proLékaře.cz | 16.11.2026

A prospective evaluation of degranulation assays in the rapid diagnosis of familial hemophagocytic syndromes
Yenan T. Bryceson, Daniela Pende, Andrea Maul-Pavicic, et al.
Centre for Infectious Medicine, Karolinska University Hospital Huddinge, Stockholm, Sweden; Istituto di Ricovero e Cura a Carattere Scientifico Azienda Ospedaliera Universitaria, San Martino–Istituto Nazionale per la Ricera sul Cancro, Genoa, Italy; Centre of Chronic Immunodeficiency, University HospitalFreiburg, Freiburg, Germany; et al.

Blood, 22 March 2012, Vol. 119, No. 12, pp. 2754–2763

Hemofagocytující lymfohistiocytóza (HLH) je heterogenní skupina život ohrožujících onemocnění na podkladě specifické vrozené nebo získané poruchy imunitního systému. Je charakterizovaná excesivní aktivací makrofágů a T buněk a masivní produkcí cytokinů. Po stránce klasifikace se rozděluje na: (1) **primární HLH,** podmíněné známými genovými mutacemi; sem patří familiární hemofagocytující lymfohistiocytóza (FHL); Griscelliho syndrom typ 2 (GS2), Chédiakův-Higashiho syndrom (CHS); lymfoproliferativní syndrom vázaný na X-chromozom (XLP). (2) **sekundární HLH,** bez mutací ve známých genech, spojené s infekcemi, těžkým autoimunitním onemocněním nebo hematopoetickými malignitami. Rozlišení mezi primárními a sekundárními HLH je těžké, protože obojí formy mají identické klinické projevy a jsou často vyvolány infekcí. Nicméně rychlá identifikace nemocných s primárním onemocněním je zásadního významu, protože transplantace hematopoetických kmenových buněk (HSCT) představuje jedinou kurativní terapii.

Diagnóza HLH je v současné době založena na souboru klinických a laboratorních kritérií. Stanovení molekulární diagnózy pro primární HLH je často časově náročné a je nákladné. Metody, které určí buněčný genotyp a funkci, mohou rychle rozlišit různé vrozené formy HLH a být vodítkem pro terapeutické úsilí. Určení cytotoxicity přirozených zabiječů (NK buněk) je jediným imunologickým parametrem, který byl systematicky vyhodnocen ve vztahu ke klinickým kritériím. Tato metoda má četná omezení. Jsou v práci blíže popsána. *Degranulační testy,* které kvantifikují povrchovou expresi antigenu CD107a, byly použity na NK buňkách a cytotoxických T lymfocytech pro diagnostiku různých forem primárních HLH. Na velké skupině neselektovaných pacientů určených pro vyhodnocení typu HLH nebyly však testovány. Navíc zůstává nezodpovězena otázka, v jakém rozsahu mohou degranulační testy pomoci k rozlišení mezi primárními a sekundárními formami HLH.

Předmětem této práce je analýza zkušeností 4 evropských laboratoří: (1) definovat standardizované protokoly pro vyhodnocení degranulace NK buněk a cytotoxických lymfocytů; (2) tyto protokoly vyhodnotit prospektivně na velké neselektované skupině pacientů. Autoři ukazují, že testy založené na expresi CD107a mají vysokou senzitivitu a specificitu pro diagnózu primární HLH spojené s genetickými poruchami exocytózy granul.

Soubor, metody a výsledky. V rámci projektu pro léčbu HLH (EU-founded Cure HLH) vytvořily 4 imunologické referenční laboratoře (Janov, Itálie; Stockholm, Švédsko; Londýn, UK; Freiburg, Německo) standardizovaný konsensuální protokol pro vyhodnocení pacientů s HLH. Molekulárně genetická analýza byla provedena u pacientů, u kterých rodinná anamnéza, konsanquinita nebo doprovázející charakteristiky naznačovaly genetické onemocnění, jako albinismus, věk při začátku HLH, průběh choroby nebo imunologické výsledky. U signifikantního počtu pacientů přesahovalo klinické sledování 6 měsíců po imunologických testech. Pacienti byli ***klasifikováni*** retrospektivně ke konci studie do 4 kategorií**: (1)** pacienti s prokázanou genetickou chorobou predisponující pro HLH s postižením lymfocytární degranulace, tj. FHL3, FHL4, FHL5, CHS a GS2; **(2)** pacienti s prokázanou genetickou chorobou predisponující pro HLH, ale bez postižení lymfocytární degranulace, tj. FHL2, XLP1 a XLP2); **(3**) pacienti se sekundární HLH, tj. s jednou epizodou splňující klinická kritéria pro HLH a v kompletní remisi trvající alespoň 6 měsíců po dokončení HLH terapie; a **(4)** pacienti s kompletní nebo nekompletní HLH a insuficientní sledovací informací pro konečnou klasifikaci. Práce podrobně popisuje metodické postupy pro buněčnou typizaci pomocí průtokové cytometrie, uspořádání a hodnocení degranulačních testů a skladbu pacientů (Supplemental Materials).

Výsledky. Prospektivní vyhodnocení degranulačních testů, založených na povrchové expresi CD107a na přirozených NK buňkách a cytotoxických T lymfocytech bylo provedeno na souboru 494 pacientů předaných k vyhodnocení pro suspektní HLH do zmíněných laboratoří v době mezi lednem 2009 a květnem 2011. 75 pacientů (97 %) ze 77 s FHL3-5 a 11 pacientů z 13 s Griscelliho syndromem typu 2 nebo se syndromem Chédiaka-Higashiho mělo abnormální degranulaci klidových NK buněk. Naopak degranulace NK buněk byla normální u 14 pacientů (88 %) ze 16 pacientů s XLP a u 8 pacientů (57 %) ze 14 s FLH2, kteří byli identifikováni dalšími molekulárně genetickými metodami. Mezi 66 pacienty s klinickou diagnózou sekundární HLH mělo 13 z 59 (22 %) abnormální degranulaci klidových NK buněk, zatímco žádný ze 43 neměl abnormální degranulaci NK buněk po aktivaci interleukinem IL-2. Aktivní choroba nebo imunosupresivní terapie neměnily provedení testů.

Závěr. Výsledky studie prokázaly vysokou sensitivitu a specificitu degranulačních testů pro diagnózu genetických poruch cytotoxicity. Poskytují solidní bázi pro optimalizovaný laboratorní algoritmus u pacientů, kteří jsou vyšetřováni pro hemofagocytující lymfohistiocytózu. Dovolují rychlejší identifikaci pacientů s genetickou chorobou a tím také časnější racionální podklad pro začátek vyhledávání dárce pro transplantaci hematopoetických kmenových buněk

Prof. MUDr. Otto Hrodek, DrSc.