes às de doentes com linfocitose hemofagocítica familiar.<sup>132</sup> Este modelo permitiu compreender a importância do interferão  $\gamma$  na patogénese das formas primárias de doença. Destaca-se que ratinhos *Prf*<sup>-/-</sup> que também apresentam deficiência de interferão  $\gamma$  encontram-se protegidos da ocorrência de anemia<sup>132</sup> e a injeção de interferão  $\gamma$  em ratinhos sem deficiência da perforina é suficiente para causar hemofagocitose e anemia, de forma dose-dependente.<sup>132</sup> Ratinhos transgênicos que seletivamente exprimem um recetor do interferão  $\gamma$  mutado dominante-negativo nas células da linhagem macrófaga não desenvolvem hemofagocitose e estão protegidos de anemia quando injetados com interferão  $\gamma$ .<sup>132</sup> Estes dados

sugerem, assim, que o interferão  $\gamma$  deve atuar diretamente nos macrófagos para a ocorrência de hemofagocitose *in vivo*. De acordo com o modelo atual da síndrome hemofagocítica primária, os linfócitos T citotóxicos e células NK falham na sua função de morte de células infetadas, causando a persistência do antigénio. Adicionalmente, células citotóxicas falham no envio de sinais apoptóticos apropriados para a remoção de linfócitos T ativados e macrófagos, causando expansão persistente destas células e secreção aumentada de citocinas pró-inflamatórias, incluindo interferão  $\gamma$ , TNF  $\alpha$ , IL-6, IL-10, IL-12, IL-16 e IL-18.<sup>15,133-135</sup> Como resultado da estimulação contínua por estas citocinas, principalmente interferão  $\gamma$ , os macrófagos tornam-se hemofagócitos.<sup>2,136</sup>

Outro modelo animal utiliza ratinhos portadores do transgene I|6, os quais produzem altos níveis de IL-6.<sup>137</sup> Estes ratinhos quando estimulados com ligandos de receptores *Toll-like* (TLR) apresentam uma mortalidade aumentada, o que permite especular sobre uma possível causa de síndrome de ativação macrófaga no contexto de AIJS. Níveis circulantes altos de IL-6, típicos desta doença, podem predispor a uma hiper-resposta a infeções.<sup>137</sup> Além disso, um estudo recente demonstrou que, quer em ratinhos quer em humanos, a IL-6 contra-regula a atividade citotóxica de células NK, reduzindo os níveis de perforina e granzima B, na ausência de alteração da exocitose de grânulos.<sup>138</sup> Este é uma nova e interessante conexão entre as síndromes hemofagocíticas primárias e secundárias.

Outro modelo murino de síndrome de ativação macrófaga baseia-se na estimulação repetida do TLR-9.<sup>139</sup> Este modelo é importante dado que não é dependente de defeitos genéticos ou de uma infeção viral, mimetizando melhor o que ocorre no ser humano. O TLR-9 é um receptor para ácido desoxirribonucleico (ADN) contendo sequências CpG não metiladas. Existem múltiplos estudos que associam a hiperativação do TLR-9 à ocorrência de síndrome de ativação macrófaga. Nos doentes com AIJS existe uma assinatura genética consistente com sinalização crónica de TLR/IL-1 $\beta$ <sup>140</sup> e o vírus Epstein-Barr, um dos estímulos mais frequentes de síndromes hemofagocíticas secundárias, é um vírus de ADN que ativa o TLR-9.<sup>141</sup> O modelo murino de estimulação TLR-9 replica, por isso, o ambiente que permite que a síndrome de ativação macrófaga ocorra em hospedeiros geneticamente predispostos. Ratinhos submetidos a estimulação de TLR-9 desenvolvem características similares à síndrome de ativação macrófaga.<sup>139</sup> A doença neste modelo é fulminante, se existir um bloqueio concomitante de IL-10.<sup>139</sup> Curiosamente, polimorfismos de IL10 associados a menor função estão associados a AIJS, mostrando que a IL-10 pode desempenhar um papel protetor.<sup>142</sup> Ao contrário do que é observado noutros modelos animais, experiências de depleção revelaram que células T, células NK ou células B não são determinantes no fenótipo. Adicionalmente, quadros fulminantes ocorrem na ausência de interferão  $\gamma$ , IL-12, TNF- $\alpha$ ,

INF- $\alpha$  e INF- $\beta$ , demonstrando que esta condição se deve a uma rede complexa de citocinas e é independente de qualquer citocina isoladamente.<sup>143</sup>

Outra contribuição importante deste modelo foi a dissociação entre anemia e hemofagocitose. Ratinhos tratados com estimulação repetida do TLR-9 exibem anemia na ausência de hemofagocitose, enquanto ratinhos interferon  $\gamma$ -/- com bloqueio de IL-10 apresentavam hemofagocitose sem anemia.<sup>139,143</sup> Estes dados sugerem que é a diseritropoiese mediada por interferon  $\gamma$ , e não a hemofagocitose, o mecanismo dominante da anemia no contexto da síndrome de ativação macrofágica.<sup>143</sup>

Ainda que no passado a presença de hemofagocitose tenha sido associada à ocorrência de anemia e à atividade da doença, não existe demonstração de causalidade. Pelo contrário, estudos recentes sugerem que os hemofagócitos podem ter uma função de regulação da inflamação. A eritrofagocitose pode providenciar um substrato para a produção de heme oxigenase-1, a qual limita a resposta inflamatória.<sup>15,144</sup> Estudos em modelo animal e em humanos apoiam esta hipótese.<sup>33</sup> Os hemofagócitos capturados no baço de ratinhos com bloqueio de IL-10 e estimulação repetida do TLR-9 exibem um aumento da expressão de genes relacionados com o fenótipo M2 dos macrófagos, uma característica indicativa de função anti-inflamatória.<sup>33</sup> Destaca-se ainda que o CD 163, um marcador do fenótipo M2 dos macrófagos, é altamente expresso em hemofagócitos humanos.<sup>145</sup>

Curiosamente, foi descoberto que os hemofagócitos são uma fonte importante de IL-10, uma citocina importante para o controlo da resposta inflamatória, e que quando são incapazes de a produzir, a mortalidade induzida por vírus aumenta.<sup>146</sup> Os hemofagócitos podem constituir, por isso, uma máquina de *feedback* negativo com funções reguladoras em vez de serem os causadores da doença.<sup>33,146</sup>

## Conclusões

A síndrome hemofagocítica pode ser desencadeada por múltiplos estímulos, mas, independentemente da sua causa, é caracterizada por um estado de hiper-inflamação. Dados da ciência básica conduziram a um modelo da patogénese da síndrome hemofagocítica no qual indivíduos geneticamente suscetíveis desenvolvem inflamação não controlada quando expostos a determinados estímulos. Isto verifica-se não apenas nos doentes com linfocitose hemofagocítica familiar, os quais apresentam defeitos inatos na citotoxicidade, e desenvolvem a síndrome hemofagocítica após um desencadeante infeccioso, mas também nas formas secundárias. Em doentes com AIJS, por exemplo, a exposição contínua a IL-6 está associada a uma hiper-resposta a estímulos infecciosos. Outra manifestação comum em todas estas síndromes é a

hemofagocitose. Curiosamente, assistiu-se a uma mudança radical na forma como interpretamos o papel dos hemofagócitos: não só não parecem necessários para a ocorrência de anemia nestas condições, como podem mesmo desempenhar uma função reguladora anti-inflamatória. Consequentemente, poderá ser necessária uma nova nomenclatura para estas síndromes, dado que a hemofagocitose já não é considerada o passo mais importante na sua patogénese.

Nos últimos anos assistiu-se igualmente a uma mudança profunda na abordagem clínica das síndromes hemofagocíticas, em que novos critérios de diagnóstico foram estabelecidos e novas estratégias terapêuticas foram testadas. Vivemos, assim, numa era de grandes progressos que certamente terão impacto na sobrevivência destes doentes.

## Conflitos de Interesse

Os autores declaram a inexistência de conflitos de interesse na realização do presente trabalho.

## Fontes de Financiamento

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

## Correspondência

Patrícia Costa Reis  
p.c.patrícia@gmail.com

**Recebido:** 16/07/2016

**Aceite:** 25/07/2016

## Referências

- Grom AA, Mellins ED. Macrophage activation syndrome: Advances towards understanding pathogenesis. *Curr Opin Rheumatol* 2010;22:561-6.
- Ravelli A, Grom AA, Behrens EM, Cron RQ. Macrophage activation syndrome as part of systemic juvenile idiopathic arthritis: Diagnosis, genetics, pathophysiology and treatment. *Genes Immun* 2012;13:289-98.
- Grom AA, Horne A, De Benedetti F. Macrophage activation syndrome in the era of biologic therapy. *Nat Rev Rheumatol* 2016;12:259-68.
- Castillo L, Carcillo J. Secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis and severe sepsis/systemic inflammatory response syndrome/multiorgan dysfunction syndrome/macrophage activation syndrome share common intermediate phenotypes on a spectrum of inflammation. *Pediatr Crit Care Med* 2009;10:387-92.
- Minoia F, Davì S, Horne A, Demirkaya E, Bovis F, Li C, et al. Clinical features, treatment, and outcome of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: A multinational, multicenter study of 362 patients.

- Arthritis Rheumatol. 2014;66:3160-9.
6. Ravelli A. Macrophage activation syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14:548-52.
  7. Stéphan JL, Koné-Paut I, Galambrun C, Mouy R, Bader-Meunier B, Prieur AM. Reactive haemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. A retrospective study of 24 patients. *Rheumatology* 2001;40:1285-92.
  8. Behrens EM, Beukelman T, Cron RQ. Juvenile idiopathic arthritis classification criteria: loopholes and diagnosis software. *J Rheumatol*. 2007;34:234; author reply 234-5.
  9. Ravelli A, Davi S, Minoia F, Martini A, Cron RQ. Macrophage activation syndrome. *Hematol Oncol Clin North Am* 2015;29:927-41.
  10. Haddad E, Sulis ML, Jabado N, Blanche S, Fischer A, Tardieu M. Frequency and severity of central nervous system lesions in hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 1997;89:794-800.
  11. Henter JI, Aricò M, Egeler RM, Elinder G, Favara BE, Filipovich AH, et al. HLH-94: A treatment protocol for hemophagocytic lymphohistiocytosis. HLH study group of the Histiocyte Society. *Med Pediatr Oncol* 1997;28:342-7.
  12. Feldmann J, Ménasché G, Callebaut I, Minard-Colin V, Bader-Meunier B, Le Clainche L, et al. Severe and progressive encephalitis as a presenting manifestation of a novel missense perforin mutation and impaired cytolytic activity. *Blood* 2005;105:2658-63.
  13. Deiva K, Mahlaoui N, Beaudonnet F, de Saint Basile G, Caridade G, Moshous D, et al. CNS involvement at the onset of primary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Neurology* 2012;78:1150-6.
  14. Seguin A, Galicier L, Boutboul D, Lemiale V, Azoulay E. Pulmonary involvement in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Chest* 2016;149:1294-301.
  15. Behrens EM, Beukelman T, Paessler M, Cron RQ. Occult macrophage activation syndrome in patients with systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2007;34:1133-8.
  16. Ishii E, Ohga S, Imashuku S, Yasukawa M, Tsuda H, Miura I, et al. Nationwide survey of hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. *Int J Hematol* 2007;86:58-65.
  17. Sawhney S, Woo P, Murray KJ. Macrophage activation syndrome: A potentially fatal complication of rheumatic disorders. *Arch Dis Child* 2001;85:421-6.
  18. Trottestam H, Horne A, Aricò M, Egeler RM, Filipovich AH, Gadner H, et al. Chemoimmunotherapy for hemophagocytic lymphohistiocytosis: Long-term results of the HLH-94 treatment protocol. *Blood* 2011;118:4577-84.
  19. Allen CE, Yu X, Kozinetz CA, McClain KL. Highly elevated ferritin levels and the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:1227-35.
  20. Niece JA, Rogers ZR, Ahmad N, Langevin AM, McClain KL. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in Texas: Observations on ethnicity and race. *Pediatr Blood Cancer* 2010;54:424-8.
  21. Palazzi DL, McClain KL, Kaplan SL. Hemophagocytic syndrome in children: An important diagnostic consideration in fever of unknown origin. *Clin Infect Dis* 2003;36:306-12.
  22. Jordan MB, Allen CE, Weitzman S, Filipovich AH, McClain KL. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2011;118:4041-52.
  23. Okamoto M, Yamaguchi H, Isobe Y, Yokose N, Mizuki T, Tajika K, et al. Analysis of triglyceride value in the diagnosis and treatment response of secondary hemophagocytic syndrome. *Intern Med* 2009;48:775-81.
  24. Gorelik M, Fall N, Altaye M, Barnes MG, Thompson SD, Grom AA, et al. Follistatin-like protein 1 and the ferritin/erythrocyte sedimentation rate ratio are potential biomarkers for dysregulated gene expression and macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2013;40:1191-9.
  25. Bleesing J, Prada A, Siegel DM, Villanueva J, Olson J, Ilowite NT, et al. The diagnostic significance of soluble CD163 and soluble interleukin-2 receptor alpha-chain in macrophage activation syndrome and untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Rheum* 2007;56:965-71.
  26. Behrens EM, Cron RQ. Kill or be killed. *J Immunol* 2015;194:5041-3.
  27. Machaczka M, Klimkowska M. Bone marrow assessment in the diagnosis of acquired hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Am J Clin Pathol* 2015;143:308-9.
  28. Machaczka M, Vaktnäs J, Klimkowska M, Häggglund H. Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: A retrospective population-based analysis from a single center. *Leuk Lymphoma* 2011;52:613-9.
  29. Janka GE. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Eur J Pediatr* 1983;140:221-30.
  30. Fukaya S, Yasuda S, Hashimoto T, Oku K, Kataoka H, Horita T, et al. Clinical features of haemophagocytic syndrome in patients with systemic autoimmune diseases: Analysis of 30 cases. *Rheumatology* 2008;47:1686-91.
  31. Atteritano M, David A, Bagnato G, Beninati C, Frisina A, Iaria C, et al. Haemophagocytic syndrome in rheumatic patients. A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2012;16:1414-24.
  32. Wakiguchi H, Hasegawa S, Hirano R, Kaneyasu H, Wakabayashi-Takahara M, Ohga S. Successful control of juvenile dermatomyositis-associated macrophage activation syndrome and interstitial pneumonia: distinct kinetics of interleukin-6 and -18 levels. *Pediatr Rheumatol Online J* 2015;13:49.
  33. Canna SW, Costa-Reis P, Bernal WE, Chu N, Sullivan KE, Paessler ME, et al. Brief report: Alternative activation of laser-captured murine hemophagocytes. *Arthritis Rheumatol* 2014;66:1666-71.
  34. Rigante D, Capoluongo E, Bertoni B, Ansuini V, Chiaretti A, Piastra M, et al. First report of macrophage activation syndrome in hyperimmunoglobulinemia D with periodic fever syndrome. *Arthritis Rheum* 2007;56:658-61.
  35. Rossi-Semerano L, Hermeziu B, Fabre M, Koné-Paut I. Macrophage activation syndrome revealing familial Mediterranean fever. *Arthritis Care Res* 2011;63:780-3.
  36. Lehmsberg K, Nichols KE, Henter JI, Girschikofsky M, Greenwood T, Jordan M, et al. Consensus recommendations for the diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with malignancies. *Haematologica* 2015;100:997-1004.



37. Pasqualini C, Jorini M, Carloni I, Giangiacomi M, Cetica V, Aricò M, et al. Cytophagic histiocytic panniculitis, hemophagocytic lymphohistiocytosis and undetermined autoimmune disorder: Reconciling the puzzle. *Ital J Pediatr* 2014;40:17.
38. Allory Y, Challine D, Haioun C, Copie-Bergman C, Delfau-Larue MH, Boucher E, et al. Bone marrow involvement in lymphomas with hemophagocytic syndrome at presentation: A clinicopathologic study of 11 patients in a Western institution. *Am J Surg Pathol* 2001;25:865-74.
39. Unal S, Cetin M, Kutlay NY, Elmas SA, Gumruk F, Tukun A, et al. Hemophagocytosis associated with leukemia: A striking association with juvenile myelomonocytic leukemia. *Ann Hematol* 2010;89:359-64.
40. McClain K, Gehrz R, Grierson H, Purtilo D, Filipovich A. Virus-associated histiocytic proliferations in children. Frequent association with Epstein-Barr virus and congenital or acquired immunodeficiencies. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1988;10:196-205.
41. Brito-Zerón P, Bosch X, Pérez-de-Lis M, Pérez-Álvarez R, Fraile G, Gheithi H, et al. Infection is the major trigger of hemophagocytic syndrome in adult patients treated with biological therapies. *Semin Arthritis Rheum* 2016;45:391-9.
42. Kishore J, Kishore D. Fatal missed case of hemophagocytic lymphohistiocytosis co-infected with parvovirus B19 and Epstein-Barr virus in an infant: Test hyperferritinaemia early. *Indian J Med Microbiol* 2014;32:181-3.
43. Drori A, Ribak Y, van Heerden PV, Meir K, Wolf D, Safadi R. Hemophagocytic lymphohistiocytosis due to acute primary herpes simplex virus 1 infection. *J Clin Virol* 2015;68:6-10.
44. Cusini A, Günthard HF, Stussi G, Schwarz U, Fehr T, Grueter E, et al. Hemophagocytic syndrome caused by primary herpes simplex virus 1 infection: Report of a first case. *Infection* 2010;38:423-6.
45. Fardet L, Blum L, Kerob D, Agbalika F, Galicier L, Dupuy A, et al. Human herpesvirus 8-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis* 2003;37:285-91.
46. Grossman WJ, Radhi M, Schauer D, Gerday E, Grose C, Goldman FD. Development of hemophagocytic lymphohistiocytosis in triplets infected with HHV-8. *Blood* 2005;106:1203-6.
47. Mou SS, Nakagawa TA, Riemer EC, McLean TW, Hines MH, Shetty AK. Hemophagocytic lymphohistiocytosis complicating influenza A infection. *Pediatrics* 2006;118:e216-9.
48. Harms PW, Schmidt LA, Smith LB, Newton DW, Pletneva MA, Walters LL, et al. Autopsy findings in eight patients with fatal H1N1 influenza. *Am J Clin Pathol* 2010;134:27-35.
49. Beffermann N, Pilcante J, Sarmiento M. Acquired hemophagocytic syndrome related to parainfluenza virus infection: A case report. *J Med Case Reports* 2015;9:78.
50. Yuzurihara SS, Ao K, Hara T, Tanaka F, Mori M, Kikuchi N, et al. Human parechovirus-3 infection in nine neonates and infants presenting symptoms of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Infect Chemother* 2013;19:144-8.
51. Chen TL, Wong WW, Chiou TJ. Hemophagocytic syndrome: An unusual manifestation of acute human immunodeficiency virus infection. *Int J Hematol* 2003;78:450-2.
52. Hibino M, Sato S, Shimizu T, Yamamoto S, Ohe M, Kondo T. Hemophagocytic lymphohistiocytosis secondary to *Mycoplasma pneumoniae* infection without pneumonia. *Intern Med* 2014;53:1679-83.
53. Statler VA, Marshall GS. Hemophagocytic lymphohistiocytosis induced by monocytic ehrlichiosis. *J Pediatr* 2015;166:499.e1.
54. Ohno T, Shirasaka A, Sugiyama T, Furukawa H. Hemophagocytic syndrome induced by *Plasmodium falciparum* malaria infection. *Int J Hematol* 1996;64:263-6.
55. Sung PS, Kim IH, Lee JH, Park JW. Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) associated with *Plasmodium vivax* infection: Case report and review of the literature. *Chonnam Med J* 2011;47:173-6.
56. Huang AM. Hemophagocytic lymphohistiocytosis and disseminated histoplasmosis. *Blood* 2014;123:2449.
57. Ramsi M, Alvira C, Purohit P, Cornfield D. Haemophagocytic lymphohistiocytosis associated with coccidiomycosis. *BMJ Case Rep* 2014;2014.
58. Ward DM, Shiflett SL, Kaplan J. Chediak-Higashi syndrome: A clinical and molecular view of a rare lysosomal storage disorder. *Curr Mol Med* 2002;2:469-77.
59. Bizario JC, Feldmann J, Castro FA, Ménasché G, Jacob CM, Cristofani L, et al. Griscelli syndrome: Characterization of a new mutation and rescue of T-cytotoxic activity by retroviral transfer of RAB27A gene. *J Clin Immunol* 2004;24:397-410.
60. Jessen B, Kögl T, Sepulveda FE, de Saint Basile G, Aichele P, Ehl S. Graded defects in cytotoxicity determine severity of hemophagocytic lymphohistiocytosis in humans and mice. *Front Immunol* 2013;4:448.
61. Abe Y, Choi I, Hara K, Matsushima T, Nishimura J, Inaba S, et al. Hemophagocytic syndrome: A rare complication of allogeneic nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2002;29:799-801.
62. Karras A, Thervet E, Legendre C, Groupe Coopératif de Transplantation d'Île de France. Hemophagocytic syndrome in renal transplant recipients: Report of 17 cases and review of literature. *Transplantation* 2004;77:238-43.
63. Lladó L, Figueras J, Comí S, Torras J, Serrano T, Castellote J, et al. Haemophagocytic syndrome after liver transplantation in adults. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant* 2004;17:221-3.
64. George TI, Jeng M, Berquist W, Cherry AM, Link MP, Arber DA. Epstein-Barr virus-associated peripheral T-cell lymphoma and hemophagocytic syndrome arising after liver transplantation: Case report and review of the literature. *Pediatr Blood Cancer* 2005;44:270-6.
65. Duval M, Fenneteau O, Doireau V, Faye A, Emilie D, Yotnda P, et al. Intermittent hemophagocytic lymphohistiocytosis is a regular feature of lysinuric protein intolerance. *J Pediatr* 1999;134:236-9.
66. Bode SF, Ammann S, Al-Herz W, Bataneant M, Dvorak CC, Gehring S, et al. The syndrome of hemophagocytic lymphohistiocytosis in primary immunodeficiencies: Implications for differential diagnosis and pathogenesis. *Haematologica* 2015;100:978-88.

67. Aleman K, Noordzij JG, de Groot R, van Dongen JJ, Hartwig NG. Reviewing Omenn syndrome. *Eur J Pediatr* 2001;160:718-25.
68. Henter JI, Horne A, Aricó M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:124-31.
69. Parodi A, Davi S, Pringe AB, Pistorio A, Ruperto N, Magni-Manzoni S, et al. Macrophage activation syndrome in juvenile systemic lupus erythematosus: A multinational multicenter study of thirty-eight patients. *Arthritis Rheum* 2009;60:3388-99.
70. Petty RE, Southwood TR, Manners P, Baum J, Glass DN, Goldenberg J, et al. International league of associations for rheumatology classification of juvenile idiopathic arthritis: Second revision, Edmonton, 2001. *J Rheumatol* 2004;31:390-2.
71. Pelkonen P, Swanljung K, Siimes MA. Ferritinemia as an indicator of systemic disease activity in children with systemic juvenile rheumatoid arthritis. *Acta Paediatr Scand* 1986;75:64-8.
72. Bloom BJ, Tucker LB, Miller LC, Schaller JG. Fibrin D-dimer as a marker of disease activity in systemic onset juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998;25:1620-5.
73. Gallistl S, Mange H, Neuwirth G, Muntean W. Activation of the haemostatic system in children with juvenile rheumatoid arthritis correlates with disease activity. *Thromb Res* 1998;92:267-72.
74. Ravelli A, Minoia F, Davi S, Horne A, Bovis F, Pistorio A, et al 2016 classification criteria for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis: A european league against rheumatism/American College of Rheumatology/Paediatric Rheumatology International Trials Organisation Collaborative Initiative. *Ann Rheum Dis* 2016;75:481-9.
75. Schram AM, Berliner N. How I treat hemophagocytic lymphohistiocytosis in the adult patient. *Blood* 2015;125:2908-14.
76. Abdalgani M, Filipovich AH, Choo S, Zhang K, Gifford C, Villanueva J, et al. Accuracy of flow cytometric perforin screening for detecting patients with FHL due to PRF1 mutations. *Blood* 2015;126:1858-60.
77. Henter JI, Elinder G, Söder O, Hansson M, Andersson B, Andersson U. Hypercytokinemia in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 1991;78:2918-22.
78. Fischer A, Cerf-Bensussan N, Blanche S, Le Deist F, Bremard-Oury C, Leverger G, et al. Allogeneic bone marrow transplantation for erythrophagocytic lymphohistiocytosis. *J Pediatr* 1986;108:267-70.
79. Jabado N, de Graeff-Meeder ER, Cavazzana-Calvo M, Haddad E, Le Deist F, Benkerrou M, et al. Treatment of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis with bone marrow transplantation from HLA genetically nonidentical donors. *Blood* 1997;90:4743-8.
80. La Rosée P. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2015;2015:190-6.
81. Wang Y, Huang W, Hu L, Cen X, Li L, Wang J, et al. Multicenter study of combination DEP regimen as a salvage therapy for adult refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2015;126:2186-92.
82. Singh S, Chandrakasan S, Ahluwalia J, Suri D, Rawat A, Ahmed N, et al. Macrophage activation syndrome in children with systemic onset juvenile idiopathic arthritis: Clinical experience from northwest India. *Rheumatol Int* 2012;32:881-6.
83. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK506. *Immunol Today* 1992;13:136-42.
84. Garcia JE, de Cabo MR, Rodríguez FM, Losada JP, López AJ, Arellano JL. Effect of cyclosporin A on inflammatory cytokine production by U937 monocyte-like cells. *Mediators Inflamm* 2000;9:169-74.
85. Lee JL, Kim YH, Lee JM, Kim JD, Kim SJ, Park JH. Molecular analysis of HLA-DR gene expression induced by IFN-gamma in malignant melanoma cell lines. *Yonsei Med J* 1999;40:30-9.
86. Mouy R, Stephan JL, Pillet P, Haddad E, Hubert P, Prieur AM. Efficacy of cyclosporine A in the treatment of macrophage activation syndrome in juvenile arthritis: report of five cases. *J Pediatr* 1996;129:750-4.
87. Kounami S, Yoshiyama M, Nakayama K, Okuda M, Okuda S, Aoyagi N, et al. Macrophage activation syndrome in children with systemic-onset juvenile chronic arthritis. *Acta Haematol* 2005;113:124-9.
88. Cortis E, Insalaco A. Macrophage activation syndrome in juvenile idiopathic arthritis. *Acta Paediatr Suppl* 2006;95:38-41.
89. Ravelli A, Viola S, De Benedetti F, Magni-Manzoni S, Tzialla C, Martini A. Dramatic efficacy of cyclosporine A in macrophage activation syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2001;19:108.
90. Boom V, Anton J, Lahdenne P, Quartier P, Ravelli A, Wulffraat NM, et al. Evidence-based diagnosis and treatment of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Pediatr Rheumatol Online J* 2015;13:55.
91. Prahald S, Bove KE, Dickens D, Lovell DJ, Grom AA. Etanercept in the treatment of macrophage activation syndrome. *J Rheumatol* 2001;28:2120-4.
92. Henzan T, Nagafuji K, Tsukamoto H, Miyamoto T, Gondo H, Imashuku S, et al. Success with infliximab in treating refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol* 2006;81:59-61.
93. Makay B, Yilmaz S, Türkyilmaz Z, Unal N, Oren H, Unsal E. Etanercept for therapy-resistant macrophage activation syndrome. *Pediatr Blood Cancer* 2008;50:419-21.
94. Sellmer A, Stausbøl-Grøn B, Krag-Olsen B, Herlin T. Successful use of infliximab in macrophage activation syndrome with severe CNS involvement. *Scand J Rheumatol* 2011;40:156-7.
95. Ramanan AV, Schneider R. Macrophage activation syndrome following initiation of etanercept in a child with systemic onset juvenile rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2003;30:401-3.
96. Sandhu C, Chesney A, Piliotis E, Buckstein R, Koren S. Macrophage activation syndrome after etanercept treatment. *J Rheumatol* 2007;34:241-2.
97. Kaneko K, Kaburaki M, Muraoka S, Tanaka N, Yamamoto

- T, Kusunoki Y, et al. Exacerbation of adult-onset Still's disease, possibly related to elevation of serum tumor necrosis factor-alpha after etanercept administration. *Int J Rheum Dis* 2010;13:e67-9.
98. Nádia EA, Carvalho JF, Bonfá E, Lotito AP, Silva CA. Macrophage activation syndrome associated with etanercept in a child with systemic onset juvenile idiopathic arthritis. *Isr Med Assoc J* 2009;11:635-6.
99. Nigrovic PA, Mannion M, Prince FH, Zeft A, Rabinovich CE, van Rossum MA, et al. Anakinra as first-line disease-modifying therapy in systemic juvenile idiopathic arthritis: Report of forty-six patients from an international multicenter series. *Arthritis Rheum* 2011;63:545-55.
100. Durand M, Troyanov Y, Laflamme P, Gregoire G. Macrophage activation syndrome treated with anakinra. *J Rheumatol* 2010;37:879-80.
101. Bruck N, Suttrop M, Kabus M, Heubner G, Gahr M, Pessler F. Rapid and sustained remission of systemic juvenile idiopathic arthritis-associated macrophage activation syndrome through treatment with anakinra and corticosteroids. *J Clin Rheumatol* 2011;17:23-7.
102. Kelly A, Ramanan AV. A case of macrophage activation syndrome successfully treated with anakinra. *Nat Clin Pract Rheumatol* 2008;4:615-20.
103. Record JL, Beukelman T, Cron RQ. Combination therapy of abatacept and anakinra in children with refractory systemic juvenile idiopathic arthritis: A retrospective case series. *J Rheumatol* 2011;38:180-1.
104. Miettunen PM, Narendran A, Jayanthan A, Behrens EM, Cron RQ. Successful treatment of severe paediatric rheumatic disease-associated macrophage activation syndrome with interleukin-1 inhibition following conventional immunosuppressive therapy: case series with 12 patients. *Rheumatology* 2011;50:417-9.
105. Zeft A, Hollister R, LaFleur B, Sampath P, Soep J, McNally B, et al. Anakinra for systemic juvenile arthritis: The Rocky Mountain experience. *J Clin Rheumatol Pract Rep Rheum Musculoskelet Dis* 2009;15:161-4.
106. Ruperto N, Brunner HI, Quartier P, Constantin T, Wulfraat N, Horneff G, et al. Two randomized trials of canakinumab in systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med* 2012;367:2396-406.
107. Kostik MM, Dubko MF, Masalova VV, Snegireva LS, Kornishina TL, Chikova IA, et al. Identification of the best cutoff points and clinical signs specific for early recognition of macrophage activation syndrome in active systemic juvenile idiopathic arthritis. *Semin Arthritis Rheum* 2015;44:417-22.
108. Yokota S, Itoh Y, Morio T, Origasa H, Sumitomo N, Tomobe M, et al. Tocilizumab in systemic juvenile idiopathic arthritis in a real-world clinical setting: Results from 1 year of postmarketing surveillance follow-up of 417 patients in Japan. *Ann Rheum Dis* 2016;75:1654-60.
109. De Benedetti F, Brunner HI, Ruperto N, Kenwright A, Wright S, Calvo I, et al. Randomized trial of tocilizumab in systemic juvenile idiopathic arthritis. *N Engl J Med* 2012;367:2385-95.
110. Kobayashi M, Takahashi Y, Yamashita H, Kaneko H, Mimori A. Benefit and a possible risk of tocilizumab therapy for adult-onset Still's disease accompanied by macrophage-activation syndrome. *Mod Rheumatol* 2011;21:92-6.
111. De Bandt M, Saint-Marcoux B. Tocilizumab for multirefractory adult-onset Still's disease. *Ann Rheum Dis* 2009;68:153-4.
112. Shimizu M, Ueno K, Yachie A. Relapse of systemic juvenile idiopathic arthritis after influenza vaccination in a patient receiving tocilizumab. *Clin Vaccine Immunol* 2012;19:1700-2.
113. Schulert GS, Grom AA. Pathogenesis of macrophage activation syndrome and potential for cytokine-directed therapies. *Annu Rev Med* 2015;66:145-59.
114. Henter JL, Samuelsson-Horne A, Aricò M, Egeler RM, Elinder G, Filipovich AH, et al. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis with HLH-94 immunochemotherapy and bone marrow transplantation. *Blood* 2002;100:2367-73.
115. Cooper N, Rao K, Gilmour K, Hadad L, Adams S, Cale C, et al. Stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2006;107:1233-6.
116. Marsh RA, Vaughn G, Kim MO, Li D, Jodele S, Joshi S, et al. Reduced-intensity conditioning significantly improves survival of patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Blood* 2010;116:5824-31.
117. Carmo M, Risma KA, Arumugam P, Tiwari S, Hontz AE, Montiel-Equihua CA, et al. Perforin gene transfer into hematopoietic stem cells improves immune dysregulation in murine models of perforin deficiency. *Mol Ther* 2015;23:737-45.
118. Booth C, Carmo M, Gaspar HB. Gene therapy for haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Curr Gene Ther* 2014;14:437-46.
119. Das R, Guan P, Sprague L, Verbist K, Tedrick P, An QA, et al. Janus kinase inhibition lessens inflammation and ameliorates disease in murine models of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood* 2016;127:1666-75.
120. Lin TF, Ferlic-Stark LL, Allen CE, Kozinetz CA, McClain KL. Rate of decline of ferritin in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis as a prognostic variable for mortality. *Pediatr Blood Cancer* 2011;56:154-5.
121. Gholam C, Grigoriadou S, Gilmour KC, Gaspar HB. Familial haemophagocytic lymphohistiocytosis: advances in the genetic basis, diagnosis and management. *Clin Exp Immunol* 2011;163:271-83.
122. Sullivan KE, Delaat CA, Douglas SD, Filipovich AH. Defective natural killer cell function in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis and in first degree relatives. *Pediatr Res* 1998;44:465-8.
123. Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Le Deist F, Bhawan S, Certain S, Mathew PA, et al. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Science* 1999;286:1957-9.
124. Smyth MJ, Thia KY, Cretney E, Kelly JM, Snook MB, Forbes CA, et al. Perforin is a major contributor to NK cell control of tumor metastasis. *J Immunol* 1999;162:6658-62.
125. Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, Dewan P, Niazi KR,

- Froelich CJ, et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 1998;282:121-5.
126. Feldmann J, Callebaut I, Raposo G, Certain S, Bacq D, Dumont C, et al. Munc13-4 is essential for cytolytic granules fusion and is mutated in a form of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL3). *Cell* 2003;115:461-73.
127. zur Stadt U, Rohr J, Seifert W, Koch F, Grieve S, Pagel J, et al. Familial hemophagocytic lymphohistiocytosis type 5 (FHL-5) is caused by mutations in Munc18-2 and impaired binding to syntaxin 11. *Am J Hum Genet* 2009;85:482-92.
128. zur Stadt U, Schmidt S, Kasper B, Beutel K, Diler AS, Henter JI, et al. Linkage of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (FHL) type-4 to chromosome 6q24 and identification of mutations in syntaxin 11. *Hum Mol Genet* 2005;14:827-34.
129. Spessott WA, Sanmillan ML, McCormick ME, Patel N, Villanueva J, Zhang K, et al. Hemophagocytic lymphohistiocytosis caused by dominant-negative mutations in STXBP2 that inhibit SNARE-mediated membrane fusion. *Blood* 2015;125:1566-77.
130. Pachlopnik Schmid J, Schmid JP, Côte M, Ménager MM, Burgess A, Nehme N, et al. Inherited defects in lymphocyte cytotoxic activity. *Immunol Rev* 2010;235:10-23.
131. Cetica V, Sieni E, Pende D, Danesino C, De Fusco C, Locatelli F, et al. Genetic predisposition to hemophagocytic lymphohistiocytosis: Report on 500 patients from the Italian registry. *J Allergy Clin Immunol* 2016;137:188-96.e4.
132. Zoller EE, Lykens JE, Terrell CE, Aliberti J, Filipovich AH, Henson PM, et al. Hemophagocytosis causes a consumptive anemia of inflammation. *J Exp Med* 2011;208:1203-14.
133. Takada H, Ohga S, Mizuno Y, Nomura A, Hara T. Increased IL-16 levels in hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26:567-73.
134. Mazodier K, Marin V, Novick D, Farnarier C, Robitail S, Schleinitz N, et al. Severe imbalance of IL-18/IL-18BP in patients with secondary hemophagocytic syndrome. *Blood* 2005;106:3483-9.
135. Lykens JE, Terrell CE, Zoller EE, Risma K, Jordan MB. Perforin is a critical physiologic regulator of T-cell activation. *Blood* 2011;118:618-26.
136. Billiau AD, Roskams T, Van Damme-Lombaerts R, Matthys P, Wouters C. Macrophage activation syndrome: Characteristic findings on liver biopsy illustrating the key role of activated, IFN-gamma-producing lymphocytes and IL-6- and TNF-alpha-producing macrophages. *Blood* 2005;105:1648-51.
137. Strippoli R, Carvello F, Scianaro R, De Pasquale L, Vivarelli M, Petrini S, et al. Amplification of the response to Toll-like receptor ligands by prolonged exposure to interleukin-6 in mice: Implication for the pathogenesis of macrophage activation syndrome. *Arthritis Rheum* 2012;64:1680-8.
138. Cifaldi L, Romania P, Falco M, Lorenzi S, Meazza R, Petrini S, et al. ERAP1 regulates natural killer cell function by controlling the engagement of inhibitory receptors. *Cancer Res* 2015;75:824-34.
139. Behrens EM, Canna SW, Slade K, Rao S, Kreiger PA, Paessler M, et al. Repeated TLR9 stimulation results in macrophage activation syndrome-like disease in mice. *J Clin Invest* 2011;121:2264-77.
140. Fall N, Barnes M, Thornton S, Luyrink L, Olson J, Ilowite NT, et al. Gene expression profiling of peripheral blood from patients with untreated new-onset systemic juvenile idiopathic arthritis reveals molecular heterogeneity that may predict macrophage activation syndrome. *Arthritis Rheum* 2007;56:3793-804.
141. Guggemoos S, Hangel D, Hamm S, Heit A, Bauer S, Adler H. TLR9 contributes to antiviral immunity during gammaherpesvirus infection. *J Immunol* 2008;180:438-43.
142. Fife MS, Gutierrez A, Ogilvie EM, Stock CJW, Samuel JM, Thomson W, et al. Novel IL10 gene family associations with systemic juvenile idiopathic arthritis. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R148.
143. Canna SW, Wrobel J, Chu N, Kreiger PA, Paessler M, Behrens EM. Interferon-gamma mediates anemia but is dispensable for fulminant toll-like receptor 9-induced macrophage activation syndrome and hemophagocytosis in mice. *Arthritis Rheum* 2013;65:1764-75.
144. Schaer DJ, Schaer CA, Schoedon G, Imhof A, Kurrer MO. Hemophagocytic macrophages constitute a major compartment of heme oxygenase expression in sepsis. *Eur J Haematol* 2006;77:432-6.
145. Schaer DJ, Schaer CA, Buehler PW, Boykins RA, Schoedon G, Alayash AI, et al. CD163 is the macrophage scavenger receptor for native and chemically modified hemoglobins in the absence of haptoglobin. *Blood* 2006;107:373-80.