

Reactive hemophagocytic syndromes in children with rheumatic diseases

Reaktywne zespoły hemofagocytarne u dzieci z chorobami reumatycznymi

Piotr Gietka¹, Anna Wieteska-Klimczak², Anna Smorczevska-Kiljan², Lidia Rutkowska-Sak¹, Janusz Książek²

¹Institute of Rheumatology, Department of Pediatric Rheumatology, Warsaw

²The Children's Memorial Health Institute, Department of Pediatrics, Warsaw

¹Klinika i Poliklinika Reumatologii Wieku Rozwojowego, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher w Warszawie

²Klinika Pediatrii Instytutu „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Key words: reactive haemophagocytic syndrome, macrophage activation syndrome, viral infection, rheumatic disease, glucocorticoid, cyclosporine A.

Słowa kluczowe: reaktywny zespół hemofagocyтары, zespół aktywacji makrofaga, infekcje wirusowe, choroby reumatyczne, glikokortykosteroidy, cyklosporyna A.

Summary

Reactive haemophagocytic syndrome (RHPS), also called macrophage activation syndrome (MAS), is a serious complication of viral, rheumatic and malignant diseases, thought to be caused by the excessive activation of T lymphocytes and macrophages. MAS is characterized by polyorgan involvement with typical features: non-remitting fever, hepatic enlargement, considerable lowering of blood cell count and erythrocyte sedimentation rate (ESR), elevation of serum glutamic-oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT), lactate dehydrogenase (LDH) and serum ferritin level, with hypofibrinogenemia. The most characteristic feature is the presence of well differentiated macrophages, revealing an active haemophagocytosis in the bone marrow aspirate. Because of rapid progression and fatal prognosis of the disease, prompt and immediate therapeutic intervention is very important. Although there is no standardized treatment, commonly applied glucocorticoids (GCS), and cyclosporine A (CsA) are used. The study was aimed to a general characteristics of pathogenic factors, clinical picture, laboratory features and results of treatment in 8 children with RHPS /MAS.

Material and methods: The study included 8 children (5 girls and 3 boys) aged 3 to 16 years (mean age was 10 years and 3 months) hospitalized in the Clinic of Pediatrics at IPCZD and in the Department of Pediatric Rheumatology at the Institute of Rheumatology

Streszczenie

Reaktywny zespół hemofagocyтары (RZHF), zwany również zespołem aktywacji makrofaga (ZAM), jest ciężkim zagrażającym życiu powikłaniem chorób infekcyjnych, reumatycznych, nowotworowych i jest spowodowany nadmierną aktywacją limfocytów T oraz makrofagów. Charakteryzuje się niewydolnością wielonarządową, a typowymi objawami klinicznymi są: nieremitująca gorączka, niewydolność wątroby, głęboka depresja komórek krwi, obniżenie wartości OB, zwiększone stężenie aminotransferaz, dehydrogenazy kwasu mlekowego i ferrytyny oraz hipofibrinogenemia. Najbardziej charakterystycznym objawem RZHF jest obecność w biopsji szpiku dobrze zróżnicowanych makrofagów prezentujących nadmierną fagocytozę. Z uwagi na burzliwy przebieg i poważną prognozę konieczne jest wczesne ustalenie rozpoznania i rozpoczęcie leczenia. Nie ma standardowego leczenia, niemniej powszechnie stosowane glikokortykosteroidy (GKS) i cyklosporyna A (CsA) są wysoce skuteczne. Celem pracy była ogólna charakterystyka czynników patogenetycznych, obrazu klinicznego, badań laboratoryjnych i wyników leczenia 8 dzieci z RZHF/ZAM.

Materiał i metody: Badaniem objęto 8 dzieci (5 dziewczynek i 3 chłopców) w wieku od 3 do 16 lat (średni wiek 10 lat i 3 miesiące) hospitalizowanych w Klinice Reumatologii Wieku Rozwojowego Instytutu Reumatologii i Kliniki Pediatrii IPCZD w Warszawie. Analizie poddano potencjalne czynniki etiologiczne, z uwzględnie-

Adres do korespondencji:

dr med. Piotr Gietka, Klinika i Poliklinika Reumatologii Wieku Rozwojowego, Instytut Reumatologii im. prof. dr hab. med. Eleonory Reicher, ul. Spartańska 1, 02-637 Warszawa, tel. +48 22 844 87 74, e-mail: malgieta@o2.pl

Praca wpłynęła: 28.01.2011 r.

in Warsaw. The analysis covered potential etiological factors, considering the basic disease, clinical symptoms (Table II), results of laboratory tests (Table III), including immunological tests, applied therapy. In 4 patients, systemic-onset juvenile idiopathic arthritis was accompanied by MAS, and in 2 patients it was the first manifestation of sJIA. In one patient, EBV infection was confirmed by the polymerase chain reaction (case 1). In patient 3, PCR evaluation revealed Cytomegalovirus (CMV) infection. Cytomegalovirus infection was also confirmed in case 4, however, simultaneously genetic as well as serological evaluation for Parvovirus B19 infection revealed positive results in this patient. In patient 5 CMV infection and/or *Toxocara canis* infection could be a triggering factor for RHPS (Table I).

In seven patients, haemophagocytosis was confirmed in bone marrow biopsy. No response to GCS treatment, including pulse therapy, or IVIG therapy was observed. Remission was induced by treatment with CsA (Table IV). The diagnostic criteria for haemophagocytic lymphohistiocytosis are presented in Table V.

Introduction

Reactive haemophagocytic syndromes (RHPS) belong to a large heterogenic group of diseases. They are characterized by an excessive activity and proliferation of T lymphocytes and macrophages, which accompany infections, proliferative and autoimmunological diseases [1–3]. The main causes of extensive phagocytosis syndrome are: viral infections: Epstein-Barr virus (EBV), cytomegalovirus (CMV), Parvovirus B 19 (PV B19), more rarely bacterial infections. Chlamydia and Rickettsia infections or mycosis are also possible triggering factors of the development of RHPS. The scope of possible factors inducing disorders leading to RHPS is wide and includes systemic-onset juvenile idiopathic arthritis (sJIA), systemic lupus erythematosus (SLE), dermatomyositis, scleroderma, polyarteritis nodosa (PAN), Kawasaki disease and antiphospholipid syndrome [4, 5]. Reactive haemophagocytic syndromes in children with rheumatic diseases may be also named macrophage activation syndrome (MAS) [6].

Detailed pathogenesis of the extensive phagocytosis syndrome is still unknown, and the majority of hypotheses are based on studies on the familial haemophagocytic lymphohistiocytosis (FHLH) and congenital immunodeficiency syndromes with impaired function of macrophages, such as Chediak-Higashi syndrome [7, 8]. According to this theory, RHPS is based on dysfunction of the perforin system, which refers to the protein not only participating in processes of the cellular cytolysis, but also responsible for the control of activity of T lymphocytes and Natural Killer (NK) cells. Lowered expres-

niem choroby podstawowej, objawy kliniczne (tab. II), wyniki badań laboratoryjnych, w tym immunologicznych (tab. III), stosowane leczenie. U 4 chorych ZAM towarzyszył postaci układowej młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów, przy czym u dwojga był pierwszym przejawem postaci układowej młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów (UMIZS). U jednego dziecka badaniem łańcuchowej reakcji polimerazy potwierdzono zakażenie EBV (przypadek 1). U pacjenta 3. stwierdzono w badaniu PCR infekcję wirusem cytomegalii (CMV). Zakażenie CMV stwierdzono również w 4. przypadku, jednocześnie u tej chorej badanie genetyczne oraz serologiczne w kierunku infekcji Parvovirusem B19 wypadło pozytywnie. U pacjenta 5. czynnikiem wyzwalającym RZHF mogło być zakażenie CMV i/lub *Toxocara canis* (tab. I). Wszyscy chorzy prezentowali typowe objawy kliniczne i laboratoryjne RZHF/ZAM, u 7 pacjentów nadmierna fagocytoza potwierdzona była badaniem biopsyjnym szpiku. Leczenie GKS, w tym terapia pulsacyjna, jak również podawanie preparatów immunoglobulin nie przyniosły zadowalającej poprawy u żadnego dziecka. U wszystkich chorych po wprowadzeniu do leczenia CsA uzyskano ustąpienie objawów klinicznych i poprawę parametrów laboratoryjnych (tab. IV). Kryteria diagnostyczne limfohistiocytozy hemofagocytarnej przedstawiono w tabeli V.

Wstęp

Reaktywne/wtórne zespoły hemofagocytarne (RZHF) zaliczane są do dużej heterogennej grupy chorób charakteryzujących się nadmierną aktywnością oraz proliferacją limfocytów T i makrofagów, towarzyszących infekcjom, chorobom rozrostowym i autoimmunologicznym [1–3]. Wśród infekcyjnych przyczyn zespołu wzmożonej fagocytozy należy przede wszystkim wymienić infekcje wirusowe, zwłaszcza wirus Epsteina-Barr (EBV), cytomegalii (CMV), Parvovirus B19 (PV B19), rzadziej bakteryjne. Infekcje chlamydowe, riketsjowe czy grzybicze są czynnikami, które mogą wywołać RZHF. Istnieje wiele czynników wywołujących choroby prowadzące do wystąpienia RZHF, w tym postać układowa młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów (UMIZS), toczень rumieniowaty układowy, zapalenie skórno-mięśniowe, twardzina układowa, guzkowe zapalenie tętnic, choroba Kawasaki i zespół antyfosfolipidowy [4, 5]. Reaktywny zespół hemofagocytarnej stwierdzany u dzieci z chorobami reumatycznymi nazywany jest zespołem aktywacji makrofaga (ZAM) [6].

Obecnie nadal nie jest znana dokładna etiopatogeneza zespołu nadmiernej hemofagocytozy, a większość hipotez opiera się na badaniach dotyczących rodzinnej pierwotnej hemofagocytarnej limfohistiocytozy (*familial haemophagocytic lymphohistiocytosis* – FHLH) i wrodzonych zespołów niedoboru odporności przebiegających z upośledzoną funkcją makrofagów, takich jak zespół Chediaka-Higashiego [7, 8]. Według tej teorii u podstaw RZHF leżałaby dysfunkcja układu perforyny, białka biorącego udział w procesach cytolizy komórkowej oraz

sion of the perforin on the one hand leads to dysfunction of NK cells and impaired elimination of intracellular pathogens, and on the other hand, it contributes to chronic activation of T lymphocytes and hyperproduction of inflammatory cytokines – interferon γ (INF- γ), macrophage colony stimulating factor (M-CSF), granulocyte colony stimulating factor (G-CSF). These biologically active compounds cause extensive activation and proliferation of the monocyte/macrophage system with intensification of tissue infiltration, overproduction of interleukin 1 (IL-1) and interleukin 6 (IL-6), and especially tumour necrosis factor α (TNF- α) [9, 10]. Another potential cause of reticuloendothelial system activation includes direct action of autoantibodies (antinuclear, anticardiolipin, rheumatoid factor) and immunological complexes resulting in tissue damage. Secondary haemophagocytic syndromes share typical laboratory and histopathological abnormalities [11–13]. Reactive haemophagocytic syndromes/macrophage activation syndrome usually has sudden onset. In children with infection or with the systemic connective tissue disorder, high unremitting fever, generalized or local lymphadenopathy occur. Among skin lesions, generalized erythema or purpura with a tendency of easy bruising dominate. Generalized hypodermal oedema is one of the most characteristic clinical manifestations. Multisystem organ failure mainly relates to hepatic dysfunction with hepatosplenomegaly, ascites or jaundice. Symptoms which reflect the central nervous system involvement, such as headache, confusion, irritation, epilepsy, and brain coma are frequently observed. Rare clinical manifestations are: renal failure, respiratory and circulatory failure related to hypertrophic cardiomyopathy, supraventricular arrhythmias, pericarditis, and intraparenchymal lesions of the lung tissue and exudative pleuritis. Occasionally observed arthritis relates only to children with secondary haemophagocytic syndromes within the course of infection, or neoplasms, in contrast to macrophage activation syndrome accompanying SJA, where the inflammatory lesions recede. Severe cytopenias of three cell lines are frequently observed. Abnormalities in coagulation profile with a prolonged prothrombin time and partial thromboplastin time, lowered level of II, VII + X coagulation factors, presence of fibrinogen degradation products together with thrombocytopenia may cause mucosal bleeding in the gastrointestinal tract. Often presented severe hypofibrinogenemia is responsible for lowering of erythrocyte sedimentation rate (ESR). Other laboratory abnormalities characteristic of RHPS include an elevated level of serum glutamic oxaloacetic transaminase (SGOT), serum glutamic pyruvic transaminase (SGPT), lactate dehydrogenase (LDH), hyperbilirubinemia, and lowered serum sodium level.

odpowiedzialnego za kontrolę aktywności limfocytów T i komórek naturalnie toksycznych NK. Obniżona ekspresja perforyny z jednej strony prowadziłaby do dysfunkcji komórek NK i upośledzenia eliminacji wewnątrzkomórkowych patogenów, natomiast z drugiej strony przyczyniałaby się do przewlekłej aktywacji limfocytów T i nadprodukcji cytokin zapalnych – interferonu γ (INF- γ), czynników aktywacji kolonii makrofagów i granulocytów (*macrophage colony-stimulating factor* – M-CSF, *granulocyte colony-stimulating factor* – G-CSF). Te aktywne biologiczne związki powodują nadmierną aktywację i proliferację układu monocytów/makrofagów z nasileniem infiltracji tkankowej, nadprodukcją interleukiny 1 i 6 (IL-1, IL-6), a zwłaszcza czynnika martwicy nowotworów α (TNF- α) [9, 10]. Inną potencjalną przyczyną aktywacji układu siateczkowo-śródbłonkowego to bezpośrednie działanie autoprzeciwciał (przeciwjądrowe, antykardiolipidowe, czynnik reumatoidalny) i kompleksów immunologicznych prowadzących do uszkodzenia tkanek. Wtórne zespoły hemofagocytarne charakteryzuje niemal identyczny przebieg kliniczny z typowymi nieprawidłowymi wynikami badań laboratoryjnych i histopatologicznych [11–13]. Reaktywny/wtórny zespół hemofagocyтары u dzieci (ZAM) zwykle ma nagły początek. U dzieci z infekcją bądź układową chorobą tkanki łącznej pojawia się wysoka nieremituująca gorączka, uogólniona lub miejscowa limfadenopatia. Wśród zmian skórnych dominuje uogólniony rumień lub plamica z tendencją do łatwego siniaczenia się. Bardzo charakterystyczny jest obrzęk tkanki podskórnej w obrębie całego ciała. Niewydolność wielonarządowa dotyczy głównie dysfunkcji wątroby z hepatosplenomegalią i rzadziej stwierdzanym wodobrzuszem czy żółtaczką. W zespołach nadmiernej hemofagocytozy bardzo często występują objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego, przede wszystkim bóle głowy, zaburzenia orientacji, podrażnienie, padaczka, śpiączka mózgowa. Rzadsze objawy kliniczne to: niewydolność nerek, niewydolność krążeniowo-oddechowa związana z kardiomiopatią przerostową, nadkomorowymi zaburzeniami rytmu, zapaleniem osierdza, a w obrębie płuc zmianami śródmiąższowymi i zapaleniem wysiękowym ołtucnej. Sporadycznie obserwowane zapalenie stawów dotyczy jedynie dzieci z wtórnymi zespołami hemofagocyтарыmi w przebiegu infekcji bądź nowotworów, w przeciwieństwie do ZAM towarzyszącego MIZS, w którym to zmiany zapalne w obrębie stawów ustępują.

W obrazie chorobowym dominują ciężkie cytopenie, nierzadko dotyczące trzech linii komórkowych. Stwierdza się nieprawidłowości w koagulogramie – wydłużenie czasu protrombinowego i częściowej tromboplastyny, obniżenie poziomu czynników krzepnięcia II, VII i X, obecność produktów degradacji fibrynogenu, małopłytk-

Hypertriglyceridemia is related to a lowered activity of lipoprotein lipase. The elevated serum level of ferritin, frequently exceeding 10 000 ng/ml is highly specific. Monitoring ferritin concentration not only makes the diagnosis easier, but also may be very helpful in evaluation of treatment efficacy, similarly to determination of β_2 -microglobulin level in urine. Presence of well-differentiated macrophages in the bone marrow biopsy, which are actively phagocytosing hematopoietic cells of the bone marrow, is a pathognomonic symptom of the RHPS. Active hemophagocytosis may be also found in biopsy material of the lymph node or the liver [14, 15]. Reactive haemophagocytic syndrome always reveals very acute course with dominating symptoms of multi-system organ failure and usually leads to death if not treated. The mortality rate ranges from 20 to 60%. In 12–16% cases, recurrence of the disease is observed. In patients with systemic connective tissue disorder, MAS is sometimes the first clinical manifestation.

Although no uniform standards in treatment of MAS have been developed so far, commonly used drugs include glucocorticosteroids (GCS), etoposide, cyclosporine A (CsA), immunoglobulin preparations (IVIG), TNF- γ and IL-6 inhibitors, interferon γ , more rarely cyclophosphamide or plasmapheresis [16–18].

Aim of the study was to characterize pathogenic factors and describe clinical picture, laboratory features and results of treatment in 8 children with RHPS/MAS.

Material and methods

Eight children (5 girls and 3 boys) aged 3 to 16 years (mean age was 10 years and 3 months) were studied. Potential etiological factors, clinical symptoms, laboratory results and treatment applied were analyzed. Among immunological features the presence of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (p-ANCA) and anti-nuclear antibodies (ANA) were estimated. Analysis of the laboratory features consisted of the following measurements: ESR, complete blood count (CBC), aminotransferases (SGOT, SGPT), LDH, ferritin and D-dimers, triglycerides, fibrinogen, kidney function tests, urine analysis, bone marrow analysis (for direct confirmation of RHPS/MAS).

Results

The characteristics of studied patients is presented in Table I, and clinical symptoms in Table II. Clinical symptoms in all patients were similar and the following were observed: fever, skin lesions (as disseminated lupus and macular lesions), hepatomegaly, generalized or local lymphadenopathy and arthritis. Significantly intense hemorrhagic diathesis, serositis or generalized

kowość, co może być przyczyną krwawień z błon śluzowych przewodu pokarmowego. Powszechnie stwierdzana głęboka hipofibrynogenemia jest odpowiedzialna za obniżenie prędkości opadania krwinek czerwonych (OB). Inne charakterystyczne dla RZHF zaburzenia to: zwiększone stężenie aminotransferazy asparaginianowej (AspAT), alaninowej (AlAT) i dehydrogenazy mleczanowej (*lactate dehydrogenase* – LDH), hiperbilirubinemia, zmniejszenie stężenia sodu w surowicy. Wysoce swoista jest hipertriglicerydemia związana z obniżoną aktywnością lipazy lipoproteinowej. Bardzo charakterystyczne jest także zwiększone stężenie ferrytyny w surowicy, często powyżej 10 000 ng/ml. Monitorowanie stężenia ferrytyny nie tylko ułatwia diagnostykę, ale może być bardzo przydatne w ocenie skuteczności leczenia, tak jak i oznaczanie stężenia β_2 -mikroglobuliny w moczu. Patognomonicznym objawem RZHF jest wykazanie za pomocą biopsji szpiku obecności dobrze zróżnicowanych makrofagów aktywnie fagocytujących komórki hematopoetyczne szpiku. Aktywną hemofagocytozę można również stwierdzić w materiale biopsyjnym węzła chłonnego czy wątroby [14, 15]. Reaktywny/wtórny zespół hemofagocytarny zawsze ma przebieg bardzo ostry z dominującymi objawami niewydolności wielonarządowej, nieleczonej zwykle prowadzi do zgonu chorego. Śmiertelność wynosi od 20% do 60%, w 12–16% przypadków obserwuje się nawroty choroby. U pacjentów z układowymi chorobami tkanki łącznej ZAM bywa niekiedy pierwszym objawem choroby.

Mimo że nie opracowano jeszcze jednolitego protokołu leczenia ZAM, obecnie stosowane są kortykosteroidy, etopozyd, cyklosporyna A, preparaty immunoglobulin (IVIG), inhibitory TNF- α i IL-6, interferon γ , rzadziej cyklofosfamid czy zabiegi plazmaferezy [16–18].

Celem pracy była ogólna charakterystyka czynników patogenetycznych, obrazu klinicznego i laboratoryjnego oraz wyników leczenia 8 dzieci z RZHF/ZAM.

Materiał i metody

Badaniem objęto 8 dzieci (5 dziewczynek i 3 chłopców), w wieku od 3 do 16 lat (średni wiek 10 lat i 3 miesiące). Analizie poddano potencjalne czynniki etiologiczne, objawy kliniczne, wyniki badań laboratoryjnych oraz metody leczenia. Oszacowano obecność przeciwciał przeciw cytoplazmie neutrofilów (p-ANCA) i przeciwciał przeciwjądrowych (ANA) w obrazie immunologicznym. U chorych wykonano następujące badania laboratoryjne: OB, morfologia krwi, określenie stężenia: aminotransferaz (AlAT, AspAT), LDH, ferrytyny i D-dimerów, triglicerydów i fibrynogenu; oceniono funkcję nerek, przeprowadzono badanie moczu oraz szpiku kostnego (w celu bezpośredniego potwierdzenia występowania RZHF/ZAM).

Table I. General characteristics of patients

Patient No.	MAS episode	Gender	Age (years) at the onset of disease	Infectious factors	Present condition
1	1	F	10	EBV	healthy child
2	1	M	10	<i>Toxocara canis</i>	sJIA
3	1	F	16	CMV	SLE
4	1	F	9	CMV, PV B19	PAN
5	1	F	10	<i>Toxocara canis</i> , CMV	undifferentiated connective tissue disease
6	1	F	16	(-)	sJIA
7	1	M	14	(-)	sJIA
8	1	M	7	(-)	sJIA

F – female; M – male; EBV – Epstein-Barr virus; CMV – Cytomegalovirus; sJIA – systemic-onset juvenile idiopathic arthritis; SLE – systemic lupus erythematosus; PAN – polyarteritis nodosa

Tabela I. Ogólna charakterystyka chorych

Nr pacjenta	Epizod ZAM	Płeć	Wiek (lata) w momencie wystąpienia choroby	Czynniki infekcyjne	Stan obecny
1.	1	K	10	EBV	zdrowe dziecko
2.	1	M	10	<i>Toxocara canis</i>	UMIZS
3.	1	K	16	CMV	TRU
4.	1	K	9	CMV, PV B19	GZT
5.	1	K	10	<i>Toxocara canis</i> , CMV	niezróżnicowana choroba tkanki łącznej
6.	1	K	16	(-)	UMIZS
7.	1	M	14	(-)	UMIZS
8.	1	M	7	(-)	UMIZS

K – kobieta; M – mężczyzna; EBV – wirus Epsteina-Barr (EBV); CMV – cytomegalowirus; UMIZS – postać układowa młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów; TRU – toczeń rumieniowaty układowy; GZT – guzkowe zapalenie tętnic

hypodermal oedema were also observed. Main neurological symptoms – if present – were: convulsions and brain coma, isolated peripheral polyneuropathy, apathy and optic disc oedema. Symptoms from the cardio-vascular system included: circulatory failure, severe arrhythmias or hypertrophic cardiomyopathy.

In all patients, the first line treatment at the moment of diagnosing MAS was methylprednisolone 20–30 mg/kg of body weight in 3–5 pulses followed by GCS administered intravenously (prednisone 2–4 mg/kg of body weight daily). Cyclosporine A in the dose of 4–6 mg/kg of body weight (to maintain serum level of 200–400 ng/ml) was started if GCS was not successful. Antibiotic therapy

Wyniki

Ogólną charakterystykę badanych pacjentów przedstawiono w tabeli I, a objawy kliniczne w tabeli II. Objawy kliniczne u wszystkich pacjentów były podobne. Stwierdzono: gorączkę, zmiany skórne w postaci tocznia rumieniowatego i zmian plamiczych, hepatomegalię i uogólnioną bądź miejscową limfadenopatię oraz zapalenie stawów. Wystąpiły również: skaza krwotoczna, zapalenie błon surowiczych i obrzęk uogólniony tkanki podskórnej. Głównymi objawami neurologicznymi były: drgawki i śpiączka mózgową, polineuropatia obwodowa, apatia i obrzęk tarczy nerwu wzrokowego, a kardiolo-

Table II. Clinical manifestations in 8 macrophage activation syndrome (MAS) patients

Patient No.	Fever	Rash	Neurological symptoms	Serositis	Hepato/splenomegaly	Hemorrhagic diathesis	Cardiovascular system	Joints
1	+	+	convulsions, coma	pericarditis	+/+	+	–	–
2	+	+	–	–	+/-	–	–	+
3	+	+	–	pericarditis/pleuritis	+/+	+	circulatory failure	–
4	+	+	polyneuropathy, coma	pericarditis/pleuritis	+/+	–	circulatory failure heart rhythm disorder	–
5	+	+	optic disc oedema	pericarditis/pleuritis	+/+	–	hypertrophic cardiomyopathy	+
6	+	+	–	pericarditis	+/-	–	circulatory failure	–
7	+	+	apathy	pericarditis	+/+	–	–	remission
8	+	+	–	–	+/-	–	–	remission

Tabela II. Objawy kliniczne u 8 chorych z zespołem aktywacji makrofaga (ZAM)

Nr pacjenta	Gorączka	Wysypka	Objawy neurologiczne	Serositis	Hepatosplenomegalia	Skaza krwotoczna	Układ krążenia	Stawy
1.	+	+	drgawki, śpiączka	osierdzie	+/+	+	–	–
2.	+	+	–	–	+/-	–	–	+
3.	+	+	–	osierdzie/optucna	+/+	+	niewydolność krążenia	–
4.	+	+	polineuropatia, śpiączka	osierdzie/optucna	+/+	–	niewydolność krążenia, zaburzenia rytmu serca	–
5.	+	+	obrzęk tarczy nerwu wzrokowego	osierdzie/optucna	+/+	–	kardiomiopatia przerostowa	+
6.	+	+	–	osierdzie	+/-	–	niewydolność krążenia	–
7.	+	+	apatia	osierdzie	+/+	–	–	remisja
8.	+	+	–	–	+/-	–	–	remisja

(despite negative bacteriological examination) together with antiviral and antiparasitic treatment were started when required. The number of methylprednisolone pulses was related to the clinical response. In half of the patients, intravenous immunoglobulins (IVIG) of 2 g/kg body weight were additionally used. Six children received CsA in the initial daily dose of 6 mg/kg of body weight (with adjusting

gicznymi – niewydolność krążenia, ciężkie zaburzenia rytmu serca oraz rozwój kardiomiopatii przerostowej.

Z chwilą rozpoznania zespołu aktywacji makrofaga do leczenia wprowadzono 3–5 pulsów metylprednizolonu w dawce 20–30 mg/kg m.c., a następnie glikokortykosteroidy podawane dożylnie (prednizon w dawce 2–4 mg/kg m.c. na dobę). W przypadku gdy leczenie gliko-

Table III. Laboratory data of patients

Patient No.	WBC (× 10 ⁹ /l)	PLT (× 10 ⁹ /l)	Fibrinogen (mg/dl)	SGOT/SGPT (U/l)	LDH (U/l)	Ferritin (ng/ml)	Triglycerides (mg/dl)	ANA/ANCA	Bone marrow hemophagocytosis
1	0.77	15	125	273/318	4350	16 900	454	-/-	+
2	2.15	92	129	170/240	2700	13 300	247	-/-	not evaluated
3	2.35	5	213	317/54	1321	8 954	217	+/-	+
4	1.05	8	191	160/180	2012	2 457	245	-/+	+
5	6.82	114	445	44/96	2293	6 231	311	-/+	+
6	3.89	166	120	116/346	1146	282 000	473	-/+	+
7	12.4	146	412	537/126	5566	16 780	150	-/-	+
8	2.63	312	152	280/196	2860	4 421	140	-/-	+

WBC – white blood cells; PLT – platelets; SGOT – serum glutamic-oxaloacetic transaminase; SGPT – serum glutamic pyruvic transaminase; LDH – lactate dehydrogenase; ANCA – anti-neutrophil cytoplasmic antibodies antibodies; ANA – antinuclear antibodies

Tabela III. Wyniki badań laboratoryjnych u badanych chorych

Nr pacjenta	WBC (× 10 ⁹ /l)	PLT (× 10 ⁹ /l)	Fibrynogen (mg/dl)	AspAT/AlAT (j./l)	LDH (j./l)	Ferrytyna (ng/ml)	Triglicerydy (mg/dl)	ANA/ANCA	Szpic hemofagocytarny
1.	0,77	15	125	273/318	4350	16 900	454	-/-	+
2.	2,15	92	129	170/240	2700	13 300	247	-/-	nb.
3.	2,35	5	213	317/54	1321	8 954	217	+/-	+
4.	1,05	8	191	160/180	2012	2 457	245	-/+	+
5.	6,82	114	445	44/96	2293	6 231	311	-/+	+
6.	3,89	166	120	116/346	1146	282 000	473	-/+	+
7.	12,4	146	412	537/126	5566	16 780	150	-/-	+
8.	2,63	312	152	280/196	2860	4 421	140	-/-	+

WBC – liczba białych krwinek; PLT – liczba płytek krwi; AspAT – aminotransferaza asparaginianowa; AlAT – aminotransferaza alaninowa; LDH – dehydrogenaza mleczanowa; ANCA – przeciwciała przeciw cytoplazmie neutrofilów; ANA – przeciwciała przeciwjądrowe

the dose to the therapeutical serum levels). In the remaining two children, steroid therapy was combined with plasmapheresis or vincristine. None of the patients received drugs potentially responsible for induction of RHPS/MAS. Recurrence of RHPS was not observed.

In this series of patients, extensive skin lupus lesions dominated, and in 4 patients, they were accompanied by the generalized hypodermal oedema. Retrospective analysis revealed that mean duration of SJIA until the development of MAS was 4.2 years. The results of the laboratory tests are presented in Table III.

kortykosteroidami było nieskuteczne, stosowano cyklosporynę A (CsA) w dawce 4–6 mg/kg m.c. (utrzymując stężenie w surowicy na poziomie 200–400 ng/ml). W niektórych przypadkach rozpoczęto antybiotykoterapię (mimo negatywnych wyników badań bakteriologicznych), łącznie z podawaniem leków przeciwwirusowych i przeciw pasożytniczych. Liczba pulsów metylprednizolonu była uzależniona od reakcji klinicznej. U połowy pacjentów zastosowano dodatkowo leczenie preparatami immunoglobulin (IVIg) w dawce 2 g/kg m.c. Sześcioro chorych

Table IV. Treatment applied in 8 MAS patients

Patient No.	Treatment
1	5 × methylprednisolone pulse + IVIG → no improvement → CsA: improvement
2	3 × methylprednisolone pulse + albendazole → no improvement → CsA: improvement
3	5 × methylprednisolone pulse + IVIG → no improvement, vincristine: improvement
4	4 × methylprednisolone pulse + endoxan → partial improvement → plasmapheresis: improvement
5	3 × methylprednisolone pulse + ganciclovir + albendazole → no improvement CsA: improvement
6	3 × methylprednisolone pulse + IVIG → no improvement → CsA: improvement
7	3 × methylprednisolone pulse → no improvement → CsA: improvement
8	3 × methylprednisolone pulse → no improvement → CsA: improvement

IVIG – intravenous immunoglobulin; CsA – cyclosporine A

Tabela IV. Leczenie stosowane u 8 chorych z ZAM

Nr pacjenta	Leczenie
1.	5 × puls metylprednizolonu + IVIG → brak poprawy → CsA: poprawa
2.	3 × puls metylprednizolonu + albendazol → brak poprawy → CsA: poprawa
3.	5 × puls metylprednizolonu + IVIG → brak poprawy, winkrystyna: poprawa
4.	4 × puls metylprednizolonu + endoksan → częściowa poprawa → plazmafereza: poprawa
5.	3 × puls metylprednizolonu + gancyklowir + albendazol → brak poprawy → CsA: poprawa
6.	3 × puls metylprednizolonu + IVIG → brak poprawy → CsA: poprawa
7.	3 × puls metylprednizolonu → brak poprawy → CsA: poprawa
8.	3 × puls metylprednizolonu → brak poprawy → CsA: poprawa

IVIG – preparaty immunoglobulin; CsA – cyklosporyna A

There were no deaths in the studied group of patients and different treatment regimes were applied (Table IV).

Discussion

Reactive haemophagocytic syndrome/MAS is a severe complication of rheumatic and infectious diseases and it is related with the extensive activation and proliferation of T lymphocytes and macrophages. Although detailed etiopathogenesis of this syndrome is still unknown, it is, without doubt, linked with impaired control of the immunological response. Secondary haemophagocytic syndrome may be caused by many infectious factors, with particular focus on viruses, use of some drugs (aspirin or nonsteroidal anti-inflammatory drugs), or it may happen in the course of the systemic connec-

otrzymało CsA w dobowej dawce 6 mg/kg m.c. (dostosowując dawkę do poziomu stężeń terapeutycznych). U pozostałej dwójki dzieci terapię steroidami prowadzono łącznie z zabiegami plazmaferezy i podawaniem winkrystyny. Żadnemu dziecku nie podano leków potencjalnie odpowiedzialnych za indukcję RZHF/ZAM. Nie zaobserwowano nawrotu RZHF.

W tej grupie pacjentów dominowały rozległe toczniowe zmiany skórne, a w przypadku 4 chorych towarzyszył im uogólniony obrzęk tkanki podskórnej. Badania retrospektywne wykazały, że średni czas trwania UMIZS do rozwinięcia się ZAM wynosił 4,2 roku. Wyniki badań laboratoryjnych przedstawiono w tabeli III.

W badanej grupie pacjentów nie odnotowano żadnego zgonu. Zastosowano także różne metody leczenia (tab. IV).

Table V. Diagnostic criteria for haemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH)

Diagnostic criteria
1. Fever
2. Splenomegaly
3. Blood cytopenia affecting at least 2 lineages
4. Hypertriglyceridemia ≥ 2.0 mmol/l or ≥ 3 SD and/or hypofibrinogenemia ≤ 1.5 g/l or ≤ 3 SD
5. Hemophagocytosis at the bone marrow aspirate
6. Absent or low natural killer cell activity
7. Hyperferritinemia ≥ 500 mg/dl
8. Elevated serum levels of sCD25 (IL-2R) ≥ 2400 U/ml

SD – standard deviation; (sCD25) – soluble interleukin-2 receptor (IL-2R)

Tabela V. Kryteria diagnostyczne limfohistiocytozy hemofagocytarnej (HLH)

Kryteria diagnostyczne
1. Gorączka
2. Splenomegalia
3. Cytopenia (krwi) wpływająca na co najmniej 2 linie komórkowe
4. Hipertriglicerydemia ≥ 2 mmol/l lub ≥ 3 SD i/lub hipofibrinogenemia $\leq 1,5$ g/l lub ≤ 3 SD
5. Hemofagocytoza w szpiku kostnym
6. Brak lub słaba funkcja komórek NK
7. Hiperferrytynemia ≥ 500 mg/dl
8. Podwyższony poziom sCD25 (IL-2R) ≥ 2400 j./ml

SD – odchylenie standardowe, (sCD25) – rozpuszczalny receptor dla interleukiny 2 (IL-2R)

tive tissue disorders [19–21]. In the case of our patients, none of them received drugs potentially responsible for induction of RHPS/MAS. The main cause of MAS was SJA. Often, the elevated level of acute phase-proteins is observed. In the studied group, in the majority of children, the rhetorical question remains whether the extensive phagocytosis syndrome was directly caused by the undetermined infectious factor or whether it was the first clinical manifestation of the systemic connective tissue disorder. The most prominent symptoms in the patients were: fever, multifocal skin lesion, liver enlargement and local or generalized lymphadenopathy. Nonremitting fever in MAS is connected with direct influence of interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6) and interferon γ (IFN- γ) on the hypothalamus. Skin lesions typical of the extensive phagocytosis syndrome mainly include papular and nodular lesions accompanied by the generalized hypodermal oedema.

The most frequent cardiac abnormalities – observed in the patients – included: heart failure, pericarditis, severe supraventricular arrhythmia and hypertrophic cardiomyopathy.

Involvement of the central nervous system resulted in confusion, convulsions or coma, but the scope of symptoms might be wide with the cranial nerve involvement and may lead to poor prognosis [22]. In the studied group, the central nervous system related coma and disseminated polyneuropathy in 4 patients were observed (Table II).

Kidney dysfunction in patients with RHPS is caused by the direct influence of macrophages and pro-inflam-

Dyskusja

Reaktywny zespół hemofagocyтары/zespół aktywacji makrofaga jest ciężkim powikłaniem chorób reumatycznych i infekcyjnych. Jest on związany z nadmierną aktywacją oraz proliferacją limfocytów T i makrofagów. Nadal nie jest znana dokładna etiopatogeneza tego zespołu, jednak niewątpliwie jest on związany z zaburzoną kontrolą odpowiedzi immunologicznej. Wtórny zespół hemofagocyтары może być spowodowany licznymi czynnikami infekcyjnymi, w tym zwłaszcza wirusami, stosowaniem niektórych leków (preparatów kwasu acetylosalicylowego lub niesteroidowych leków przeciwzapalnych), może też wystąpić w przebiegu układowych chorób tkanki łącznej [19–21]. W przypadku naszych pacjentów żadne dziecko nie otrzymywało leków potencjalnie odpowiedzialnych za indukcję RZHF/ZAM. Zespół aktywacji makrofaga najczęściej towarzyszył postaci układowej młodzieńczego idiopatycznego zapalenia stawów. Zaobserwowano częste występowanie białek ostrej fazy. Nierozstrzygnięte pozostaje retoryczne pytanie: czy zespół nadmiernej hemofagocytozy był spowodowany bezpośrednio nieustaloną infekcją wirusową, czy też był pierwszym przejawem klinicznym UMZS?

Do najczęściej występujących objawów należą: gorączka, wielopostaciowe zmiany skórne, powiększenie wątroby i miejscowa bądź uogólniona limfadenopatia. Gorączka w ZAM ma charakter nieremitujący i jest związana z bezpośrednim oddziaływaniem IL-1, IL-6 oraz IFN- γ na podwzgórze. Zmiany skórne typowe dla zespołu nadmiernej fagocytozy to przede wszystkim zmiany

matory cytokines on the renal glomeruli [23]. Transient symptoms of the renal failure and features of kidney injury with hematuria and/or proteinuria were also observed in studied patients.

Very characteristic features of MAS in the course of sJIA are receding inflammatory changes in the joints which were present in observed patients. They occurred also at the stage of clinical improvement (in patients who demonstrated RHPS as the first manifestation of the juvenile arthritis). Occasionally, pleuritis was observed in studied patients.

Diagnosis of MAS is difficult, especially at the early stage. Diagnostic criteria for haemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) were established in 1991 by members of the Histiocyte Society and modified in 2004 [24]. At least 5 out of 8 criteria should be fulfilled to make definite diagnosis (Table V) but in the case of MAS complicating rheumatic diseases they should be applied continuously. To note, bone-marrow aspirate or biopsy may not always confirm hemophagocytosis.

Furthermore, some clinical symptoms such as fever, rash, hepatosplemmomegaly are characteristic both of MAS and sJIA. Leucopenia and thrombocytopenia may result from cytostatic therapy. On the other hand, high leukocytosis and thrombocytosis which are characteristic of sJIA may not be necessarily related to MAS. Raveli *et al.* performed retrospective analysis of 88 patients and presented diagnostic criteria of MAS [11] consisting of laboratory results (low platelet count level, elevated SGOT level, low erythrocyte count, hypofibrinogenemia) and clinical symptoms (central nervous system dysfunction, haemorrhages, hepatomegaly). The studied patients were diagnosed on the basis of the Histiocyte Society criteria.

The treatment of MAS is based on the use of the immunosuppressive drugs and/or cytostatics, immunoglobulin preparations, anticytokine drugs and more rarely on plasmapheresis [25, 26]. Except for GCS, CsA is often regarded as a drug of choice in the treatment of MAS in children [27, 28]. There are other drugs, which are of use in MAS/RHPS: IVIG, etoposide (especially effective in the case of the RHPS with EBV infection), cyclophosphamide and interferon γ . Recent reports about high efficacy of the treatment with anti-TNF- γ , anti IL-6 preparations [29, 30] are promising. In the case of RHPS, resistant to the pharmacological therapies, plasmapheresis is used as well as allogeneic transplant of the bone marrow stem cells. In the studied group of children, pulses of methylprednisolone were started at the moment of suspicion/diagnosis of the extensive phagocytosis syndrome. Unfortunately, that treatment did not result in satisfactory clinical improvement. In half or the patients IVIG also failed. In 6 (out of eight) cases, cyclo-

grudkowe i guzkowe, którym towarzyszył uogólniony obrzęk tkanki podskórnej.

Najczęściej obserwowane zaburzenia w układzie krążenia to: niewydolność serca i zapalenie osierdzia, ciężkie nadkomorowe zaburzenia rytmu serca i kardiomiopatia przerostowa.

Wśród zmian w ośrodkowym układzie nerwowym odnotowano zaburzenia orientacji, drgawki i śpiączkę mózgową, ale zakres tych objawów może być większy i dotyczyć nerwów czaszkowych, może również stanowić ważny czynnik złej prognozy [22]. U 4 pacjentów z badanej grupy zaobserwowano śpiączkę mózgową i polineuropatię rozsianą (tab. II).

Dysfunkcja nerek w przypadkach RZHF spowodowana jest bezpośrednim działaniem makrofagów i cytokin prozapalnych w obrębie kłębuszków nerkowych [23]. U badanych pacjentów zaobserwowano przemijające objawy niewydolności nerek, obecność krwinko- i/lub białkomoczu. Charakterystyczną cechą ZAM w przebiegu UMIZS są ustępujące zmiany zapalne w stawach, które odnotowano również u obserwowanych pacjentów. Pojawiły się one także w okresie poprawy klinicznej (u tych chorych, u których objawy RZHF były pierwszym przejawem MIZS). Obserwowano również zapalenie oplotkowej.

Rozpoznanie zespołu aktywacji makrofaga jest niezwykle trudne, szczególnie we wczesnym etapie. Kryteria diagnostyczne dla limfohistiocytozy hemofagocytarnej (HLH) zostały ustanowione w 1991 r. przez ekspertów *Histiocyte Society* i zmodyfikowane w 2004 r. [24]. Aby postawić ostateczną diagnozę, muszą być spełnione co najmniej 5 z 8 kryteriów (tab. V), jednak w przypadku ZAM, który stanowi powikłanie choroby reumatycznej powinno się z nich stale korzystać. Warto zauważyć, że za pomocą aspiracji i biopsji szpiku kostnego nie zawsze można potwierdzić hemofagocytozę.

Niektóre objawy kliniczne, takie jak gorączka, wysypka, hepatosplenomegalia, są charakterystyczne zarówno dla ZAM, jak i dla UMIZS. Leukopenia i trombocytopenia mogą być wynikiem terapii lekami cytostatycznymi, chociaż poważna leukocytoza i trombocytoza, które są charakterystyczne dla UMIZS, nie muszą być koniecznie związane z ZAM. Raveli i wsp. przeprowadzili badania retrospektywne w grupie 88 chorych i przedstawili kryteria diagnostyczne dla ZAM [11]. Do tych kryteriów zaliczyli: małopłytkowość, zwiększone stężenie aminotransferazy asparaginianowej (AspAT), małą liczbę erytrocytów, hipofibrinogemię oraz takie objawy kliniczne, jak zaburzenia czynności ośrodkowego układu nerwowego, krwotoki i hepatomegalia. Badani pacjenci zostali zdiagnozowani na podstawie kryteriów opracowanych przez *Histiocyte Society*.

W leczeniu ZAM głównie stosuje się leki immunosupresyjne i/lub cytostatyczne, preparaty immunoglobulu-

sporine brought fast and spectacular improvement. In the remaining 2 children, the highly effective form of therapy was plasmapheresis and vincristine.

Conclusions

Reactive haemophagocytic syndrome, including its special form, MAS is a severe and life-threatening complication of many infectious, autoimmune and proliferative diseases. Lack of histopathological confirmation of the excessive phagocytosis should not be a reason for the delay or even omission of the suitable therapy and CsA seems to be highly effective.

lin, leki antycytokinowe i rzadziej plazmaferezy [25, 26]. Poza glikokortykosteroidami najlepszą skuteczność w leczeniu ZAM u dzieci ma CsA [27, 28]. W leczeniu ZAM/RZHF stosowane są również inne leki: preparaty immunoglobulin, etopozyd (szczególnie skuteczny w przypadku RZHF z infekcją wirusem Epsteina-Barr, cyklofosfamid i INF- γ). Obiecujące wyniki przynoszą najnowsze raporty z leczenia preparatami anty-TNF- α , anty-IL-6 [29, 30]. W przypadku RZHF niepoddającego się terapii farmakologicznej stosuje się plazmaferezę, a także przeszczepienie komórek macierzystych szpiku kostnego. W badanej grupie dzieci rozpoczęto podawanie pulsów metylprednizolonu w momencie podejrzenia lub diagnozy zespołu nasilonej fagocytozy. Niestety, leczenie nie przyniosło zadowalającej poprawy klinicznej. U połowy pacjentów nieskuteczne było również leczenie preparatami immunoglobulin (IVIG). W 6 przypadkach (na 8) zastosowanie CsA przyniosło szybką i spektakularną poprawę. U 2 pozostałych dzieci bardzo skuteczną formą terapii były zabiegi plazmaferezy i podawanie winkrystyny.

Podsumowanie

Reaktywny/wtórny zespół hemofagocytarny, w tym jego szczególna postać – zespół aktywacji makrofaga, jest ciężkim i zagrażającym życiu powikłaniem wielu chorób infekcyjnych, autoimmunologicznych i rozrostowych. Brak potwierdzenia histopatologicznego nadmiernej hemofagocytozy w żadnym przypadku nie powinien być powodem opóźnienia czy wręcz zaniechania podjęcia odpowiedniej terapii, a stosowanie CsA wydaje się szczególnie efektywne.

References

Piśmiennictwo

1. Hadchouel M, Prieur AM, Grescelli C. Acute hemorrhagic, hepatic and neurologic manifestations in juvenile rheumatoid arthritis: possible relationship to drugs or infection. *J Pediatr* 1985; 106: 561-566.
2. Reiner AP, Spiwak IL. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. Report of 25 new patients and review of literature. *Medicine* 1988; 67: 369-388.
3. Gietka P. Macrophage activation syndrome – szczególna postać wtórnego zespołu hemofagocytarnego u dzieci z układowymi zapalnymi chorobami tkanki łącznej. [Macrophage activation syndrome – special form of the secondary haemophagocytic syndrome in children with systemic inflammatory diseases of connective tissues.] *Lekarz* 2005; 9: 103-109 (pol.).
4. Hoang MP, Dawson DB, Rogers ZR, et al. Polymerase chain reaction amplification of archival amerial for Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, human herpesvirus 6, and parvovirus B 19 in children with bone marrow hemophagocytosis. *Hum Pathol* 1998; 29: 1074-1077.
5. Chen HH, Kuo HCH, Wang L, et al. Childhood macrophage activation syndrome differs from infection-associated hemophagocytosis syndrome in etiology and outcome in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect* 2007; 40: 265-271.
6. Grom AA. Macrophage activation syndrome and reactive hemophagocytic lymphohistiocytosis: the same entities? *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 587-590.
7. Barbosa MD, Nguyen QA, Tchernev VT, et al. Identification of the homologous and Chediak-Hogashi syndrome genes. *Nature* 1996;382: 262-265.
8. Aricò M, Janeka G, Fisher A, et al. For the FHL Study Group of the Histiocyte Society: hemophagocytic lymphohistiocytosis. Report of 122 children from the International Registry. *Leukemia* 1996; 130: 352-357.
9. Writing Group of the Histiocyte Society. Histiocytosis syndromes in children. *Lancet* 1987;1: 2088-2089.
10. Ravelli A. Macrophage activation syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 548-552.

11. Larroche C, Mouthon L. Pathogenesis of hemophagocytic syndrome (HPS). *Int J Hematol* 2004; 79: 484-487.
12. Grom AA, Villanueva J, Lee S, et al. Natural killer cell dysfunction in patients with systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis and macrophage syndrome. *J Pediatr* 2003; 42: 282-286.
13. Ravelli A. Macrophage activation syndrome. *Curr Opin Rheumatol* 2002; 14: 548-552.
14. Avćin T, Shirley ML, Tse L, et al. Macrophage activation syndrome as the presenting manifestation of rheumatic diseases in childhood. *J Pediatr* 2006; 148: 683-686.
15. Ravelli A, Magni-Manzoni S, Pistorio A, et al. Preliminary diagnostic guidelines for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Pediatr* 2005; 146: 598-604.
16. Pradelier A, Teillet F, Molitor JC. Macrophage activation syndrome, hemophagocytic syndrome. *Pathol Biol (Paris)* 2004; 52: 407-414.
17. Stéphan JL, Koné-Paut I, Galambrum C, et al. Reactive haemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. A retrospective study of 24 patients. *Rheumatology* 2001; 40: 1285-1292.
18. Stabile A, Bertoni B, Ansuini V, et al. The clinical spectrum and treatment options of macrophage activation syndrome in the pediatric age. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences* 2006; 10: 53-59.
19. Janka GE, Schneider EM. Modern management of children with haemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 2004; 124: 4-14.
20. Emmenegger U, Reimers A, Fux CH, et al. Reactive macrophage activation syndrome: a simple screening and its potential in early treatment initiation. *Swiss Med Wkly* 2002; 132: 230-236.
21. Ravelli A, Cavia MC, Burati S, et al. Methotrexate as a possible trigger of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *J Rheumatol* 2001; 28: 865-867.
21. Sawhney A, De Benedetti T, Viola, S et al. Macrophage activation syndrome. A potentially fatal complication of rheumatic disorders. *J Rheumatol* 2001; 28: 2120-2124.
22. Stephan IL, Kone-Paut I, Galambrum C, et al. Reactive hemophagocytic syndrome in children with inflammatory disorders. *Rheumatology* 2004; 40: 1285-1292.
23. Rumbach L, Berger E, Tatu L, et al. Transient multiple cranial nerve involvement as a first sign of macrophage activation syndrome. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 1997; 62: 292-293.
24. Rostaing L, Fillolo G, Baron E, et al. Course of hemophagocytic syndrome in renal transplant patients. *Transplantation* 1995; 60: 506-509.
25. Henter JJ, Horne A, Aric? M, et al. HLH-2004: diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatric Blood Cancer* 2007; 48: 124-131.
26. Imashuku S, Kuriyama K, Yeramura T, et al. Requirement for etoposide in the treatment of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Clin Oncol* 2001; 19: 2665-2672.
27. Emmenegger U, Speath PJ, Klaus A, et al. Intravenous immunoglobulin for Hemophagocytic lymphohistiocytosis? *J Clin Oncol* 2002; 20: 599-601.
28. Kelly A, Ramanan AV. Recognition and management of macrophage activation syndrome in juvenile arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2007; 19: 477-481.
29. Ravelli A, Viola S, De Benedetti F, et al. Dramatic efficacy of cyclosporine A in macrophage activation syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 19: 108
30. Prahalad S, Bove K, Dickens D, et al. Etanercept in the treatment of macrophage activation syndrome. *J Rheumatol* 2001; 28: 2120-2124.