

**Klinische und molekulargenetische
Charakterisierung der Hämophagozytischen
Lymphohistiozytose des Erwachsenen: Eine
Nationale Registerstudie**

Dissertation
zur Erlangung des akademischen Grades

doctor medicinae (Dr. med.)

**vorgelegt dem Rat der Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Schiller-Universität Jena**

von Sebastian Birndt

geboren am 28.01.1991 in Löbau

Gutachter:

1. Prof. Dr. med. Paul Graf La Rosée (Villingen-Schwenningen)
2. apl. Prof. Dr. med. Thomas Ernst (Jena)
3. Prof. Dr. med. Christoph Schmaderer (München)

Tag der öffentlichen Verteidigung: 01.02.2022

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	III
Abkürzungsverzeichnis	IV
1 Zusammenfassung	6
2 Einleitung	9
2.1 Epidemiologie	10
2.2 Klassifikation und Pathogenese	10
2.2.1 Primäre Hämophagozytische Lymphohistiozytose	11
2.2.2 Sekundäre Hämophagozytische Lymphohistiozytose	13
2.3 Auslöser	14
2.4 Klinisches Bild	15
2.5 Diagnose	16
2.5.1 Diagnosekriterien	16
2.5.2 Diagnostik	17
2.6 Therapie	18
2.7 HLH-Register am Universitätsklinikum Jena	19
3 Ziele der Arbeit	21
4 Publierte Originalarbeit	22
Birndt, S., Schenk, T., Heinevetter, B., Brunkhorst, F. M., Maschmeyer G., Rothmann, F., Weber, T., Müller, M., Panse, J., Penack, O., Schroers, R., Braess, J., Frickhofen, N., Ehl, S., Janka, G., Lehmborg, K., Pletz, M. W., Hochhaus, A., Ernst, T., La Rosée, P. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: collaborative analysis of 137 cases of a nationwide German registry. <i>J Cancer Res Clin Oncol</i> 146 , 1065–1077 (2020). https://doi.org/10.1007/s00432-020-03139-4	
5 Diskussion	23
6 Schlussfolgerungen	34
7 Literaturverzeichnis	36
8 Anhang	45
Tabellen- und Abbildungsverzeichnis	45
Ethikvotum	46
Patienteneinverständniserklärung	47
Dokumentationsbogen	48
Ehrenwörtliche Erklärung	50
Lebenslauf	51
Danksagung	52

Abkürzungsverzeichnis

AKT.....	Proteinkinase B
ARDS.....	Acute respiratory distress syndrome
ASAT	Aspartat-Aminotransferase
ATM.....	Serin-Proteinkinase ATM, Serin-Proteinkinase ATM (Ataxia Telangiectasia Mutated)
BTK.....	Bruton tyrosine kinase
CAR.....	Chimeric Antigen Receptor
CD	Cluster of differentiation
CD3E.....	T-Cell Surface Glycoprotein CD3 Epsilon Chain
CDC42.....	Cell Division Cycle 42
CLL.....	Chronische lymphatische Leukämie
CMV.....	Zytomegalievirus
COVID-19	Coronavirus-Krankheit 2019
CT.....	Computertomographie
CYBA.....	Cytochrome B-245 Alpha Chain
CYBB.....	Cytochrome B-245 Beta Chain
DKC1	Dyskerin Pseudouridine Synthase 1
DLBCL.....	Diffus-großzelliges B-Zell-Lymphom
EBV	Epstein-Barr-Virus
FAS.....	Fas Cell Surface Death Receptor
FDA	Food and Drug Administration
FDG.....	¹⁸ F-Fluordesoxyglucose
FHL.....	Familiäre hämophagozytische Lymphohistiozytose
g/l.....	Gramm pro Liter
Gpt/l.....	Gigapartikel pro Liter
HAVCR2.....	Hepatitis A Virus Cellular Receptor 2
HIV.....	Humanes Immundefizienz-Virus
HLH	Hämophagozytische Lymphohistiozytose
I-HLH	Infektions-assoziierte hämophagozytische Lymphohistiozytose
IL2RG	Interleukin 2 Receptor Subunit Gamma
IL7RA.....	Interleukin 7 Receptor Subunit Alpha
ITK.....	Interleukin-2-inducible T-cell kinase
JAK.....	Januskinase

LAHS	Lymphom-assoziiertes hämophagozytisches Syndrom
LYST.....	Lysosomal Trafficking Regulator
MAP	Mitogen-activated Protein Kinase
MAS.....	Makrophagenaktivierungssyndrom
MEFV.....	Mediterranean fever
M-HLH	Malignom-assoziierte hämophagozytische Lymphohistiozytose
mmol/l	Millimol pro Liter
NCF1	Neutrophil Cytosolic Factor 1
NEMO.....	NF-Kappa-B essential modulator
NK-Zelle.....	Natürliche Killerzelle
NLRC4.....	NLR family CARD domain-containing protein 4
PD-1	Programmed cell death protein 1
PET.....	Positronen-Emissions-Tomographie
PI3K.....	Phosphoinositid-3-Kinase
PRF1	Perforin
RAB27A.....	Ras-related Protein Rab-27A
RAG.....	Recombination Activating Gene
RC3H1	Ring Finger and CCCH-Type Domains 1
SH2D1A.....	SH2 domain-containing protein 1A
sIL2R	Löslicher Interleukin-2 Rezeptor
STAT	Signal Transducers and Activators of Transcription
STX11.....	Syntaxin 11
STXBP2.....	Syntaxin Binding Protein 2
SUV	standardized uptake value
TNF.....	Tumornekrosefaktor
TNFRSF1A.....	Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 1A
U/ml	Units pro Milliliter
UNC13D	Unc-13 Homolog D
WAS	Wiskott-Aldrich Syndrome Protein
XIAP	X-linked inhibitor of apoptosis protein
XLP.....	X-chromosomale lymphoproliferative Erkrankung

1 Zusammenfassung

Die hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH) ist ein potentiell lebensbedrohliches hyperinflammatorisches Syndrom, das bei Erwachsenen meist im Zusammenhang mit einer auslösenden Erkrankung wie Infektionen oder Malignomen auftritt. Unterscheiden lassen sich eine primäre, durch definierte genetische Mutationen in immunregulierenden Genen gekennzeichnete Form (hereditäre HLH) sowie die sekundäre oder erworbene HLH, welche bei Erwachsenen weitaus häufiger auftritt. In der derzeitigen Klassifikation wird als dritte Gruppe zudem die HLH unbekannter Ursache geführt. Der HLH pathophysiologisch zugrunde liegt ein inhärenter (primäre HLH) oder erworbener Immundefekt (sekundäre HLH), in dessen Folge es zu einer ineffektiven Immunantwort und konsekutiv zu einer gesteigerten Zytokinfreisetzung kommt. Das klinische Bild ist variabel, jedoch wird häufig eine Symptomtrias bestehend aus Fieber, Zytopenien und Hepatosplenomegalie beobachtet, zudem weist die schwer verlaufende HLH viele Parallelen zu einer Sepsis auf.

Aufgrund der relativen Seltenheit der Erkrankung sind bisher nur wenige Studien für erwachsene Patienten mit (meist sekundärer) HLH publiziert, für Deutschland existieren bisher keine multizentrisch erhobenen Daten. Sowohl für Diagnose als auch für die Therapie der adulten HLH werden daher vornehmlich die Empfehlungen für die primäre HLH, welche meist im Kindesalter manifest wird, in adaptierter Form genutzt. Ein Problem ist die häufig verspätete Diagnosestellung, welche zu der insgesamt schlechten Prognose der Patienten beiträgt.

Aufgrund der genannten offenen Fragen wurde am Universitätsklinikum Jena eine Registerdatenbank zur multizentrischen, prospektiven Erfassung von erwachsenen HLH-Patienten etabliert. Im Rahmen des Registers wird zudem eine konsiliarische Beratung angeboten. Ziel des Registers ist neben der besseren Charakterisierung der HLH bei Erwachsenen auch die Erhöhung der Vigilanz für dieses seltene Krankheitsbild.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, multizentrisch Daten zu Epidemiologie, klinischer Präsentation, Laborcharakteristika, eingesetzten Therapien sowie Behandlungsergebnissen zu erheben und zu analysieren. Untersucht werden sollte insbesondere, welche Faktoren ein schlechteres Gesamtüberleben bedingen. Außerdem sollte unter Einbeziehung von Vergleichsstudien untersucht werden, inwiefern die derzeit

genutzten Diagnosekriterien auch für die adulte HLH geeignet sind. Für ausgewählte Patienten erfolgte die Sanger-Sequenzierung der kodierenden Abschnitte des Perforin-Gens unter der Frage, ob sich auch bei Erwachsenen mit HLH Mutationen in diesem immunregulierenden Gen finden lassen, welche möglicherweise einen Einfluss auf die Pathogenese der HLH haben.

In der vorliegenden Arbeit wurden die Daten von insgesamt 137 Patienten ausgewertet. Das mediane Alter lag dabei bei 50 Jahren mit jedoch großer Spannweite (17 – 87 Jahre), es waren mehr Männer als Frauen betroffen (63,5 % vs. 36,5 %). Als Auslöser wurden am häufigsten Infektionen in 44 % der Fälle, gefolgt von Malignomen (35 %) und Autoimmunerkrankungen (10 %), beobachtet. Nahezu alle Patienten wiesen Fieber und eine Splenomegalie auf (98% bzw. 86 %), bei 62 % trat eine Trias aus Fieber, Splenomegalie und Zytopenien auf. Als Charakteristikum der HLH traten bei 74 % aller Patienten Ferritinspitzen Spiegel von mehr als 10.000 µg/l auf. Dies steht im Einklang mit bisher publizierten Untersuchungen, zur Erhöhung der Spezifität ist eine Anpassung des derzeit in den HLH-2004-Diagnosekriterien genutzten Schwellenwertes von 500 µg/l zu diskutieren. Der HScore als zusätzliches diagnostisches Werkzeug zeigte eine gute Korrelation zu den HLH-2004-Diagnosekriterien, eine ergänzende Berechnung bei HLH-Verdacht ist empfohlen. Zum Zeitpunkt der Analyse waren etwas mehr als die Hälfte der Patienten verstorben, die kürzeste Überlebenszeit zeigten dabei Patienten mit Malignom-assoziiierter HLH. Als ungünstige Prognosefaktoren konnten niedrige Albuminwerte (kleiner 20 g/l) sowie niedrige Thrombozytenzahlen (kleiner 20 Gpt/l) sowohl für das Gesamt- als auch das 30-Tage-Überleben identifiziert werden. Die Kenntnis dieser Faktoren kann helfen, Hochrisikopatienten zu identifizieren und im Falle eines unzureichenden Therapieansprechens eine Therapieintensivierung vorzunehmen. In der Perforin-Mutationsanalyse konnten bei 2 von 20 untersuchten Patienten jeweils heterozygote A91V-Mutationen nachgewiesen werden, daneben sind im Patientenregister derzeit 5 erwachsene Patienten mit HLH-definierenden Mutationen erfasst („late-onset“ primäre HLH). Der umfassenden Diagnostik kommt entscheidende Bedeutung zu, um den möglichen Auslöser der HLH zu sichern und eine rasche, zielgerichtete Behandlung einleiten zu können.

Die HLH bei Erwachsenen bleibt aufgrund der variablen Klinik eine diagnostische Herausforderung. In Anbetracht der Seltenheit und der Möglichkeit atypischer Verläufe ist eine frühzeitige Kontaktaufnahme zu Referenzzentren empfehlenswert. Die

vorliegende Arbeit gibt anhand 137 ausgewerteter Patienten einen Überblick über Charakteristika und Behandlungsergebnisse für erwachsene HLH-Patienten in Deutschland. Künftige Analysen sollten sich der weiteren Verbesserung der Diagnostik und Therapie der HLH bei Erwachsenen widmen, beispielweise inwiefern mittels Zytokinprofilen eine schnellere und sichere Abgrenzung der HLH zu anderen inflammatorischen Erkrankungen wie der Sepsis möglich ist. Durch weiterführende molekulargenetische Untersuchungen, zum Beispiel mittels Exomsequenzierung, könnten weitere, möglicherweise mit der Pathogenese insbesondere der sekundären HLH assoziierte Veränderungen aufgedeckt werden. Neue zielgerichtete Substanzen könnten die Therapie und Behandlungsergebnisse nicht nur der HLH, sondern auch anderer Entitäten mit Hyperinflammation verbessern, wie aktuell der Einsatz des Januskinase-Inhibitors Ruxolitinib oder des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten Anakinra bei schwer verlaufender COVID-19 Erkrankung zeigt.

2 Einleitung

Die hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH) ist ein seltenes, jedoch potentiell lebensbedrohliches Hyperinflammationssyndrom und wird von der Histiocyte Society als Histiozytose der H-Gruppe klassifiziert (Emile et al. 2016). Unterscheiden lassen sich eine primäre, durch angeborene genetische Aberrationen in immunregulierenden Genen gekennzeichnete Form (auch als hereditäre HLH bezeichnet), eine sekundäre bzw. erworbene HLH, welche bei Erwachsenen die große Mehrzahl der Fälle ausmacht, und die HLH mit unbekannter Ursache. Pathophysiologisch kommt es meist infolge einer auslösenden Erkrankung (typischerweise Infektionen, Malignome oder Autoimmunerkrankungen) zu einer pathologisch gesteigerten Immunantwort. Es resultiert die vermehrte Freisetzung proinflammatorischer Zytokine, wodurch im Extremfall ein sogenannter „Zytokinsturm“ auftritt (Janka und Lehmborg 2014). Für eine HLH infolge einer Autoimmunerkrankung wird der Terminus „Makrophagenaktivierungssyndrom“, abgekürzt MAS, synonym genutzt.

Klinische Kennzeichen der HLH sind rezidivierende Fieberepisoden, Zytopenien sowie eine (Hepato-)splenomegalie. Vor dem Hintergrund der Heterogenität der auslösenden Erkrankungen und in Abhängigkeit der betroffenen Organsysteme ist jedoch eine variable Symptomatik möglich. Daher und aufgrund der Seltenheit der Erkrankung wird die HLH häufig verspätet diagnostiziert oder nicht als solche erkannt, was zu einer Verzögerung der notwendigen immunsuppressiven Therapie führt und zu der vergleichsweise schlechten Prognose beiträgt.

Als Erstbeschreibung der HLH gilt eine Fallserie aus dem Jahr 1939, wobei die Erkrankung als „histiozytäre Knochenmarkretikulose“ bezeichnet wurde (Bodley Scott und Robb-Smith 1939). Möglicherweise kann jedoch als erste Publikation zur HLH auch die Beobachtung der Hämophagozytose in Zusammenhang mit einer malignen Erkrankung von Tschistowitsch und Bykowa aus dem Jahr 1928 gelten, welche unter der Bezeichnung „Retikulose“ publiziert wurde (Tschistowitsch und Bykowa 1928). Die familiäre Form der HLH wurde erstmals 1952 beschrieben und wird nach ihrem Erstbeschreiber auch als Morbus Farquhar bezeichnet (Farquhar und Claireaux 1952). 1999 gelang schließlich mit der Beschreibung von Perforin-Mutationen erstmals die Aufklärung einer genetischen Ursache der HLH (Stepp et al. 1999).

2.1 Epidemiologie

Exakte Zahlen zu Inzidenz und Prävalenz der HLH bei Erwachsenen liegen für Europa und insbesondere auch Deutschland nicht vor. Eine retrospektive schwedische Arbeit schätzte die Inzidenz der familiären HLH (FHL) bei Kindern unter 15 Jahren auf 1,2 von 1 Million Kindern pro Jahr, während des untersuchten Zeitraums zwischen 1971 und 1986 trat damit bei einem von 50.000 Lebendgeborenen eine FHL auf, die Geschlechterverteilung war dabei ausgeglichen (Henter et al. 1991b). Eine japanische Studie schätzte die jährliche Inzidenz auf eine von 800.000 Personen, wobei in dieser Studie sowohl primäre als auch sekundäre HLH-Fälle erfasst wurden (Ishii et al. 2007). In einer weiteren japanischen Arbeit, welche sich auf die Lymphom-assoziierte HLH fokussierte (auch als Lymphom-assoziiertes hämophagozytisches Syndrom bezeichnet, abgekürzt LAHS), wiesen von 1239 Patienten mit Non-Hodgkin-Lymphom 35 Patienten ein LAHS auf, entsprechend einer kumulativen Inzidenzrate von 2,8 % (Sano et al. 2014). In der bisher größten zur HLH bei Erwachsenen publizierten Analyse von Ramos-Casals et al. fand sich unter 775 Patienten ein medianes Alter von 49 Jahren bei Diagnose, Männer waren mit einem Anteil von 63 % häufiger betroffen (Ramos-Casals et al. 2014).

Oben genannte Zahlen und Inzidenzen sind jedoch möglicherweise zu niedrig angesetzt, da zwischenzeitlich für die primäre HLH diagnostische Testverfahren mit höherer Sensitivität und Spezifität etabliert wurden und somit eine verlässliche Klassifikation häufiger und schneller gelingt (Bryceson et al. 2012). Weiterhin wird trotz zunehmender Vigilanz während der letzten Jahre, welche sich auch in der steigenden Anzahl der Publikationen niederschlägt, für die sekundäre HLH nach wie vor eine hohe Dunkelziffer angenommen. Dies gilt insbesondere für Intensivstationen, da HLH und beispielsweise die Sepsis viele klinische Merkmale teilen (Machowicz et al. 2017, Lachmann et al. 2018).

2.2 Klassifikation und Pathogenese

Unterscheiden lassen sich generell eine primäre, durch genetische Aberrationen in immunregulierenden Genen gekennzeichnete HLH sowie eine sekundäre oder erworbene (reaktive) HLH. Einen Überblick über die Einteilung gibt Tabelle 1, die einzelnen genetischen Ursachen der primären HLH sind in Tabelle 2 aufgeführt.

Im Folgenden wird die jeweilige Pathogenese dargestellt. Dabei ist zu beachten, dass auch bei einem Teil der adulten Patienten mit sekundärer HLH hypomorphe Mutationen in HLH-prädisponierenden Genen gefunden werden, wenngleich diese Veränderungen im Hinblick auf ihren Einfluss auf die Krankheitsentstehung zum Teil kontrovers diskutiert werden. Abzugrenzen davon sind seltene Fälle einer sogenannten „late onset“ hereditären HLH, bei denen krankheitsdefinierende homozygote Mutationen identifiziert werden können, das klinische Bild der HLH sich jedoch erst im Erwachsenenalter manifestiert.

Tabelle 1. Einteilung der HLH nach zugrundeliegender Ursache, adaptiert nach La Rosée et al. 2019.

Primäre HLH (Vorliegen angeborener genetischer Alterationen)
HLH mit gestörter zytolytischer Funktion zytotoxischer T-Lymphozyten und/oder NK-Zellen
HLH mit gestörter Regulation des Inflammasoms
Sekundäre HLH
Infektions-assoziierte HLH (I-HLH)
Malignom-assoziierte HLH (M-HLH)
HLH infolge autoimmuner oder autoinflammatorischer Erkrankungen (MAS-HLH)
HLH durch andere Ursache (Organ- oder Stammzelltransplantation; metabolische, traumatische, iatrogene Ursachen [Immunsuppression, Immuntherapien, Impfungen, Operationen, Hämodialyse], sehr selten Schwangerschaft)
HLH unbekannter Ursache

2.2.1 Primäre Hämophagozytische Lymphohistiozytose

Der primären oder hereditären HLH liegt pathophysiologisch eine verminderte oder fehlende zytotoxische Aktivität von T-Zellen und NK-Zellen infolge definierter genetischer Mutationen zugrunde (siehe Tabelle 2). Diese betreffen entweder den Transport, das Andocken oder die Exozytose von mit Proteasen wie Granzym B gefüllten Granula (Degranulation) oder die Formation des zytolytischen Proteins Perforin (siehe Abbildung 1). Es resultiert die ineffektive Lyse von Zielzellen und damit eine persistierende Antigenstimulation und fehlende Terminierung der Immunantwort, in deren Folge es zu einer Expansion zytotoxischer Effektorzellen (T- und NK-Zellen) kommt. In Mausmodellen der familiären HLH konnte insbesondere der Einfluss

aktivierter, zytotoxischer (CD8-positiver) T-Zellen auf die Krankheitsentstehung gezeigt werden. Grundlage dessen ist die Freisetzung von Interferon gamma, wodurch eine konsekutive Makrophagenaktivierung auftritt. Diese sezernieren daraufhin große Mengen proinflammatorischer Zytokine wie Interleukin-1 beta, Interleukin-6, Interleukin-18 oder Tumornekrosefaktor alpha. Hierdurch werden im Sinne eines *circulus vitiosus* zum einen T-Zellen aktiviert und zur Proliferation angeregt, zum anderen kommt es durch die Zytokinwirkung zu einer Einwanderung aktivierter T-Lymphozyten in Organe und Gewebe, wodurch das klinische Bild der HLH entsteht.

Neben den bereits länger bekannten Mutationen mit Einfluss auf das lysosomale Processing, die Exozytose und Zytolyse wurden in den letzten Jahren auch eine Reihe weiterer Gene beschrieben, die mit einem Immundefekt einhergehen und mit einer HLH assoziiert sein können (siehe Tabelle 2). Als Beispiele können hier Gene zur Regulation des Inflammasoms wie NLRC4 oder der T-Zell-Funktion und -proliferation (z.B. ITK) genannt werden (Canna et al. 2014, Romberg et al. 2014, Huck et al. 2009).

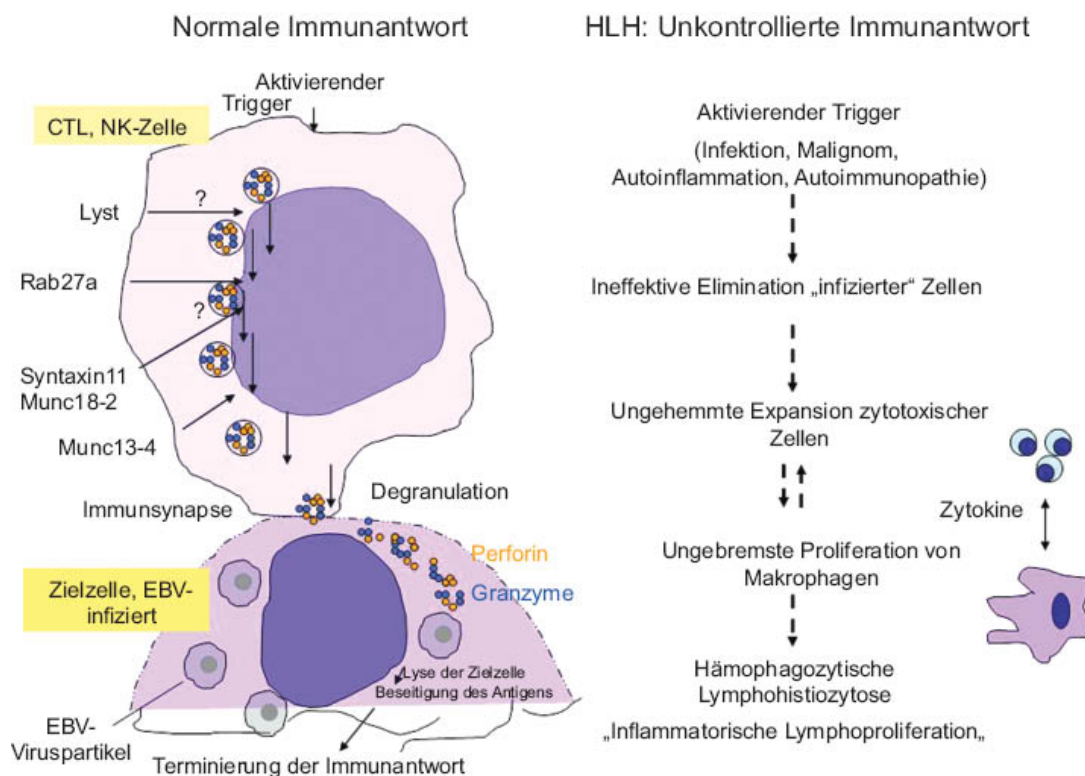


Abbildung 1. Normale Immunantwort am Beispiel einer virusinfizierten Zelle und unkontrollierte Aktivierung bei HLH mit Folge der Hyperinflammation (Rosée et al. 2013).

Tabelle 2. Übersicht der von Mutationen betroffenen Gene bei hereditärer bzw. primärer HLH sowie assoziierter Erkrankungen mit Immundefekt. Tabelle adaptiert nach La Rosée et al. 2019.

Genetische Alterationen bei hereditärer bzw. primärer HLH		
Immundefekt	Betroffenes Gen	Syndrom
Gestörte Funktion zytotoxischer Granula	Perforin (PRF1)	FHL2
Regulation der zytotoxischen Exozytose	Unc-13 Homolog D (UNC13D)	FHL3
	Syntaxin 11 (STX11)	FHL4
	Syntaxin Binding Protein 2 (STXBP2)	FHL5
	Ras-related Protein Rab-27A (RAB27A)	Griscelli-Syndrom Typ 2
	Lysosomal Trafficking Regulator (LYST)	Chediak-Higashi-Syndrom
Zytotoxisches T-Zell Signaling	SH2 domain-containing protein 1A (SH2D1A)	XLP1 (Duncan- oder Purtilo-Syndrom)
Inflammasom-Regulation, NOD Signaling	X-linked inhibitor of apoptosis protein (XIAP)	XLP2
Konstitutive Inflammasom-Aktivierung	NLR family CARD domain-containing protein 4 (NLRC4)	

Weitere mit seltenen Immundefekten assoziierte Gene, die mit einer HLH vergesellschaftet sein können: ITK, CD27, RAG1&2, IL2RG, IL7RA, CD3E, BTK, FAS, WAS, ATM, NEMO, STAT1, DKC1, MEFV, TNFRSF1A, CYBB, CYBA, NCF1, HAVCR2, CD48, CDC42, RC3H1

2.2.2 Sekundäre Hämophagozytische Lymphohistiozytose

Trotz der bereits im Jahr 1939 erfolgten Erstbeschreibung ist die Pathogenese der sekundären HLH weniger gut verstanden. Im Gegensatz zur primären HLH ist der Immundefekt nicht vererbt, sondern erworben. Angenommen wird eine multifaktorielle Genese, in der verschiedene Faktoren eine pathologische Inflammation sowie eine transient verminderte NK- und T-Zell-Funktion bedingen (Brisse et al. 2016). Diese umfassen unter anderem eine vorbestehende Immunsuppression (z. B. HIV-Infektion oder Patienten nach Transplantation, idiopathisch in Form medikamentöser

immunsuppressiver Therapie bzw. Chemotherapie), präexistente Inflammation (durch Vorerkrankungen wie hämatologische Neoplasien oder rheumatische Erkrankungen) sowie eine möglicherweise zusätzlich auftretende Infektion. Auch der Einfluss von Aberrationen in immunregulierenden Genen in Form sogenannter hypomorpher Mutationen oder Polymorphismen erscheint naheliegend und wird diskutiert, so wurden in den letzten Jahren mehrfach monoallelische Mutationen in HLH-prädisponierenden Genen bei einem Teil der Patienten mit sekundärer HLH gefunden (Kaufman et al. 2014, Zhang et al. 2011, Wang et al. 2014). Weitere mögliche Mechanismen umfassen die Hemmung der Zytotoxizität durch Zytokine oder Viren und eine Imbalance zwischen Erregerlast und Zellen der Immunantwort (Janka und Lehmborg 2014, Mao et al. 2009).

Als Resultat des Zusammenwirkens mehrerer der vorgenannten Faktoren entsteht ein Ungleichgewicht zwischen pro- und antiinflammatorischen Einflüssen mit Folge einer fehlregulierten, überschießenden Entzündungsantwort.

2.3 Auslöser

Als mögliche Auslöser oder Trigger der HLH kommen eine Vielzahl von Erkrankungen und auch iatrogene Faktoren (Immuntherapie, Immunsuppression) in Betracht.

Die primäre HLH, welche sich aufgrund des genetisch determinierten Immundefekts typischerweise im frühen Kindesalter und im Falle der FHL häufig in den ersten 6 Lebensmonaten manifestiert, wird klassischerweise durch virale Infektionen ausgelöst. Demgegenüber sind auslösende Erkrankungen der sekundären HLH deutlich heterogener. Am häufigsten finden sich Infektionen, maligne Erkrankungen sowie Autoimmunopathien, welche zusammen etwa 85 – 90 % der Fälle auslösen. Unter den infektiösen Triggererkrankungen überwiegen virale Infektionen. Am häufigsten werden hierbei Herpesviren wie EBV und CMV gefunden, daneben werden jedoch auch HIV sowie Influenza-, Adeno- und Parvovirus B19 nachgewiesen (Ramos-Casals et al. 2014). Neben bakteriellen und Pilzinfektionen können auch Protozoen, beispielsweise Leishmanien, eine HLH verursachen.

Unter den Malignomen dominieren hämatologische Neoplasien und in dieser Subgruppe insbesondere Lymphome. Dabei findet sich je nach geografischer Region eine unterschiedliche Verteilung der Subtypen; im europäischen sowie nordamerikanischen Raum überwiegen Lymphome der B-Zell-Reihe, wohingegen sich

in asiatischen Fallserien entsprechend der höheren Prävalenz vermehrt T- und NK-Zell-Lymphome nachweisen lassen (Han et al. 2007, Li et al. 2014a).

Neben den vorgenannten Entitäten bilden Autoimmunerkrankungen wie der systemische Lupus erythematodes oder der Morbus Still des Erwachsenen die dritte wesentliche Gruppe, in selteneren Fällen wurden auch die rheumatoide Arthritis, Vaskulitiden oder entzündliche Darmerkrankungen als Auslöser einer HLH bzw. eines MAS beschrieben (Coburn et al. 2020, Atteritano et al. 2012).

In den letzten Jahren gehäuft dokumentiert sind Fallberichte einer HLH bzw. einer Hyperinflammation oder eines Zytokinfreisetzungssyndroms unter Checkpoint-Inhibitoren oder bispezifischen Antikörpern wie Blinatumomab (Teachey et al. 2013, Mizuta et al. 2020, Nosedá et al. 2019). Ein Zytokinfreisetzungssyndrom kann weiterhin im Rahmen einer CAR-T-Zell-Therapie beobachtet werden und das klinische Bild einer HLH bedingen (Sandler et al. 2020). Mit dem zunehmenden klinischen Einsatz der letztgenannten Substanzen ist eine in Zukunft steigende Inzidenz anzunehmen.

2.4 Klinisches Bild

Die klinische Präsentation der HLH ist entsprechend des Spektrums möglicher Auslöser sehr variabel. Häufig findet sich eine Trias bestehend aus Fieber, Hepatosplenomegalie sowie Zytopenien. Weitere mögliche Symptome lassen sich durch die überschießende Immunantwort mit Gewebsinfiltration durch T-Zellen sowie die Wirkung der Zytokine erklären. So inhibieren bestimmte Zytokine wie TNF-alpha die Lipoproteinlipase (erhöhte Triglyceride) und die Hämatopoese, aktivierte Makrophagen produzieren vermehrt Plasminogenaktivator, wodurch es zu einer Hyperfibrinolyse kommt, weiterhin führt die Makrophagenaktivierung zu Hyperferritinämie und Hämophagozytose (Janka und Lehmborg 2014). Die erhöhte Konzentration von löslichem Interleukin-2-Rezeptor spiegelt die T-Zell-Aktivierung wider. Organomegalie, Hautexanthem, eine mögliche neurologische Beteiligung oder Leberbeteiligung lassen sich auf eine Infiltration der jeweiligen Kompartimente durch aktivierte T-Lymphozyten zurückführen.

Neben diesen Symptomen, welche im Wesentlichen die derzeit für die Diagnosestellung genutzten HLH-2004-Diagnosekriterien umfassen (siehe Tabelle 3), sind entsprechend der möglichen genetischen Veränderungen (siehe Tabelle 2) auch

Symptome wie Hypopigmentation bis hin zu partiellem oder vollständigem Albinismus, Kolitis, Hörverlust oder autoinflammatorische Phänomene möglich.

2.5 Diagnose

2.5.1 Diagnosekriterien

Für die Diagnosestellung der HLH werden derzeit die zuletzt 2007 revidierten und erstmals 1991 publizierten Kriterien der Histiocyte Society genutzt (siehe Tabelle 3) (Henter et al. 2007, Henter et al. 1991a). Zu beachten ist hierbei, dass diese Kriterien anhand einer pädiatrischen Studienpopulation (primäre HLH) entwickelt und validiert wurden. Spezielle Kriterien für die Diagnose der sekundären HLH bei Erwachsenen existieren nicht, jedoch haben sich oben genannte Kriterien in bisher publizierten Fallserien auch für die Diagnosestellung der sekundären HLH als verlässlich erwiesen. Ausnahme bildet hierbei die HLH infolge autoinflammatorischer Erkrankungen (MAS), für die gesonderte Diagnosekriterien vorgeschlagen wurden, welche die oft vorbestehende krankheitsimmanente Inflammation sowie die dynamische Änderung bestimmter Laborparameter stärker berücksichtigen (Ravelli et al. 2016a).

Neben den oben genannten Kriterien kann der von der französischen Arbeitsgruppe um Fardet speziell für die sekundäre HLH entwickelte HScore bei der Diagnosestellung helfen (Fardet et al. 2014). Die Punktevergabe erfolgt dabei angepasst an die Ausprägung der Befunde; die Punktezahl ist mit der Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer HLH korreliert.

Tabelle 3. HLH-2004-Diagnosekriterien nach Henter et al. 2007. Für die Diagnosestellung der HLH müssen entweder mind. 5 der unter 2) genannten Kriterien erfüllt sein oder eine mit der HLH zu vereinbarende molekulargenetische Aberration vorliegen.

1) Molekulargenetischer Nachweis von einer mit der HLH zu vereinbarenden Alteration (siehe Tabelle 2)
2) Mindestens 5 von 8 der folgenden Kriterien:
a) Fieber
b) Zytopenien in mind. 2 Zellreihen (Hämoglobin < 90 g/l, Thrombozyten < 100 Gpt/l, Neutrophile Granulozyten < 1,0 Gpt/l)
c) Splenomegalie
d) Hypertriglyceridämie und/oder Hypofibrinogenämie (Nüchtern-Triglyceride \geq 3 mmol/l, Fibrinogen < 1,5 g/l)

e) Hyperferritinämie (Ferritin \geq 500 $\mu\text{g/l}$)
f) Erhöhter löslicher Interleukin 2-Rezeptor (sCD25) (sCD25 \geq 2400 U/ml)
g) Verminderte oder fehlende NK-Zell Aktivität
h) Hämophagozytose in Knochenmark, Milz oder Lymphknoten

Tabelle 4. HScore nach Fardet et al. 2014. Immunsuppression ist definiert als HIV-Infektion oder immunsuppressive Dauertherapie mit z.B. Glukokortikoiden, Cyclosporin oder Azathioprin.

Parameter	Punkte (Kriterien für Vergabe)
Bekannte vorbestehende Immunsuppression	0 (nein) oder 18 (ja)
Körpertemperatur ($^{\circ}\text{C}$)	0 ($< 38,4$), 33 ($38,4 - 39,4$) oder 49 ($> 39,4$)
Organomegalie	0 (nein), 23 (Hepato- oder Splenomegalie) oder 38 (Hepato- und Splenomegalie)
Anzahl der Zytopenien im peripheren Blut	0 (1 Zellreihe), 24 (2 Zellreihen) oder 34 (3 Zellreihen)
Ferritin ($\mu\text{g/l}$)	0 (< 2000), 35 ($2000 - 6000$) oder 50 (> 6000)
Triglyceride (mmol/l)	0 ($< 1,5$), 44 ($1,5 - 4$) oder 64 (> 4)
Fibrinogen (g/l)	0 ($> 2,5$) oder 30 ($\leq 2,5$)
ASAT (IU/l)	0 (< 30) oder 19 (≥ 30)
Hämophagozytose im Knochenmarkaspirat	0 (nein) oder 35 (ja)

2.5.2 Diagnostik

Ziel der Diagnostik ist einerseits die möglichst schnelle Sicherung der Diagnose HLH, zum anderen hat die Identifizierung der auslösenden Erkrankung entscheidende Bedeutung.

Besteht der Verdacht auf eine HLH, sollte zunächst eine ausführliche Anamnese mit besonderem Augenmerk auf bisherigen Erkrankungen, Vorliegen einer Immunsuppression und mögliche familiäre Prädisposition (ähnliche Symptomatik in der Vergangenheit, Familienmitglieder oder Geschwister mit ähnlicher Symptomatik)

durchgeführt werden. Die Reiseanamnese dient der Klärung einer möglichen Exposition gegenüber seltenen Erregern als Auslöser der HLH, um eine entsprechende weiterführende Diagnostik und ggf. zielgerichtete Therapie einleiten zu können. Bei der körperlichen Untersuchung ist unter anderem auf vergrößerte bzw. suspekta Lymphknoten zu achten, außerdem auf Anzeichen einer Pigmentierungsstörung bzw. eines Albinismus.

Kommt eine genetische Ursache der HLH in Betracht, z. B. bei Fällen mit rezidivierender HLH ohne erkennbare Ursache, familiärer Vorbelastung oder bei jungen Erwachsenen mit EBV-assoziiierter HLH, sollte eine immunologische Untersuchung zur Detektion möglicher Degranulationsdefekte eingeleitet werden. Diese funktionelle Diagnostik und sich ggf. anschließende genetische Untersuchungen sollten mit einem Referenzzentrum abgestimmt werden.

Laborchemische Untersuchungen umfassen die für die Diagnosestellung relevanten Parameter, außerdem muss je nach vermutetem Auslöser beispielsweise eine erweiterte infektiologische Abklärung durchgeführt werden. Besteht der Verdacht auf Malignität, sollte eine diesbezügliche Diagnostik mit Bildgebung (je nach Entität vorzugsweise mittels PET-CT) sowie Histologiegewinnung erfolgen. Aufgrund der häufig begleitenden Inflammation kann die histopathologische Diagnostik insbesondere bei Lymphomverdacht deutlich erschwert sein, die Einbeziehung einer Referenzpathologie und ggf. wiederholte Histologiegewinnung bei unklarer Befundkonstellation und klinischem Verdacht sind empfohlen.

2.6 Therapie

Grundlage der HLH-Therapie ist eine Terminierung der pathologischen Immunantwort und Dämpfung der Inflammation, gleichzeitig muss jedoch auch die auslösende Erkrankung behandelt werden.

Für die primäre HLH wurden im Rahmen prospektiver Studien Behandlungsprotokolle entwickelt, an deren Ende die allogene Stammzelltransplantation zur kurativen Behandlung des genetischen Defekts steht (Henter et al. 2007). Eingesetzt wird dabei eine Kombination aus Dexamethason, Etoposid sowie Ciclosporin A. Parallel dazu werden mögliche infektiöse Triggererkrankungen gezielt behandelt. Seit November 2018 (FDA-Zulassung) steht für Patienten mit refraktärer oder rezidivierender HLH der

monoklonale Interferon-gamma Antikörper Emapalumab zur Verfügung (Locatelli et al. 2020).

Die Therapie der sekundären bzw. erworbenen HLH richtet sich sowohl nach der Schwere der Erkrankung als auch nach der vorliegenden Grunderkrankung. Für die initial notwendige Immunsuppression werden Bestandteile des HLH-94-Protokolls eingesetzt, jedoch in adaptierter, meist reduzierter Dosierung. Entscheidender Bedeutung kommt der adäquaten Behandlung der Grunderkrankung zu, beispielsweise einer gezielten antiinfektiven Therapie oder der (Immun)chemotherapie im Falle einer Malignität. Weitere mögliche Therapieoptionen umfassen Antikörper wie Rituximab bei EBV-Infektion, Inhibition der Zytokinwirkung, z. B. mittels des Interleukin-1 Rezeptor-Antagonisten Anakinra bei MAS oder die Gabe des Interleukin-6 Rezeptor-Antikörpers Tocilizumab. Bei kritisch kranken Patienten auf Intensivstation bietet die Zytokinelimination mittels Adsorptionssäule oder Plasmapherese eine Behandlungsoption (Greil et al. 2017). In der rezidivierten oder refraktären Situation wurden bei sekundärer HLH ermutigende Ergebnisse für eine Kombinationschemotherapie mit liposomalem Doxorubicin, Methylprednisolon und Etoposid publiziert, darüber hinaus zeigte der JAK-Inhibitor Ruxolitinib in Pilotstudien eine gute Wirksamkeit (Wang et al. 2015, Ahmed et al. 2019).

Neben der regelmäßigen klinischen Reevaluation sollte das Therapieansprechen durch regelmäßige laborchemische Kontrollen von Ferritin und löslichem Interleukin-2-Rezeptor überwacht werden.

2.7 HLH-Register am Universitätsklinikum Jena

Für die HLH des Erwachsenen existieren in Deutschland bisher keine systematisch erhobenen Daten zu Epidemiologie, eingesetzten Therapien, klinischem Verlauf und Behandlungsergebnissen. Auch international sind für die adulte HLH nur wenige retrospektive Fallserien publiziert. Sowohl Diagnostik als auch Therapie beruhen in weiten Teilen auf Empfehlungen für pädiatrische Patienten.

Zur Beantwortung der oben genannten Fragen und zum besseren Verständnis der HLH bei Erwachsenen wurde am Universitätsklinikum Jena in Kooperation der Abteilung für Hämatologie und internistische Onkologie der Klinik für Innere Medizin 2 sowie des Zentrums für klinische Studien eine Registerdatenbank zur prospektiven, multizentrischen Erfassung von Patientenfällen etabliert. Die im Rahmen des

Registers generierten Daten sollen neben der Adressierung o.g. Fragen auch der Verbesserung der Therapiealgorithmen und der Mitarbeit an künftigen Leitlinien für die HLH bei Erwachsenen dienen. Nicht zuletzt wird durch Präsentation der erhobenen Daten sowie konsiliarische Beratung bei HLH-Verdacht eine Erhöhung der Vigilanz für dieses seltene Krankheitsbild angestrebt.

3 Ziele der Arbeit

Ziel der Arbeit war es, im Rahmen des Patientenregisters Daten zu Epidemiologie, auslösenden Erkrankungen, klinischer Präsentation, Laborcharakteristika, Therapie sowie den Behandlungsergebnissen erwachsener HLH-Patienten zu erheben, da hierzu in Deutschland keine Untersuchungen vorliegen. Anhand dieser Daten sollte untersucht werden, welche möglichen Prognose- und Risikofaktoren ein schlechteres Gesamtüberleben anzeigen. Weiterhin sollte auch unter Einbeziehung von Vergleichsstudien untersucht werden, inwiefern die bisher genutzten Diagnosekriterien, welche an einer pädiatrischen HLH-Patientenkohorte evaluiert wurden, auch für Erwachsene geeignet sind. Ziel der Analyse und Beschreibung der eingesetzten Therapien war die Schaffung einer möglichen Grundlage für zukünftige Therapiealgorithmen.

Neben der klinischen Charakterisierung erfolgte für ausgewählte Patienten eine Sanger-Sequenzierung der kodierenden Abschnitte des Perforin-Gens. Mit dieser Analyse sollte der Frage nachgegangen werden, inwiefern auch bei einem Teil der erwachsenen HLH-Patienten Mutationen in bestimmten immunregulierenden Genen gefunden werden können und ob vor dem Hintergrund bisher publizierter Daten diese möglicherweise einen Einfluss auf die Krankheitsentstehung haben.

Nicht zuletzt sollen die im Rahmen der Arbeit erfassten multizentrischen, klinischen Daten eine Grundlage für zukünftige Auswertungen bilden und unter anderem auch bei der Erstellung von Therapieempfehlungen helfen, hierfür wird die Datenerfassung im Rahmen des Patientenregisters prospektiv fortgesetzt.

4 Publizierte Originalarbeit

Birndt, S., Schenk, T., Heinevetter, B., Brunkhorst, F. M., Maschmeyer G., Rothmann, F., Weber, T., Müller, M., Panse, J., Penack, O., Schroers, R., Braess, J., Frickhofen, N., Ehl, S., Janka, G., Lehmborg, K., Pletz, M. W., Hochhaus, A., Ernst, T., La Rosée, P. Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: collaborative analysis of 137 cases of a nationwide German registry. *J Cancer Res Clin Oncol* **146**, 1065–1077 (2020). <https://doi.org/10.1007/s00432-020-03139-4>



Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: collaborative analysis of 137 cases of a nationwide German registry

Sebastian Birndt¹ · Thomas Schenk¹ · Babett Heinevetter¹ · Frank M. Brunkhorst² · Georg Maschmeyer³ · Frank Rothmann³ · Thomas Weber⁴ · Markus Müller⁵ · Jens Panse⁶ · Olaf Penack⁷ · Roland Schroers⁸ · Jan Braess⁹ · Norbert Frickhofen¹⁰ · Stephan Ehl¹¹ · Gritta Janka¹² · Kai Lehmborg¹² · Mathias W. Pletz¹³ · Andreas Hochhaus¹ · Thomas Ernst¹ · Paul La Rosée¹⁴

Received: 19 November 2019 / Accepted: 29 January 2020
© The Author(s) 2020

Abstract

Purpose Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a severe hyperinflammatory syndrome emerging from a deregulated immune response due to various triggers. In adults, systematic data are sparse, which is why recommendations on diagnosis and management have been adopted from pediatric guidelines. A nationwide clinical registry with associated consulting service as collaborative initiative of HLH-specialized pediatricians and hematologists was initiated to better characterize HLH in adults.

Methods Patients with proven or suspected HLH were registered by 44 institutions. Both HLH-2004 diagnostic criteria and the HScore (www.saintantoine.aphp.fr/score/) were used to confirm HLH diagnosis. Data referring to underlying disease, treatment, outcome, clinical presentation and laboratory findings were recorded.

Results The study included 137 patients and provides the first systematic data on adult HLH in Germany. Median age was 50 years with a wide range (17–87 years), 87 patients (63.5%) were male. Most common triggering diseases were infections in 61 patients (44.5%) and malignancies in 48 patients (35%). Virtually all patients had elevated ferritin concentrations, and 74% had peak concentrations greater than 10,000 µg/l. At time of analysis, 67 of 131 patients (51%) had died. Patients with malignancy-associated HLH had the shortest median survival (160 days), however no statistically significant difference between subgroups was observed ($p = 0.077$). Platelets under $20 \times 10^9/l$ and low albumin concentrations (< 20 g/l) were associated with poor overall and 30-day survival.

Conclusion Close multidisciplinary case consultation and cooperation is mandatory when treating adult HLH patients. Early contact with reference centers is recommended, especially in relapsing or refractory disease.

Keywords HLH · Hemophagocytic lymphohistiocytosis · Sepsis · Inflammation · Cytokine storm

Introduction

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a hyperinflammatory syndrome driven by excessive activation and stimulation of cytotoxic T-lymphocytes, natural killer T-cells and macrophages with subsequent cytokine storm and organ damage (Janka and Lehmborg 2014). In adults, this often fatal aberrant immune response most frequently is triggered by infections and malignancies, or a combination of these. Patients with long-term immunosuppression

are at increased risk to develop HLH (Ramos-Casals et al. 2014), as are patients with autoimmune/autoinflammatory disorders. By convention, and with impact on differential treatment, HLH in patients with autoimmune/autoinflammatory diseases is also called macrophage activation syndrome (MAS-HLH) (Emile et al. 2016). The wide spectrum of HLH-initiating conditions in adults is reflected by the term “acquired” or “secondary” HLH.

In contrast, primary HLH typically manifests in childhood, often has a family history, and is linked to mutations in genes involved in lymphocyte cytotoxicity. This includes PRF1, coding for perforin, or genes involved in the transport or exocytosis of perforin-containing lytic granules (Sepulveda and de Saint Basile 2017). Immunodeficiency

✉ Paul La Rosée
paul.larosee@sbk-vs.de

Extended author information available on the last page of the article

syndromes, commonly associated with albinism, also predispose to HLH (Henkes et al. 2015). Clinically, a triad consisting of prolonged fever, hepatosplenomegaly and pancytopenia is common. However, a number of endogenous (i.e., genetic predisposition, preexisting inflammation) and exogenous factors (i.e., immunosuppression, triggering disease) play a role in HLH pathogenesis (Brisse et al. 2016). The spectrum of possible underlying conditions and patient characteristics is reflected by distinct clinical presentations which also can mimic other diseases, making timely diagnosis challenging. Specifically, HLH often is indistinguishable from sepsis or autoinflammatory diseases (e.g., adult-onset Still disease). As a result, and despite a high index of suspicion, there is high likelihood for mis- or underdiagnosing HLH, especially in intensive care units (Lachmann et al. 2018). HLH diagnosis is based on the HLH-2004 diagnostic criteria established by the Histiocyte Society (summarized in Table 1) (Henter et al. 2007). Of note, these criteria were established in the pediatric setting along the HLH-1994 and HLH-2004 trial protocols including patients up to 18 years (Bergsten et al. 2017; Trottestam et al. 2011). According to HLH-2004 study criteria, HLH can be diagnosed in a patient with at least 5 of 8 diagnostic criteria and/or disease-causing mutations in HLH-related genes. Recently, adaptation of diagnostic criteria has been proposed by French investigators, considering the impact of graded parameters and of state of immune competence on diagnostic accuracy (Fardet et al. 2014). The diagnostic algorithm is available as web-based tool to calculate HLH probability (<https://saintantoine.aphp.fr/score/>).

Since HLH in adults is a rare and most probably under-reported syndrome, our current knowledge relies on case reports and series (Hayden et al. 2016; Ramos-Casals et al. 2014). Therefore, a clinical registry was initiated, aiming to better characterize and understand the spectrum of triggering

conditions and management of adult HLH in Germany. Screening and inclusion of patients was based on a clinical consulting service that was made public by the Onkopedia platform HLH-guideline (www.onkopedia.com) and via www.hlh-registry.org.

In this report, the first analysis of the registry including 137 patients ≥ 17 years is presented. A special focus was put on underlying diseases, clinical and laboratory findings, and potential prognostic factors.

Patients and Methods

This registry for adult hemophagocytic lymphohistiocytosis was launched in August 2010, with the aim to collect data on epidemiology, treatment, clinical and laboratory characteristics, and outcome of affected patients. Data collection was based on a clinical consulting service for adult patients with suspected or proven HLH. At the time of analysis (June 30th 2017), 156 patients with suspected or proven HLH had been enrolled by 44 medical institutions. Patients with confirmed HLH were reported primarily from hematology/oncology centers (38/44 centers). After informed consent, an online documentation form (available at www.hlh-registry.org) was used for initial data submission. In addition, medical records were reviewed to obtain further information on clinical course and treatment. Anonymized patient data were subsequently recorded in an online-based OpenClinica database (Waltham, MA, US).

To confirm HLH diagnosis, patients were evaluated using both the HLH-2004 criteria (Table 1) and the HScore (supplementary Table 1, online available at: <https://saintantoine.aphp.fr/score/>) to quantify the probability of having HLH (Fardet et al. 2014). Of a total of 156 enrolled patients, 129 patients (82.7%) were eligible for analysis on the basis of HLH-2004

Table 1 HLH-2004 diagnostic criteria according to (Henter et al. 2007)

At least one of either (1) or (2) must be fulfilled:	
(1) Molecular diagnosis consistent with HLH	
(2) At least 5 of the 8 following criteria:	
a. Fever	
b. Cytopenia of two or more lineages	Hemoglobin < 90 g/l, ANC < $1 \times 10^9/l$, Platelets < $100 \times 10^9/l$
c. Splenomegaly	
d. Hypertriglyceridemia and/or hypofibrinogenemia	Fasting triglycerides ≥ 3 mmol/l Fibrinogen < 1.5 g/l
e. Hyperferritinemia	Ferritin ≥ 500 μ g/l
f. Elevated sIL-2R (sCD25)	sIL-2R ≥ 2400 U/ml
g. Low or absent NK-cell activity	
h. Hemophagocytosis in bone marrow, spleen, or lymph node	

ANC absolute neutrophil count, sIL-2R soluble interleukin-2 receptor, NK-cell natural killer cell

diagnostic criteria (i.e., molecular diagnosis and/or at least five out of eight HLH criteria). Furthermore, we included eight additional patients who met four diagnostic criteria and reached HLH-probability of more than 90% according to the HScore. Thus, 137 of 156 patients (88%) were suitable for further analysis. A flow chart illustrating our approach is provided in the supplement (supplementary Fig. 1). According to the most likely triggering disease based on medical information, patients were categorized into four different subgroups for either malignancy-associated HLH, infection-associated HLH, MAS-HLH, or HLH due to an unknown trigger. In 20 patients with available blood or bone marrow samples, targeted perforin sequencing was performed.

Statistical analysis

Results are presented as median plus range, frequencies, or percentages. Overall survival was defined as time from date of diagnosis to date of death from any cause or date of last follow-up, respectively. Patients without available follow-up data were excluded from further analysis. Kaplan–Meier method was used to visualize median survival times, and the log-rank test was used to compare subgroups. Cox’s proportional hazards model was used for univariate and multivariate analyses. Variables with a p value <0.05 in univariate analysis were included in multivariate analysis to determine independent predictive factors. A backward stepwise selection procedure (Wald) was performed, with significance level for exclusion set at 0.1. All statistical tests were two-sided. p values <0.05 were considered statistically significant. Correlation between HLH-2004 diagnostic criteria and the HScore was analyzed using Pearson’s r . All statistical analyses were performed using IBM SPSS Version 24 (IBM Corp., Armonk, N.Y., US).

Genetic analysis

Genomic DNA was isolated from peripheral blood samples or bone marrow according to manufacturer instructions using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Coding exons of the perforin gene (PRF1) were amplified by polymerase chain reaction (PCR). Sanger sequencing was performed using the ABI 3500 Genetic Analyzer (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, US), mutation analysis was done using Mutation Surveyor software (SoftGenetics LLC., State College, PA, US).

Results

Patient characteristics

Of 137 eligible patients, 50 patients were female (36.5%) and 87 patients were male (63.5%). Median age at diagnosis was

50 years, ranging from 17 to 87 years. Information on time to diagnosis from date of first symptoms was available for 124 patients, with a median of 10 days (range 1–93 days). In 27 patients (21.8%), HLH diagnosis was made later than 21 days after first presentation. At onset of HLH, preceding immunosuppression (i.e., azathioprine treatment, cyclosporine in patients after allogeneic stem cell transplantation) was present in 58 of 128 patients (45.3%). For all patients enrolled ($n=156$), the HScore was calculated. There was a significant direct correlation between the HLH-2004 diagnostic criteria and the HScore ($R=0.75$, $p<0.001$), a scatter diagram is provided in Supplementary Fig. 2. One hundred and twenty-two of 137 patients (89%) eligible for further analysis had HScore values greater than 203 points, i.e., a probability for HLH of more than 90%.

Triggering diseases

The most frequent triggering diseases in our cohort were infections ($n=61$, 44.5% of all patients) and malignancies ($n=48$, 35%). In malignancy-associated HLH, hematologic neoplasia, in particular lymphomas of B-lymphoid origin represented the main cause. Myeloid disorders, e.g., acute myeloid leukemia, were seen in a minority ($n=7$, 5.1%). Active Herpes virus infections (i.e., evidence of viremia by PCR) such as EBV ($n=21$, 15.3%) or CMV ($n=4$, 2.9%) were most prevalent in infection-associated HLH. Six patients developed HLH due to viral infections after allogeneic stem cell transplantation (EBV, $n=5$; CMV, $n=1$). HIV infection was identified in 4 patients, of whom two had HIV/HHV8 co-infection. Bacterial infections were diagnosed in five patients (3.6%), while fungal infection was diagnosed in one patient. Visceral leishmaniasis was detected in three patients, of whom two had preceding immune-modulating treatments with adalimumab and tocilizumab, respectively. In 13 patients (9.5%) an infection was the likely triggering disease, as these patients presented with elevated procalcitonin and showed evidence for an infectious source (i.e., radiological evidence, infiltrates in radiography or CT scan), however no infectious agent was identified in this group. HLH due to autoimmune/autoinflammatory diseases (MAS-HLH) was diagnosed in 13 patients (9.5%), with adult-onset Still disease being predominant. In five patients, disease-causing mutations in HLH-related genes were identified. In 15 patients (10.9%), a trigger could not be identified. A detailed overview demonstrating the spectrum of etiologies is provided in Table 2.

Clinical presentation and laboratory findings

Clinical presentation in adult HLH included a variable combination of symptoms, though fever and splenomegaly were most common (in 98% and 86% of all patients,

Table 3). 82 of 133 patients (62%) fulfilled the clinical triad consisting of fever, splenomegaly and cytopenia of at least two lineages. Other common clinical findings included hepatomegaly (61% of patients), renal failure (47%), pulmonary symptoms such as respiratory insufficiency (33%), and neurological symptoms (31%). Based on laboratory parameters such as albumin, bilirubin, and transaminases, virtually all patients had liver dysfunction or damage, while 32 patients presented with bleeding complications or disseminated intravascular coagulation (DIC). Laboratory characteristics are presented in Table 4. 73% of the patients had cytopenia of at least two hematopoietic lineages. Nearly all patients (99%) had increased serum ferritin concentrations, with a median peak concentration of 30,281 $\mu\text{g/l}$. One-hundred of 135 patients (74%) showed peak values above 10,000 $\mu\text{g/l}$. Extreme ferritin concentrations ($> 50,000 \mu\text{g/l}$) were found in 42 patients (31%). Elevated concentrations of fasting triglycerides and soluble interleukin-2 receptor (sIL-2R) were documented in 70 and 94% of patients, respectively. Decreased fibrinogen concentrations were present in 41% of the patients. Hemophagocytosis in either bone marrow samples ($n = 79$) or lymph nodes ($n = 2$) was detected in 81 of 129 patients (63%).

Functional immune response tests were performed in a proportion of patients. NK-cell degranulation assays were carried out in 21 patients, with pathologic results in 9 (43%). Testing for signaling-lymphocytic-activation-molecule-associated protein (SAP) deficiency was done in 9 patients, a pathologic result was detected in one patient who was diagnosed with X-linked lymphoproliferative disease 1 (XLP-1). Reduced perforin expression was found in three of nine patients who underwent testing (33%), and subsequent genetic analysis in these patients revealed one homozygous (A91V) and one compound-heterozygous mutation (A91V/Q405X) in the perforin gene; in the third patient with reduced perforin expression a heterozygous perforin mutation (A91V) was found. In two more patients, genetic causes were unraveled: Griscelli syndrome type 2 and X-linked lymphoproliferative disease 2 (XLP-2), respectively. Patient characteristics are summarized in Supplementary Table 2.

In addition, targeted sequencing of the perforin gene was performed using blood or bone marrow samples from a total of 20 patients, revealing two patients (10%) carrying heterozygous A91V perforin mutations.

Treatment

Most patients received anti-inflammatory treatment using glucocorticosteroids (124 of 137 patients, 90.5%), either as monotherapy, in combination with other

Table 2 Underlying conditions

	n (%)
Malignant diseases	48 (35.0)
Myeloid	7 (5.1)
AML	3 (2.2)
CML	1 (0.7)
MDS/MPN overlap syndrome	3 (2.2)
B-Lymphoid	30 (21.9)
DLBCL	11 (8.0)
Intravascular large B-cell lymphoma	1 (0.7)
Hodgkin lymphoma	7 (5.1)
Mantle cell lymphoma	1 (0.7)
Marginal zone lymphoma	2 (1.5)
B-CLL	2 (1.5)
B-ALL	1 (0.7)
B-cell lymphoma (no further information)	5 (3.6)
T-lymphoid	10 (7.3)
Peripheral T-cell lymphoma	2 (1.5)
NK/T-cell lymphoma	2 (1.5)
T-ALL	1 (0.7)
NK-cell leukemia	1 (0.7)
Angioimmunoblastic T-cell lymphoma	2 (1.5)
Anaplastic large cell lymphoma	1 (0.7)
Enteropathy-associated T-cell lymphoma	1 (0.7)
Solid	1 (0.7)
Testicular-mixed tumor	1 (0.7)
Infections	61 (44.5)
Viral	39 (28.5)
EBV	21 (15.3)
EBV after allogeneic stem cell transplantation	5 (3.6)
CMV	4 (2.9)
CMV after allogeneic stem cell transplantation	1 (0.7)
CMV/EBV coinfection	3 (2.2)
H1N1/EBV coinfection	1 (0.7)
HHV6	1 (0.7)
HIV	2 (1.5)
HHV8/HIV coinfection	2 (1.5)
VZV	1 (0.7)
HSV	1 (0.7)
Influenza A	1 (0.7)
Parvovirus B19	1 (0.7)
Hantavirus	1 (0.7)
Bacterial	5 (3.6)
<i>Proteus</i> spp.	1 (0.7)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1 (0.7)
<i>Salmonella typhi</i>	1 (0.7)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	(0.7)
<i>Staphylococcus Epidermidis</i>	1 (0.7)
Fungal	1 (0.7)
<i>Histoplasma capsulatum</i>	1 (0.7)
Parasite	3 (2.2)
Leishmaniasis	3 (2.2)

Table 2 (continued)

	<i>n</i> (%)
Infection without documented pathogen	13 (9.5)
Autoimmune/inflammatory diseases	13 (9.5)
Adult-onset still disease	8 (5.8)
Rheumatoid arthritis	2 (1.5)
Systemic lupus erythematosus	1 (0.7)
Crohn's disease	1 (0.7)
ANCA negative vasculitis	1 (0.7)
Idiopathic	15 (10.9)
Total	137

Of 14 patients with malignancy-associated HLH, 12 also had EBV replication, one patient had CMV replication, and one patient had EBV replication and HIV infection. Percentages may not add to 100 because of rounding

AML acute myeloid leukemia, *CML* chronic myeloid leukemia, *MDS/MPN* myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm, *DLBCL* diffuse large B-cell lymphoma, *CLL* chronic lymphocytic leukemia, *ALL* acute lymphocytic leukemia, *EBV* Epstein-Barr virus, *CMV* cytomegalovirus, *HHV* human herpes virus, *HIV* human immunodeficiency virus, *VZV* varicella zoster virus, *HSV* herpes simplex virus, *ANCA* anti-neutrophil cytoplasmic antibody

immunosuppressive agents or as part of chemotherapy regimens such as CHOEP (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, etoposide, and prednisone) in cases of malignancy-associated HLH. Etoposide was administered in 70 patients (51.1%), intravenous polyvalent immunoglobulins were given in 63 patients (46.0%), and cyclosporine was used in 28 patients (20.4%). In four patients with refractory or relapsing HLH, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation was carried out. Rituximab was not only used as part of B-cell lymphoma chemotherapy, but

also as a treatment option in EBV infected patients. Of 37 patients, who had more than 2000 EBV copies/ml in whole blood samples (quantitative PCR), 22 (59.5%) received treatment with rituximab. Alemtuzumab (anti-CD52 antibody) or tocilizumab (anti-interleukin-6-receptor antibody) were used in three and two patients, respectively; anakinra, an interleukin-1-receptor antagonist, was applied in selected patients ($n = 7$). In three patients with refractory HLH, cytokine adsorption via column filtration (Cytosorb®) was successfully deployed as salvage therapy.

Outcome and prognostic factors

In 131 patients follow-up data for survival analysis were available, while six patients were lost to follow-up. Median follow-up time from diagnosis was 154 days, and median overall survival was 267 days. Patients with malignancy-associated HLH had the shortest median survival (160 days), followed by those with idiopathic HLH (248 days), infection-associated HLH (641 days), and MAS-HLH (not reached). However, there was no statistically significant difference between these subgroups ($p = 0.077$ using log-rank test). Figure 1 presents a Kaplan–Meier plot, showing overall survival of different subgroups. Overall, 67 of 131 patients died (51.1%); 27 patients (20.6%) died within 30 days from date of HLH diagnosis. Multiple organ failure was the most common cause of death. To identify possible prognostic factors for both overall and 30-day mortality, univariate and multivariate analyses were conducted. In univariate analysis, age over 50 years, low absolute neutrophil count, hemoglobin below 8.2 g/dl, platelet count below $20 \times 10^9/l$, ferritin concentration above 10,000 $\mu g/l$, albumin concentration below 20 g/l, and more than fivefold

Table 3 Clinical manifestations

	Number of patients	(%)
Fever	134/137	98
Splenomegaly	115/133	86
Triad of fever, splenomegaly, cytopenia	82/133	62
Cytopenia (at least two lineages)*	99/135	73
Neutropenia ($ANC < 1 \times 10^9/l$)	51/119	43
Anemia (Hemoglobin < 90 g/l)	97/135	72
Thrombocytopenia (Platelets $< 100 \times 10^9/l$)	111/135	82
Hemophagocytosis (bone marrow, spleen, or lymph node)	81/129	63
Hepatomegaly	63/103	61
Renal involvement, acute renal failure	52/111	47
Neurological symptoms	41/131	31
Bleeding complications, manifest DIC	44/136	32
Pulmonary involvement, respiratory insufficiency	40/121	33
Peripheral lymphadenopathy	38/116	33

ANC absolute neutrophil count, *DIC* disseminated intravascular coagulation

* $ANC < 1 \times 10^9/l$; Hemoglobin < 90 g/l; Platelets $< 100 \times 10^9/l$

Table 4 Laboratory findings. If not specifically marked, all data are presented using frequencies; corresponding percentages are presented in parentheses

	Overall	M-HLH	I-HLH	MAS-HLH	Idiopathic
Number of patients	137	48	61	13	15
Median age in years (range)	50 (17–87)	60 (18–87)	43 (17–71)	40 (18–78)	55 (19–81)
Male (<i>n</i>)	87	32	40	7	8
Female (<i>n</i>)	50	16	21	6	7
HLH 2004 criteria					
Fever	134/137 (98)	47/48 (98)	60/61 (98)	13/13 (100)	14/15 (93)
Splenomegaly	115/133* (86)	42/45 (93)	48/60 (80)	12/13 (92)	13/15 (87)
Cytopenias (of at least two lineages)	99/135 (73)	42/48 (88)	44/59 (75)	5/13 (38)	8/15 (53)
Neutropenia (ANC < 1 × 10 ⁹ /l)	51/119 (43)	18/42 (43)	23/50 (46)	3/12 (25)	7/15 (47)
Anemia (Hemoglobin < 90 g/l)	97/135 (72)	39/48 (81)	40/59 (68)	8/13 (62)	10/15 (67)
Thrombocytopenia (Platelets < 100 × 10 ⁹ /l)	111/135 (82)	45/48 (94)	52/59 (88)	6/13 (46)	8/15 (53)
Hypertriglyceridemia (> 3 mmol/l)	86/123 (70)	36/44 (82)	35/54 (65)	8/12 (67)	7/13 (54)
Hypofibrinogenemia (< 1.5 g/l)	52/127 (41)	20/44 (45)	23/56 (41)	3/12 (25)	6/15 (40)
Ferritin elevation (> 500 µg/l)	134/135 (99)	47/48 (98)	59/59 (100)	13/13 (100)	15/15 (100)
Ferritin peak > 10,000 µg/l	100/135 (74)	37/48 (77)	45/59 (76)	9/13 (69)	9/15 (60)
Ferritin peak > 50,000 µg/l	42/135 (31)	11/48 (23)	24/59 (41)	4/13 (31)	3/15 (20)
Ferritin at initial presentation, Median (µg/l) range	6,747 479–143,210	6,696 479–70,100	11,782 563–143,210	4,175 1,431–15,733	6,373 2,175–50,000
Ferritin peak values, Median (µg/l) range	30,281 479–2,632,220	24,404 479–526,259	39,504 1,254–2,632,220	30,554 1,333–186,833	16,146 3,855–188,620
Soluble CD25 (sIL-2R) (> 2,400 U/ml)	103/109 (94)	40/41 (98)	46/47 (98)	7/11 (64)	10/10 (100)
Median (U/ml) range	7,500 1,194–108,640	11,298 1,194–108,640	7,500 2,125–70,300	5,080 1,333–26,660	7,015 2,472–30,000
Low or absent NK-cell activity	9/21 (43)	2/2 (100)	6/16 (38)	0/2 (0)	1/1 (100)
Low NK-cell count (FACS)	29/44 (66)	7/11 (64)	18/26 (69)	2/4 (50)	2/3 (67)
Hemophagocytosis [†]	81/129 (63)	24/44 (55)	35/57 (61)	8/13 (62)	14/15 (93)
Other					
Elevated alanine aminotransferase (ALAT)	111/131 (85)	38/48 (79)	50/56 (89)	11/13 (85)	12/14 (86)
Elevated ALAT > 2.5 × ULN	75/131 (57)	20/48 (42)	39/56 (70)	8/13 (62)	8/14 (57)
Elevated aspartate aminotransferase (ASAT)	123/133 (92)	43/47 (91)	54/58 (93)	12/13 (92)	14/15 (93)
Elevated ASAT > 2.5 × ULN	98/133 (74)	32/47 (68)	47/58 (81)	8/13 (62)	11/15 (73)
Elevated total bilirubin level	90/132 (68)	33/48 (69)	45/57 (79)	5/13 (38)	7/14 (50)
Elevated total bilirubin level > 2.5 × ULN	59/132 (45)	22/48 (46)	30/57 (53)	3/13 (23)	4/14 (29)
Hypoalbuminemia (< 35 g/l)	109/111 (98)	39/40 (98)	48/49 (98)	8/8 (100)	14/14 (100)
Albumin < 20 g/l	39/111 (35)	15/40 (38)	19/49 (39)	3/8 (38)	2/14 (14)
Elevated lactate dehydrogenase (LDH)	126/133 (95)	45/47 (96)	54/58 (93)	13/13 (100)	14/15 (93)
Elevated LDH > 2.5 × ULN	97/133 (73)	31/47 (66)	46/58 (79)	8/13 (62)	12/15 (80)
Elevated C-reactive protein level	129/132 (98)	46/48 (96)	56/56 (100)	13/13 (100)	14/15 (93)

M-HLH malignancy-associated HLH, *I-HLH* infection-associated HLH, *MAS-HLH* macrophage activation syndrome, *ANC* absolute neutrophil count, *sIL-2R* soluble interleukin-2 receptor, *NK-cell* natural killer cell, *FACS* Fluorescence-activated cell sorting, *ULN* upper limit of normal

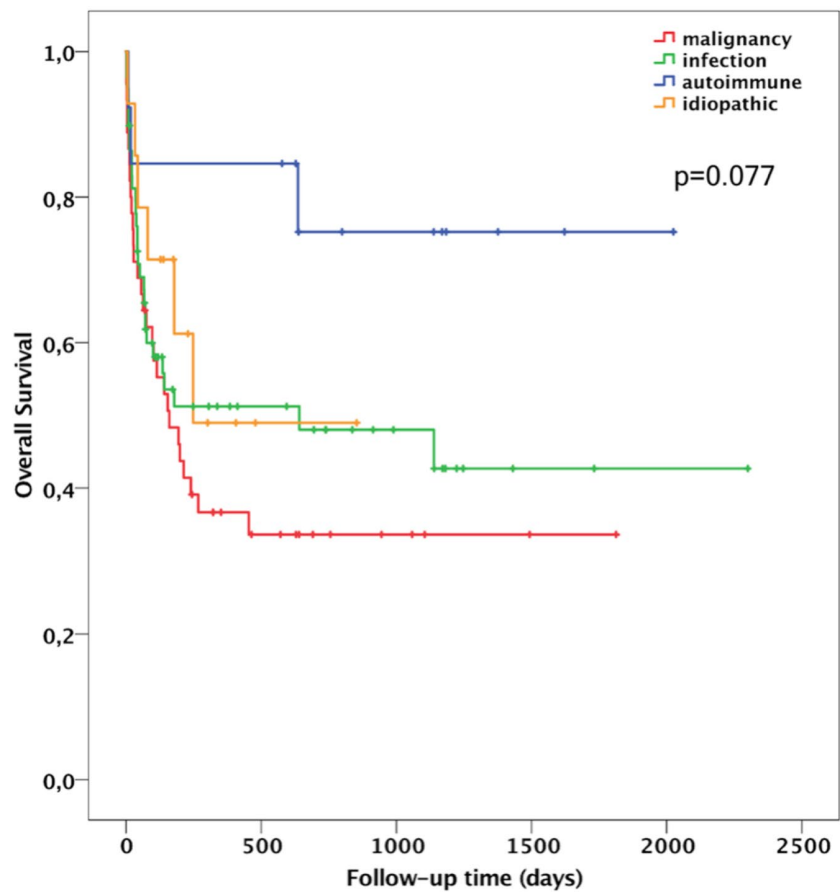
*One patient had splenectomy prior to HLH diagnosis

[†]Assessed morphologically in either bone marrow, spleen, or lymph node

increased bilirubin concentration were associated with a poor outcome (Table 5). By multivariate analysis, age over 50 years (HR 1.811; 95% CI 1.020–3.217; $p = 0.043$), absolute neutrophil count below $1 \times 10^9/l$ (HR 1.861; 95% CI 1.056 – 3.281; $p = 0.032$), platelet count below $20 \times 10^9/l$ (HR 2.243; 95% CI

1.210 – 4.158; $p = 0.010$) and albumin concentration below 20 g/l (HR 2.606; 95% CI 1.490–4.561; $p = 0.001$) were independent predictors of poor overall survival (Table 6). Repeating the analysis for death within 30 days after HLH diagnosis, low absolute neutrophil count, platelets below $20 \times 10^9/l$,

Fig. 1 Kaplan–Meier plot showing overall survival for different HLH subgroups. Patients with malignancy-associated HLH had the shortest median survival time, although no statistically significant difference between the subgroups was observed (log-rank test: $p = 0.077$)



Patients at risk						
Malignancy	45	10	4	1	0	0
Infection	59	17	9	2	1	0
Autoimmune	13	11	5	2	1	0
Idiopathic	14	1	0	0	0	0
Total	131	39	18	5	2	0

and albumin below 20 g/l were associated with early death in univariate analysis. Multivariate analysis revealed platelets below $20 \times 10^9/l$ (HR 3.446; 95% CI 1.471–8.073; $p = 0.004$) and albumin below 20 g/l (HR 2.531; 95% CI 1.067–6.005; $p = 0.035$) to be independent predictors for early death within 30 days after HLH diagnosis.

Discussion

Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) constitutes a severe hyperinflammatory syndrome emerging from a deregulated immune system due to various triggering conditions. Despite being first described back in 1928 by Tschistowitsch and Bykowa as systemic reticulosis

(presumably the first report ever) (Tschistowitsch and Bykowa 1928) and 1939 by Scott and Robb-Smith as histiocytic medullary reticulosis (first report in english) (Bodley Scott and Robb-Smith 1939), HLH in adult patients was neglected for a long time. Increasing awareness developed during the past decade resulting in a growing number of publications (Arca et al. 2015; Bachier Rodriguez and Ritchie 2016; Berliner et al. 2016; Delavigne et al. 2014; Fardet et al. 2010; Halacli et al. 2016; Li et al. 2014, 2015; Machaczka et al. 2011; Otrrock and Eby 2015; Park et al. 2012; Ramos-Casals et al. 2014; Riviere et al. 2014; Schram et al. 2016; Tamamyan et al. 2016). However, only few case series on adult HLH are available and essential parts of current management standards for adult patients (i.e., diagnostic criteria, treatment protocols) are adapted from

Table 5 Univariate analysis of possible predictors of mortality

Prognostic factor	Overall			Death within 30 days		
	HR	95% CI	Significance	HR	95% CI	Significance
Age > 50 years	1.994	1.214–3.276	0.006*	1.838	0.841–4.014	0.127
Gender male vs. female	1.032	0.628–1.695	0.902	0.737	0.345–1.574	0.430
Neutrophils < 1*10 ⁹ /l	1.970	1.162–3.341	0.012*	2.615	1.108–6.171	0.028*
Hemoglobin < 8.2 g/dl	1.750	1.070–2.862	0.026*	1.471	0.682–3.170	0.325
Platelets < 20*10 ⁹ /l	2.133	1.270–3.583	0.004*	3.646	1.711–7.768	0.001*
Fibrinogen ≤ 1.5 g/l	1.042	0.631–1.723	0.872	0.633	0.273–1.466	0.286
Ferritin > 10,000 µg/l	2.025	1.034–3.965	0.040*	1.216	0.491–3.012	0.673
Presence of hemophagocytosis	0.674	0.407–1.116	0.125	0.654	0.298–1.433	0.288
Albumin < 20 g/l	2.318	1.386–3.877	0.001*	2.868	1.273–6.461	0.011*
More than fivefold increased Bilirubin	2.272	1.395–3.700	0.001*	1.576	0.741–3.352	0.238

HR hazard ratio, CI confidence interval

*Indicates statistically significant values

Table 6 Multivariate analysis

	Hazard ratio	95% CI	Significance
Overall survival			
Age > 50 years	1.811	1.020–3.217	0.043*
Neutrophils < 1*10 ⁹ /l	1.861	1.056–3.281	0.032*
Hemoglobin < 8.2 g/dl	1.133	0.614–2.090	0.689
Platelets < 20*10 ⁹ /l	2.243	1.210–4.158	0.010*
Ferritin > 10,000 µg/l	1.381	0.645–2.960	0.406
Albumin < 20 g/l	2.606	1.490–4.561	0.001*
More than fivefold increased bilirubin	1.323	0.693–2.526	0.396
Death within 30 days			
Neutrophils < 1*10 ⁹ /l	1.746	0.708–4.304	0.226
Platelets < 20*10 ⁹ /l	3.446	1.471–8.073	0.004*
Albumin < 20 g/l	2.531	1.067–6.005	0.035*

CI Confidence interval

*Indicates statistically significant values

pediatric HLH guidelines. Therefore, a national registry including an associated consulting service was established to collect cases of adult HLH patients and contribute to a better understanding and improved clinical management of this rare and still often fatal syndrome. This registry is part of a campaign to sensitize clinicians in Germany for potential HLH.

HLH in adults emerges from various underlying conditions, as demonstrated in an overview by Ramos-Casals (Ramos-Casals et al. 2014). Considering the data of almost 2200 patients from published case series, infections and malignancies were the most common triggers, followed by autoimmune/autoinflammatory diseases. HLH can also arise during or after chemotherapy, or in the context of organ or

stem cell transplantation (Delavigne et al. 2014; Lehmborg et al. 2015).

Of note, underlying conditions such as infections or malignancies alone can lead to the clinical picture of HLH if not adequately controlled; besides, infections may also act as trigger in patients with preexisting autoinflammatory or malignant disorders.

Most recently, reports of cytokine release syndromes due to cellular and bispecific T-cell engaging immunotherapies came into focus, as they share pathophysiologic aspects of HLH and present with a similar clinical phenotype (Lee et al. 2014; Teachey et al. 2013). In our cohort, the triggering entities were in line with the literature, with infections (44.5%) and malignancies (35%) being most frequent. In malignancy-triggered HLH, lymphoma, especially of B-lymphoid origin, was the predominant trigger. This is in contrast to Asian countries, where T-cell lymphoma, in accordance with their higher prevalence, are the most common lymphoma subtype in malignancy associated HLH (Han et al. 2007; La Rosee 2015a; Li et al. 2014).

In infection-associated HLH, viral infections, especially with herpes viruses such as EBV or CMV, were most common. In several patients, bacterial, fungal, or parasitic infections were identified (Table 2). Interestingly, in three patients visceral leishmaniasis was the triggering disease. Two of the affected patients were immunosuppressed by previous treatment with biologicals. In one of three patients, leishmaniasis was diagnosed by polymerase chain reaction (PCR), while bone marrow morphology was negative for intracellular *Leishmania* amastigotes. Therefore, including leishmania PCR in the diagnostic bone marrow workup is strongly recommended, to safely protect patients from harmful immunosuppression. Specific treatment using liposomal amphotericin is available (Bode et al. 2014). In our registry, one patient was refugee from Albania, and two patients were

German tourists returning from Mallorca and Crete. For risk assessment of potential leishmania exposition, World Health Organization (WHO) maps of endemic distribution can be accessed via <https://www.who.int>. Collaboration with clinical infectiologists is mandatory.

Leishmania-associated HLH demonstrates how important it is to identify the underlying disease, and not to be satisfied with the diagnosis “HLH”. Experience in a French pediatric HLH-series, where three children received etoposide with the diagnosis HLH of unknown origin, and the clinical course of one of our registry patients, who received etoposide after Leishmania was excluded by bone marrow morphology only (without PCR-testing), highlights the risk of treating HLH according to standard protocols without considering specific treatment of the triggering disease. This can also be challenging when lymphomas triggering HLH are masked by inflammatory infiltrates in tissue samples from lymph node, liver, spleen or skin, preventing the pathologist from detecting the malignant tissue component. It is therefore pivotal to carry on sequential diagnostic reassessment by imaging studies, laboratory tests and tissue biopsies along with ongoing treatment. In some cases, splenectomy has been shown to demask lymphomas despite non-informative imaging studies including PET-scan (Jing-Shi et al. 2015).

In general, HLH treatment is based upon three columns: (a) immunosuppression using dexamethasone \pm polyvalent immunoglobulins and—if needed—more aggressive immune cell depletion using etoposide, anti-thymocyte globulin or alemtuzumab to interrupt pathologic immune activation, (b) classic measures of intensive care medicine to sustain organ function and prevent severe bleeding, and (c) specific trigger-directed therapy, i.e., chemotherapy, antimicrobial agents or cytokine neutralization. Treatment strategies in adults encompass main components adapted from protocols developed for the control of primary HLH in children (i.e., HLH-94 and HLH-2004 protocol), but are tailored to the individual patient, depending on HLH severity and the underlying trigger (La Rosee 2015b). Upcoming strategies include more specific therapies [i.e., antibodies such as tocilizumab (Teachey et al. 2013), the interferon-gamma antibody emapalumab (Jordan et al. 2015), small molecules such as the Jak1/2-inhibitor ruxolitinib (La Rosee 2016; Sin and Zangardi 2017) or cytokine adsorption, which was successfully used in three of our patients. The latter treatment might be useful to bridge the time from cytokine-dependent organ failure, precluding cytotoxic treatment, to definitive causative treatment (Frimmel et al. 2014; Greil et al. 2017). The intensity of immunosuppression in the pediatric HLH-1994 protocol is neither suitable nor required in the majority of adult HLH patients (Bergsten et al. 2017; Ehl et al. 2018). It seems rather advisable to avoid prolonged immunosuppression, in particular to reduce the risk of subsequent infections. Fever episodes after HLH-directed immunosuppression

require careful evaluation for potential secondary infections to avoid harming HLH-salvage treatments.

Primary clinical presentation in our cohort was variable. Besides a triad consisting of fever, hepatosplenomegaly, and cytopenia (62% of our patients), patients presented with renal failure, liver dysfunction (i.e., elevated bilirubin, low albumin, coagulation disorder), neurological symptoms (impaired consciousness, seizures), or bleeding complications. Of note, histological or cytological proof of hemophagocytosis is not necessarily required for diagnosing HLH despite being the eponymous feature. In several studies hemophagocytosis was missing in up to 40% of the patients (Otrock and Eby 2015; Riviere et al. 2014). In our cohort, only 63% of the patients had hemophagocytosis according to assessment of the respective pathologist. On the other hand, hemophagocytosis may also appear in sepsis or rheumatologic disorders, reducing its specificity for HLH (Gupta et al. 2008). Perhaps more rigorous morphological criteria as proposed by Gars et al. might help to differentiate between HLH and other inflammatory conditions. In this study on 78 patients with or without HLH, HLH was strongly associated with hemophagocytosis of granulocytes, nucleated erythrocytes and at least one hemophagocyte engulfing multiple nucleated cells (Gars et al. 2018). Future studies should verify these findings and its feasibility in evaluation of potential HLH.

Diversity of clinical pictures in adult HLH often leads to delayed diagnosis and presumably a high number of unreported cases, as most of the aforementioned symptoms are found in a variety of other diseases (Lachmann et al. 2018). In the analysis of our data, median time to diagnosis was 10 days. However, in about 20% of the patients, time to diagnosis was longer than 3 weeks, highlighting the difficulties in recognizing HLH in due time. Red flags are persisting fever despite broad antibiotic therapy and cytopenia, or a sepsis-like clinical picture, without detected pathogen and only poor response to anti-infective treatment.

Highly elevated ferritin concentrations are a hallmark in HLH. In our study, virtually all patients had elevated ferritin (99%), and 74% of the patients had peak concentrations above 10,000 $\mu\text{g/l}$, while 31% even had a ferritin peak concentration above 50,000 $\mu\text{g/l}$. These findings are in accordance with other studies suggesting that ferritin concentrations above 2000 $\mu\text{g/l}$ might be more specific than the threshold used in the HLH-2004 criteria (Fardet et al. 2010; Otrock and Eby 2015; Parikh et al. 2014; Schram et al. 2016). Therefore, extremely high ferritin in the absence of a known iron metabolism disorder, hemolysis or multiple transfusions should lead to evaluation of possible HLH, despite limited specificity in adults (Allen et al. 2008; Otrock et al. 2017; Schram et al. 2015). Besides ferritin, soluble interleukin-2 receptor is a useful diagnostic and monitoring tool, which also might have prognostic

significance (Hayden et al. 2017; Zhang et al. 2011b). A high ratio between sIL-2R and ferritin has been suggested as a potential marker for lymphoma-associated HLH and might help in diagnosing patients with yet undetected lymphoma (Lin et al. 2017; Tsuji et al. 2014). Based on the published literature and the experience from our registry we strongly recommend extensive search for possible lymphoma in HLH patients presenting with markedly elevated sIL-2R levels.

In this context, the HScore may be a valuable add-on tool for clinicians if HLH is suspected. The score was developed by a French working group in 2014 to assess the probability of having reactive hemophagocytic syndrome, and to distinguish HLH from other medical conditions such as sepsis (Fardet et al. 2014). Free online availability, graduation of laboratory parameters, and exclusion of elaborate tests, e.g., NK-cell activity, are main advantages of the score. In our cohort, we found a strong correlation between the HScore and HLH-2004 criteria ($r=0.75$, $p<0.001$), and 89% of the patients had a probability of more than 90% for HLH according to the HScore (Supplementary Fig. 2). As its calculation is easy and only takes a few minutes, the use of the HScore in addition to HLH-2004 criteria is recommended when evaluating patients with suspected HLH.

NK cell activity was tested in a proportion of our patients. Yet, functional testing (i.e., degranulation or expression assays) may only be advisable in selected patients, i.e., in young male patients with EBV-associated HLH, HLH-relapse or in patients with suspected primary immunodeficiency (i.e., albinism) (Lehmborg and Ehl 2013). If pathologic results are found, a subsequent genetic analysis is suggested, not to miss cases with late-onset hereditary disease. Previous studies demonstrated that mutations in HLH-predisposing genes are present in up to 10% of adult patients with HLH (Wang et al. 2014; Zhang et al. 2011a). In our registry, five patients showed HLH-associated gene mutations—a number possibly underestimating the true value since only a proportion of patients was tested. Besides known disease-causing mutations, monoallelic mutations in HLH-related genes have been described in affected patients, however their impact on HLH development is not fully clear. In a report from the Italian HLH registry, Cetica et al. found monoallelic mutations in 43 of 426 patients analyzed (10.1%), and postulated a potential influence on HLH pathogenesis (Cetica et al. 2016). Of note, the monoallelic perforin A91V mutation occurs in up to 9% of healthy individuals and, as the cumulative incidence of HLH is much lower, cannot be regarded as genetically causative for HLH development (Busiello et al. 2006; Zur Stadt et al. 2004).

Despite advances in treatment strategies, the prognosis in adult HLH is still poor. In previous analyses, HLH mortality rates up to 75% were reported (Parikh et al. 2014; Schram et al. 2016; Shabbir et al. 2011). In our cohort, the overall

mortality rate was 51% (67/131). According to various studies, patients with malignancy-associated HLH have the worst prognosis (Machaczka et al. 2011; Otrrock and Eby 2015; Parikh et al. 2014; Shabbir et al. 2011; Tamamyian et al. 2016). An overview provided by Daver et al. found a median survival time between 1.2 and 2.4 months for patients with malignancy-associated HLH (Daver et al. 2017). Accordingly, patients with underlying malignancy had the shortest median survival in our cohort, whereas patients with non-malignancy HLH tended to have a better prognosis, although there was no statistical significance (Fig. 1).

Several adverse prognostic factors such as male sex, higher age, malignancy, low platelet counts, or low albumin have been described in adult HLH (Arca et al. 2015; Li et al. 2014; Oto et al. 2015; Otrrock and Eby 2015; Parikh et al. 2014). In our study, age above 50 years, neutrophil count less than $1 \times 10^9/l$, platelets under $20 \times 10^9/l$, and albumin under 20 g/l predicted a poor overall survival. These prognostic factors, together with underlying trigger and the extent of laboratory alterations, might help to classify HLH patients into different risk groups. This will allow tailoring HLH-directed and adjusting trigger-directed therapy, i.e., the early use of etoposide in severe HLH cases or consolidation with autologous stem cell transplantation in patients with lymphoma-associated HLH.

Altogether, our study includes a relatively large number of patients from 44 different institutions and thus currently provides the best overview on HLH in adults in Germany. The major limitation arises from retrospective data acquisition and analysis.

HLH in adults is clinically highly heterogeneous with patients presenting in virtually all subdisciplines depending on initial symptoms and etiology. With increasing age, lymphoma becomes the most prevalent HLH-trigger, yet histologic proof of lymphoma often is masked by HLH-associated lymphoproliferation. High suspicion and relentless search for the underlying disease together with interdisciplinary diagnostics and care are cornerstones for reversing the dismal prognosis of HLH. Further cooperative research is necessary to systematically study this rare syndrome and to define optimal treatment algorithms, including novel targeted therapies (i.e., biologic agents).

Acknowledgements Open Access funding provided by Projekt DEAL. Sebastian Birndt was supported by the Jena Interdisciplinary Centre of Clinical Research (IZKF). The HLH-registry was funded by Grant 2014 KN 0024 of the Thüringer Aufbaubank.

Compliance with ethical standards

Conflict of interest The authors declare no conflicts of interest.

Ethical approval This study was approved by the ethics committee of the Friedrich-Schiller University Jena (3728–03/13) and carried out in

accordance with the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. Written informed consent was obtained from patients before enrollment, genetic analysis, and data entry.

Open Access This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License, which permits use, sharing, adaptation, distribution and reproduction in any medium or format, as long as you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons licence, and indicate if changes were made. The images or other third party material in this article are included in the article's Creative Commons licence, unless indicated otherwise in a credit line to the material. If material is not included in the article's Creative Commons licence and your intended use is not permitted by statutory regulation or exceeds the permitted use, you will need to obtain permission directly from the copyright holder. To view a copy of this licence, visit <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>.

Appendix: Participating centers

Universitätsklinikum Aachen—J. Panse, B. Voss, D. Goy.
Klinikum Augsburg—K. Hirschbühl.
Charité – Universitätsmedizin Berlin, Campus Virchow-Klinikum—O. Penack.
Vivantes Auguste-Viktoria-Klinikum Berlin—M. Müller, H. Stocker.
Evangelisches Klinikum Bethel, Bielefeld—F. Weißinger.
Medizinische Universitätsklinik Knappschaftskrankenhaus Bochum—R. Schroers.
Klinikum Chemnitz—R. Herbst, A. Morgner.
Krankenhaus Dornbirn—W. Bair.
Klinikum Dortmund—M. Unnewehr.
HELIOS Klinikum Erfurt—H. Sayer.
Universitätsklinikum Erlangen—S. Krause, E. Hofmann.
Klinikum Esslingen—M. Geißler.
Klinikum Frankfurt Höchst—F. Scholten.
Universitätsklinikum Freiburg—S. Ehl, F. Röther.
Universitätsklinikum Gießen—F. Ohliger, J. Trauth.
Universitätsmedizin Göttingen—D. Burghardt.
Universitätsmedizin Greifswald—M. Lerch, C. Hirt.
Universitätsklinikum Halle (Saale)—T. Weber.
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf—S. Schliffke, Christina Dicke.
Klinikum Heidenheim—M. Müller.
Universitätsklinikum Schleswig-Holstein Kiel—M. Ritgen, D. Schewe.
Universitätsklinikum Köln—S. Krämer.
St. Marien- und St. Anastiftskrankenhaus Ludwigshafen—P. Meier.
Universitätsmedizin Mainz—P. Wölflinger.
Städtisches Klinikum München Schwabing—M. Starck.
Klinikum der Universität München, Standort Großhadern—M. Subklewe, V. Bücklein.
Rotkreuzklinikum München—M. Hentrich.

Gemeinschaftspraxis für Hämatologie und Onkologie Münster—R. Liersch.
Universitätsklinikum Münster—B. Baumgarten, A. Schulze, M. Mohr.
Klinikum Nürnberg Nord—S. Dressler.
Klinikum Ernst von Bergmann Potsdam—G. Maschmeyer, F. Rothmann.
Krankenhaus Barmherzige Brüder Regensburg—J. Braess.
Universitätsklinikum Regensburg—T. Lange, M. Grube, M. Fante.
Universitätsmedizin Rostock—D. Gläser, J. Lakner, M. Bärenklau.
Klinikum Sindelfingen-Böblingen—M. Ritter.
Universitätsklinikum Tübingen—R. Riessen, M. Haap.
Universitätsklinikum Ulm – A. Viardot.
Schwarzwald-Baar Klinikum Villingen-Schwenningen—M. Henkes.
Klinikum Wels-Grieskirchen—S. Burgstaller.
HELIOS Dr. Horst Schmidt Kliniken Wiesbaden—N. Frickhofen, B. Jung.
Rems-Murr-Kliniken Winnenden—S. Parmentier.
Klinikum Wolfsburg—S. Neumann.
Heinrich-Braun-Klinikum Zwickau—S. Graupner.

References

- Allen CE, Yu X, Kozinetz CA, McClain KL (2008) Highly elevated ferritin levels and the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatric Blood Cancer* 50:1227–1235. <https://doi.org/10.1002/pbc.21423>
- Arca M et al (2015) Prognostic factors of early death in a cohort of 162 adult haemophagocytic syndrome: impact of triggering disease and early treatment with etoposide. *Br J Haematol* 168:63–68. <https://doi.org/10.1111/bjh.13102>
- Bachier Rodriguez L, Ritchie EK (2016) A case series of adult secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis treated at weill cornell medical college. *Blood* 128:4874–4874
- Bergsten E et al (2017) Confirmed efficacy of etoposide and dexamethasone in HLH treatment: long-term results of the cooperative HLH-2004 study. *Blood* 130:2728–2738. <https://doi.org/10.1182/blood-2017-06-788349>
- Berliner N, Kurra C, Chou D (2016) CASE RECORDS of the MASSACHUSETTS GENERAL HOSPITAL. Case 1–2016. An 18-year-old man with fever abdominal pain, and thrombocytopenia. *N Engl J Med* 374:165–173. <https://doi.org/10.1056/NEJMcpc1501306>
- Bode SF et al (2014) Hemophagocytic lymphohistiocytosis in imported pediatric visceral leishmaniasis in a nonendemic area. *J Pediatr* 165(147–153):e141. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2014.03.047>
- Bodley Scott R, Robb-Smith AHT (1939) Histiocytic medullary reticulosis. *The Lancet* 234:194–198. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(00\)61951-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(00)61951-7)
- Brisse E, Wouters CH, Matthys P (2016) Advances in the pathogenesis of primary and secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis: differences and similarities. *Br J Haematol* 174:203–217. <https://doi.org/10.1111/bjh.14147>

- Busiello R, Fimiani G, Miano MG, Arico M, Santoro A, Ursini MV, Pignata C (2006) A91V perforin variation in healthy subjects and FHLH patients. *Int J Immunogenet* 33:123–125. <https://doi.org/10.1111/j.1744-313X.2006.00582.x>
- Cetica V et al (2016) Genetic predisposition to hemophagocytic lymphohistiocytosis: report on 500 patients from the Italian registry. *J Allergy Clin Immunol* 137:188–196 e184. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2015.06.048>
- Daver N et al (2017) A consensus review on malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Cancer* 123:3229–3240. <https://doi.org/10.1002/cncr.30826>
- Delavigne K et al (2014) Hemophagocytic syndrome in patients with acute myeloid leukemia undergoing intensive chemotherapy. *Haematologica* 99:474–480. <https://doi.org/10.3324/haematol.2013.097394>
- Ehl S et al (2018) Recommendations for the use of etoposide-based therapy and bone marrow transplantation for the treatment of HLH: consensus statements by the HLH steering committee of the histiocyte society. *J Allergy Clin Immunol Pract* 6:1508–1517. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.05.031>
- Emile JF et al (2016) Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages. *Blood* 127:2672–2681. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-01-690636>
- Fardet L et al (2010) Reactive haemophagocytic syndrome in 58 HIV-1-infected patients: clinical features, underlying diseases and prognosis. *Aids* 24:1299–1306. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328339e55b>
- Fardet L et al (2014) Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol* 66:2613–2620. <https://doi.org/10.1002/art.38690>
- Frimmel S, Schipper J, Henschel J, Yu TT, Mitzner SR, Koball S (2014) First description of single-pass albumin dialysis combined with cytokine adsorption in fulminant liver failure and hemophagocytic syndrome resulting from generalized herpes simplex virus 1 infection. *Liver Transpl* 20:1523–1524. <https://doi.org/10.1002/lt.24005>
- Gars E, Purington N, Scott G, Chisholm K, Gratzinger D, Martin BA, Ohgami RS (2018) Bone marrow histomorphological criteria can accurately diagnose hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Haematologica* 103:1635–1641. <https://doi.org/10.3324/haematol.2017.186627>
- Greil C, Roether F, La Rosee P, Grimbacher B, Duerschmied D, Warnatz K (2017) Rescue of cytokine storm due to h1h by hemoadsorption in a CTLA4-deficient patient. *J Clin Immunol* 37:273–276
- Gupta A, Weitzman S, Abdelhaleem M (2008) The role of hemophagocytosis in bone marrow aspirates in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 50:192–194. <https://doi.org/10.1002/pbc.21441>
- Halacli B et al (2016) Investigation of hemophagocytic lymphohistiocytosis in severe sepsis patients. *J Crit Care* 35:185–190. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.04.034>
- Han AR et al (2007) Lymphoma-associated hemophagocytic syndrome: clinical features and treatment outcome. *Ann Hematol* 86:493–498. <https://doi.org/10.1007/s00277-007-0278-6>
- Hayden A et al (2017) Soluble interleukin-2 receptor is a sensitive diagnostic test in adult HLH. *Blood Adv* 1:2529–2534. <https://doi.org/10.1182/bloodadvances.2017012310>
- Hayden A, Park S, Giustini D, Lee AY, Chen LY (2016) Hemophagocytic syndromes (HPSs) including hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in adults: a systematic scoping review. *Blood Rev* 30:411–420. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2016.05.001>
- Henkes M, Finke J, Warnatz K, Ammann S, Stadt UZ, Janka G, Brugger W (2015) Late-onset hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) in an adult female with Griscelli syndrome type 2 (GS2). *Ann Hematol* 94:1057–1060. <https://doi.org/10.1007/s00277-014-2284-9>
- Henter JI et al (2007) HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer* 48:124–131. <https://doi.org/10.1002/pbc.21039>
- Janka GE, Lehmborg K (2014) Hemophagocytic syndromes—an update. *Blood Rev* 28:135–142. <https://doi.org/10.1016/j.blre.2014.03.002>
- Jing-Shi W, Yi-Ni W, Lin W, Zhao W (2015) Splenectomy as a treatment for adults with relapsed hemophagocytic lymphohistiocytosis of unknown cause. *Ann Hematol* 94:753–760. <https://doi.org/10.1007/s00277-014-2276-9>
- Jordan M et al (2015) A novel targeted approach to the treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) with an anti-interferon gamma (IFN γ) monoclonal antibody (mAb), NI-0501: first results from a Pilot phase 2 study in children with primary HLH. *Blood* 126:LBA-3–LBA-3
- La Rosee P (2015a) First prospective clinical trial in adult HLH. *Blood* 126:2169–2171. <https://doi.org/10.1182/blood-2015-09-666503>
- La Rosee P (2015b) Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Hematol Am Soc Hematol Educ Prog* 2015:190–196. <https://doi.org/10.1182/asheducation-2015.1.190>
- La Rosee P (2016) Alleviating the storm: ruxolitinib in HLH. *Blood* 127:1626–1627. <https://doi.org/10.1182/blood-2016-02-697151>
- Lachmann G, Spies C, Schenk T, Brunkhorst FM, Balzer F, La Rosee P (2018) Hemophagocytic lymphohistiocytosis: potentially underdiagnosed in intensive care units. *Shock* 50:149–155. <https://doi.org/10.1097/SHK.0000000000001048>
- Lee DW et al (2014) Current concepts in the diagnosis and management of cytokine release syndrome. *Blood* 124:188–195. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-05-552729>
- Lehmborg K, Ehl S (2013) Diagnostic evaluation of patients with suspected hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Br J Haematol* 160:275–287. <https://doi.org/10.1111/bjh.12138>
- Lehmborg K et al (2015) Consensus recommendations for the diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis associated with malignancies. *Haematologica* 100:997–1004. <https://doi.org/10.3324/haematol.2015.123562>
- Li J, Wang Q, Zheng W, Ma J, Zhang W, Wang W, Tian X (2014) Hemophagocytic lymphohistiocytosis: clinical analysis of 103 adult patients. *Medicine* 93:100–105. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000000022>
- Li F et al (2015) Clinical characteristics and prognostic factors of adult hemophagocytic syndrome patients: a retrospective study of increasing awareness of a disease from a single-center in China. *Orphanet J Rare Dis* 10:20. <https://doi.org/10.1186/s13023-015-0224-y>
- Lin M et al (2017) Clinical utility of soluble interleukin-2 receptor in hemophagocytic syndromes: a systematic scoping review. *Ann Hematol* 96:1241–1251. <https://doi.org/10.1007/s00277-017-2993-y>
- Machaczka M, Vaktas J, Klimkowska M, Hagglund H (2011) Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a retrospective population-based analysis from a single center. *Leuk Lymphoma* 52:613–619. <https://doi.org/10.3109/10428194.2010.551153>
- Oto M, Yoshitsugu K, Uneda S, Nagamine M, Yoshida M (2015) Prognostic factors and outcomes of adult-onset hemophagocytic lymphohistiocytosis: a retrospective analysis of 34 cases. *Hematol Rep* 7:5841. <https://doi.org/10.4081/hr.2015.5841>
- Otrock ZK, Eby CS (2015) Clinical characteristics, prognostic factors, and outcomes of adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol* 90:220–224. <https://doi.org/10.1002/ajh.23911>
- Otrock ZK, Hock KG, Riley SB, de Witte T, Eby CS, Scott MG (2017) Elevated serum ferritin is not specific for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Ann Hematol*. <https://doi.org/10.1007/s00277-017-0372-0>

- Pariikh SA, Kapoor P, Letendre L, Kumar S, Wolanskyj AP (2014) Prognostic factors and outcomes of adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Mayo Clin Proc* 89:484–492. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2013.12.012>
- Park HS et al (2012) Clinical features of adult patients with secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis from causes other than lymphoma: an analysis of treatment outcome and prognostic factors. *Ann Hematol* 91:897–904. <https://doi.org/10.1007/s00277-011-1380-3>
- Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Lopez-Guillermo A, Khamashta MA, Bosch X (2014) Adult haemophagocytic syndrome. *Lancet* 383:1503–1516. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)61048-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)61048-X)
- Riviere S, Galicier L, Coppo P, Marzac C, Aumont C, Lambotte O, Fardet L (2014) Reactive hemophagocytic syndrome in adults: a retrospective analysis of 162 patients. *Am J Med* 127:1118–1125. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2014.04.034>
- Schram AM et al (2016) Haemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: a multicentre case series over 7 years. *Br J Haematol* 172:412–419. <https://doi.org/10.1111/bjh.13837>
- Schram AM, Campigotto F, Mullally A, Fogerty A, Massarotti E, Neuberger D, Berliner N (2015) Marked hyperferritinemia does not predict for HLH in the adult population. *Blood* 125:1548–1552. <https://doi.org/10.1182/blood-2014-10-602607>
- Sepulveda FE, de Saint BG (2017) Hemophagocytic syndrome: primary forms and predisposing conditions. *Curr Opin Immunol* 49:20–26. <https://doi.org/10.1016/j.coi.2017.08.004>
- Shabbir M, Lucas J, Lazarchick J, Shirai K (2011) Secondary hemophagocytic syndrome in adults: a case series of 18 patients in a single institution and a review of literature. *Hematol Oncol* 29:100–106. <https://doi.org/10.1002/hon.960>
- Sin JH, Zangardi ML (2017) Ruxolitinib for secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis: first case report. *Hematol Oncol Stem Cell Ther*. <https://doi.org/10.1016/j.hemonc.2017.07.002>
- Tamamyian GN et al (2016) Malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: relation to hemophagocytosis, characteristics, and outcomes. *Cancer* 122:2857–2866. <https://doi.org/10.1002/cncr.30084>
- Teachey DT et al (2013) Cytokine release syndrome after blinatumomab treatment related to abnormal macrophage activation and ameliorated with cytokine-directed therapy. *Blood* 121:5154–5157. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-02-485623>
- Trottestam H et al (2011) Chemoimmunotherapy for hemophagocytic lymphohistiocytosis: long-term results of the HLH-94 treatment protocol. *Blood* 118:4577–4584. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-06-356261>
- Tschistowitsch T, Bykowa O (1928) Retikulose als eine Systemerkrankung der blutbildenden. *Organe Virchows Arch A* 267:91–105. <https://doi.org/10.1007/bf02029855>
- Tsuji T, Hirano T, Yamasaki H, Tsuji M, Tsuda H (2014) A high sIL-2R/ferritin ratio is a useful marker for the diagnosis of lymphoma-associated hemophagocytic syndrome. *Ann Hematol* 93:821–826. <https://doi.org/10.1007/s00277-013-1925-8>
- Wang Y et al (2014) Genetic features of late onset primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in adolescence or adulthood. *PLoS ONE* 9:e107386. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107386>
- Zhang K et al (2011a) Hypomorphic mutations in PRF1, MUNC13–4, and STXBP2 are associated with adult-onset familial HLH. *Blood* 118:5794–5798. <https://doi.org/10.1182/blood-2011-07-370148>
- Zur Stadt U, Beutel K, Weber B, Kabisch H, Schneppenheim R, Janka G (2004) A91V is a polymorphism in the perforin gene not causative of an FHLH phenotype. *Blood* 104:1909. <https://doi.org/10.1182/blood-2004-02-0733>. (Author reply 1910)

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Affiliations

Sebastian Birndt¹ · Thomas Schenk¹ · Babett Heinevetter¹ · Frank M. Brunkhorst² · Georg Maschmeyer³ · Frank Rothmann³ · Thomas Weber⁴ · Markus Müller⁵ · Jens Panse⁶ · Olaf Penack⁷ · Roland Schroers⁸ · Jan Braess⁹ · Norbert Frickhofen¹⁰ · Stephan Ehl¹¹ · Gritta Janka¹² · Kai Lehmborg¹² · Mathias W. Pletz¹³ · Andreas Hochhaus¹ · Thomas Ernst¹ · Paul La Rosée¹⁴

¹ Klinik für Innere Medizin II, Abt. Hämatologie und Intern. Onkologie, Universitätsklinikum Jena, Jena, Germany

² Zentrum für Klinische Studien, Universitätsklinikum Jena, Jena, Germany

³ Klinik für Hämatologie, Onkologie u. Palliativmedizin, Klinikum Ernst Von Bergmann, Potsdam, Germany

⁴ Klinik für Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Halle (Saale), Halle, Germany

⁵ Zentrum für Infektiologie und HIV, Vivantes Auguste-Viktoria-Klinikum, Berlin, Germany

⁶ Klinik für Hämatologie, Onkologie, Hämostaseologie und Stammzelltransplantation, Uniklinik RWTH Aachen, Aachen, Germany

⁷ Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumormimmunologie, Charité Universitätsmedizin, Berlin, Germany

⁸ Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus, Bochum, Germany

⁹ Onkologie und Hämatologie, Krankenhaus Barmherzige Brüder, Regensburg, Germany

¹⁰ Hämatologie, Onkologie und Palliativmedizin, HELIOS Dr. Horst Schmidt Kliniken, Wiesbaden, Germany

¹¹ Centrum für Chronische Immundefizienz (CCI), Universitätsklinikum Freiburg, Freiburg, Germany

¹² Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Eppendorf, Hamburg, Germany

¹³ Institut für Infektionsmedizin und Krankenhaushygiene, Universitätsklinikum Jena, Jena, Germany

¹⁴ Klinik für Innere Medizin II, Hämatologie, Onkologie, Immunologie, Infektiologie und Palliativmedizin, Schwarzwald-Baar Klinikum, Klinikstr. 11, 78052 Villingen-Schwenningen, Germany

Supplementary information

Hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults: Collaborative analysis of 137 cases of a nationwide German registry

Sebastian Birndt¹, Thomas Schenk¹, Babett Heinevetter¹, Frank M. Brunkhorst², Georg Maschmeyer³, Frank Rothmann³, Thomas Weber⁴, Markus Müller⁵, Jens Panse⁶, Olaf Penack⁷, Roland Schroers⁸, Jan Braess⁹, Norbert Frickhofen¹⁰, Stephan Ehl¹¹, Gritta Janka¹², Kai Lehmborg¹², Mathias W. Pletz¹³, Andreas Hochhaus¹, Thomas Ernst¹, Paul La Rosée¹⁴

¹Klinik für Innere Medizin II, Abt. Hämatologie und intern. Onkologie, Universitätsklinikum Jena, Germany;

²Zentrum für klinische Studien, Universitätsklinikum Jena, Germany;

³Klinik für Hämatologie, Onkologie u. Palliativmedizin, Klinikum Ernst von Bergmann, Potsdam, Germany;

⁴Klinik für Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Halle (Saale), Germany;

⁵Zentrum für Infektiologie und HIV, Vivantes Auguste-Viktoria-Klinikum, Berlin, Germany;

⁶Klinik für Hämatologie, Onkologie, Hämostaseologie und Stammzelltransplantation, Uniklinik RWTH Aachen, Germany;

⁷Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Hämatologie, Onkologie und Tumorimmunologie, Charité Universitätsmedizin, Berlin, Germany;

⁸Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Knappschaftskrankenhaus, Bochum, Germany;

⁹Onkologie und Hämatologie, Krankenhaus Barmherzige Brüder, Regensburg, Germany;

¹⁰Hämatologie, Onkologie und Palliativmedizin, HELIOS Dr. Horst Schmidt Kliniken, Wiesbaden, Germany;

¹¹Institut für Immundefizienz, Zentrum für Chronische Immundefizienz, Universitätsklinikum Freiburg, Germany;

¹²Pädiatrische Hämatologie und Onkologie, Universitätsklinikum Eppendorf, Hamburg, Germany;

¹³Institut für Infektionsmedizin und Krankenhaushygiene, Universitätsklinikum Jena, Germany;

¹⁴Klinik für Innere Medizin II, Hämatologie, Onkologie, Immunologie, Infektiologie und Palliativmedizin, Schwarzwald-Baar Klinikum, Villingen-Schwenningen, Germany

Supplementary Table 1.

Calculation of the HScore, adapted from Fardet et al.³

Parameter	Number of points (criteria for scoring)
Known underlying immunosuppression*	0 (no) or 18 (yes)
Temperature (°C)	0 (<38.4), 33 (38.4 – 39.4), or 49 (>39.4)
Organomegaly	0 (no), 23 (hepatomegaly or splenomegaly), or 38 (hepatomegaly and splenomegaly)
Type of cytopenias [†]	0 (1 lineage), 24 (2 lineages), or 34 (3 lineages)
Ferritin (µg/liter)	0 (<2,000), 35 (2,000 – 6,000), or 50 (>6,000)
Triglycerides (mmol/liter)	0 (<1.5), 44 (1.5 – 4), or 64 (>4)
Fibrinogen (g/liter)	0 (>2.5) or 30 (≤2.5)
Serum aspartate aminotransferase (ASAT) (IU/liter)	0 (<30) or 19 (≥30)
Hemophagocytosis features on bone marrow aspirate	0 (no) or 35 (yes)

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

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

Supplementary Table 2.

Information on patients with HLH-associated mutations.

Patient	Sex	Age at diagnosis	Triggering disease	Mutated gene
1	Male	23	CMV/EBV co-infection	XIAP (XLP-2)
2	Male	19	EBV/H1N1 infection	SH2D1A (XLP-1)
3	Female	43	NK/T-cell lymphoma	PRF1 (A91V/Q405X compound heterozygous)
4	Male	51	Idiopathic	PRF1 (A91V homozygous)
5	Female	24	EBV infection	RAB27A (Griscelli syndrome type 2)

Abbreviations: EBV, Epstein-Barr virus; CMV, Cytomegalovirus; XLP, X-linked lymphoproliferative disease; XIAP, X-linked inhibitor of apoptosis protein; SH2D1A, SH2 domain-containing protein 1A; PRF, Perforin; RAB27A, Ras-related protein Rab-27A.

Figure legends

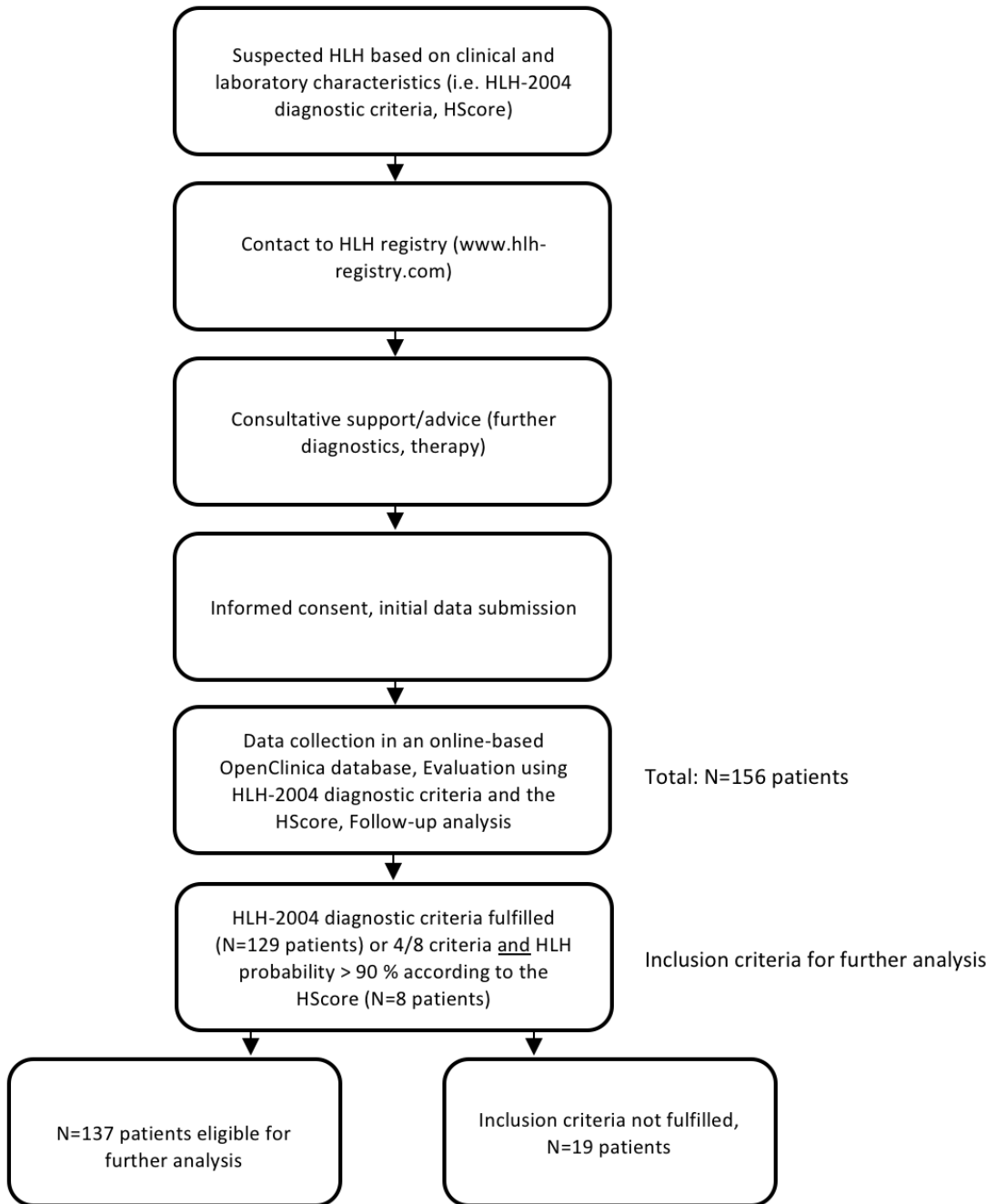
Supplementary Figure 1.

Flow chart illustrating the enrollment process and eligibility for data analysis.

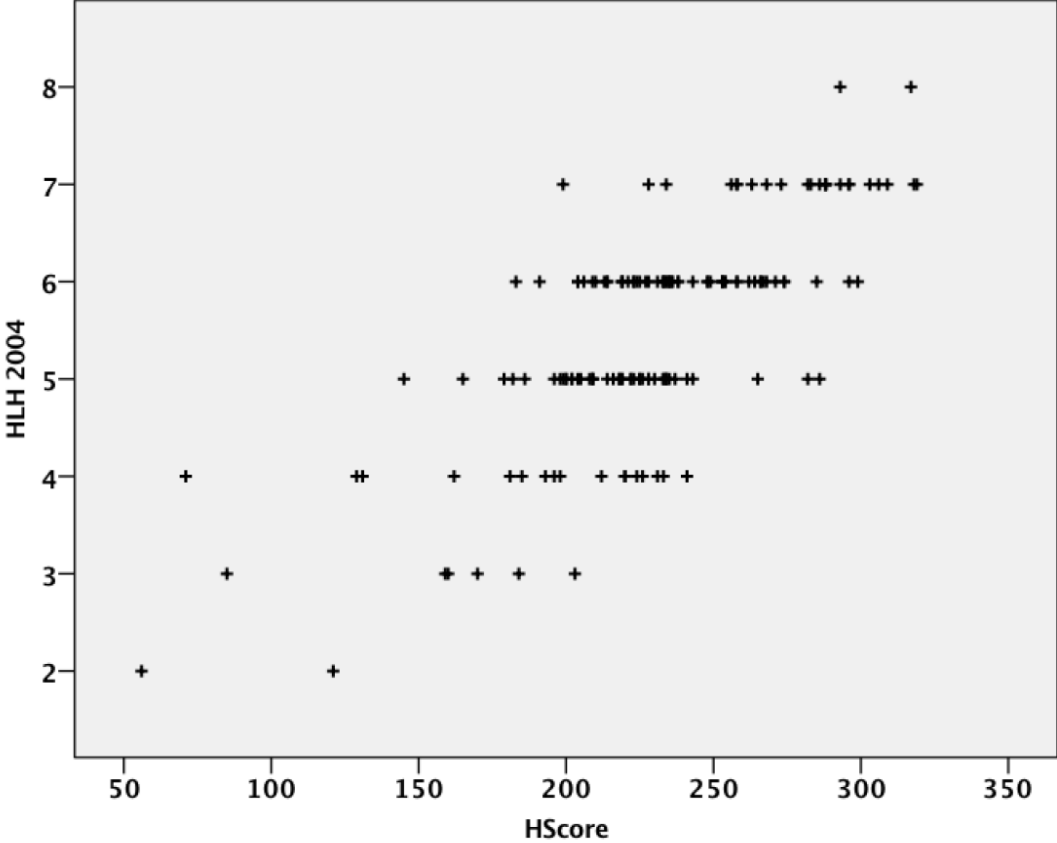
Supplementary Figure 2.

Scatter plot illustrating the relationship between HLH-2004 diagnostic criteria and the HScore. Using Pearson's r , there was a strong positive correlation between number of fulfilled diagnostic criteria and the HScore ($r=0.75$, $p<0.001$).

Supplementary Figure 1.



Supplementary Figure 2.



5 Diskussion

Im Gegensatz zu der besser charakterisierten primären bzw. hereditären HLH sind für die sekundäre HLH deutlich weniger Daten publiziert, für Deutschland fehlen systematische Daten völlig. Erst während der letzten Jahre erfuhr dieses syndromale Krankheitsbild zunehmende Beachtung, was sich auch in der steigenden Zahl an Publikationen widerspiegelt. Nichtsdestotrotz sind wesentliche Fragen der HLH bei Erwachsenen nicht beantwortet, diagnostische Kriterien sowie Therapiealgorithmen wurden in weiten Teilen den Empfehlungen für pädiatrische Patienten entnommen bzw. adaptiert. Ein Problem stellt die anzunehmende hohe Dunkelziffer nicht erkannter Fälle dar, insbesondere bei kritisch kranken Patienten mit der Verdachtsdiagnose Sepsis auf Intensivstationen, da die klinische Präsentation oftmals Parallelen aufweist (Lachmann et al. 2018, Lachmann et al. 2016). Die häufig verspätete Erkennung und damit verzögerte Einleitung einer adäquaten Therapie tragen zu der insgesamt schlechten Prognose dieser Patienten bei.

Um die sekundäre HLH bei Erwachsenen besser zu charakterisieren und die oben aufgeworfenen offenen Fragen zu adressieren, wurde ein klinisches Patientenregister mit angeschlossener konsiliarischer Beratungstätigkeit etabliert. In der vorliegenden Arbeit wurden die in dem Register gesammelten Patientendaten erstmals umfassend ausgewertet, die Ergebnisse stellen die ersten multizentrisch erhobenen Daten zur HLH bei Erwachsenen in Deutschland dar.

Analysiert wurden insgesamt 137 Patienten, womit die Studie auch im internationalen Vergleich eine der größten bisher publizierten Untersuchungen ist. Im Unterschied zu der primären oder hereditären HLH ist die sekundäre HLH klinisch weitaus heterogener. Evident wird dies bereits in der Spannweite des Alters bei Erstdiagnose, welches von 17 bis 87 Jahre reichte. Das mediane Alter bei Diagnose lag in der vorliegenden Auswertung bei 50 Jahren, wobei Patienten mit HLH infolge maligner Grunderkrankung tendenziell älter waren. Dies steht im Einklang mit bisher publizierten Untersuchungen und ist durch die mit zunehmendem Alter steigende Inzidenz maligner Erkrankungen zu erklären, insbesondere der Lymphome als wesentlichem Auslöser einer HLH.

Im Gegensatz zu der primären HLH, bei der meist Infektionen als auslösende Ursache der HLH gefunden werden, sind die potentiellen Auslöser der sekundären HLH deutlich variabler. Einen Überblick hierüber gibt die bisher größte publizierten Analyse von

Ramos Casals et al. mit nahezu 2200 ausgewerteten HLH-Fällen (Ramos-Casals et al. 2014). Hier wurden in etwa 50 % der Fälle Infektionen als Trigger identifiziert, bei 1047 Patienten wurden Malignome beschrieben und 276 Patienten wiesen eine Autoimmunerkrankung auf (MAS-HLH). Neben diesen häufigen Auslösern kann eine HLH in seltenen Fällen auch im Rahmen von Chemotherapien oder Transplantationen (sowohl Stammzell- als auch Organtransplantation) auftreten oder durch bestimmte Medikamente ausgelöst werden. In Frage kommen dabei insbesondere immunaktivierende Substanzen wie Checkpoint-Inhibitoren, bispezifische Antikörper wie das für die Therapie der B-Zell akuten lymphatischen Leukämie zugelassene Blinatumomab oder CAR-T-Zellen, in deren Folge es zu einem sogenannten Zytokinfreisetzungssyndrom und im Extremfall zu einer HLH kommen kann (Sandler et al. 2020, Teachey et al. 2013). Weiterhin sind in der Literatur Operationen oder Impfungen als Trigger beschrieben, in seltenen Fällen trat eine HLH auch im Kontext einer Schwangerschaft auf (Parrott et al. 2019). Trotz der häufig sehr umfangreichen diagnostischen Aufarbeitung kann je nach Studie bei ca. 10 % der adulten HLH-Patienten kein Auslöser identifiziert werden. Demgegenüber lassen sich in einigen Fällen auch mehrere potentielle Trigger gleichzeitig feststellen (beispielsweise Infektion bei Lymphompatienten oder EBV-Infektion im Kontext einer Stammzelltransplantation), so dass eine klare Zuordnung in eine Gruppe nicht immer möglich ist.

Die vorliegende Arbeit zeigte für Deutschland eine ähnliche Verteilung der Triggererkrankungen im Vergleich zu bisher publizierten Daten. Unter den Infektionen, mit 44,5 % die größte Subgruppe, dominierten virale Infektionen, insbesondere durch Herpesviren wie EBV oder CMV. Ein möglicher Erklärungsansatz hierfür sind neben anderen in Abschnitt 2.2.2 genannten Mechanismen immunevasive Strategien bestimmter Viren, die eine effektive Bekämpfung durch das Immunsystem verhindern und so einen persistierenden Inflammationsreiz darstellen (Jerome et al. 1998).

Zu bedenken sind in der diagnostischen Abklärung auch seltenere Infektionen, beispielsweise durch parasitäre Erreger wie Leishmanien, da in diesen Fällen eine spezifische Therapie zur Verfügung steht und eine langdauernde Immunsuppression oft nicht notwendig ist und bei unklarer Diagnose betroffenen Patienten im Gegenteil sogar schaden kann (Gagnaire et al. 2000). Eine mögliche Ursache der Assoziation zwischen intrazellulären Erregern und der Entwicklung einer HLH ist die Aktivierung

von Toll-like-Rezeptoren, beispielsweise in Makrophagen durch Leishmanien (Chandel et al. 2014).

Mit 35 % der untersuchten Fälle (48 Patienten) waren maligne Erkrankungen in der vorliegenden Analyse der zweite wesentliche Auslöser einer HLH. Am häufigsten wurden dabei Lymphomerkrankungen beobachtet, insbesondere der B-Zell-Reihe wie das Diffus-großzellige B-Zell-Lymphom (DLBCL) oder der Morbus Hodgkin. Auch dies steht im Einklang mit bisherigen Untersuchungen aus dem europäischen oder angloamerikanischen Raum. Demgegenüber sind in asiatischen Kohorten entsprechend der höheren Inzidenz häufiger T-Zell-Lymphome vertreten (Li et al. 2014b). Bestimmte Lymphomentitäten wie das DLBCL (insbesondere die T-Zell-/Histiozyten-reiche Variante), der Morbus Hodgkin, NK/T-Zell-Lymphome, angioimmunoblastische T-Zell-Lymphome oder das intravaskuläre großzellige B-Zell-Lymphom sind tendenziell häufiger mit der HLH assoziiert (Ponzoni et al. 2018, Bains et al. 2017). Eine mögliche Erklärung hierfür ist die Produktion von Zytokinen durch Tumorzellen, insbesondere für die vorgenannten Lymphomentitäten ist eine verstärkte Zytokinproduktion vorbeschrieben (Hsu et al. 1993).

In Anbetracht des Spektrums möglicher Auslöser und der Altersspanne der betroffenen Patienten ist die klinische Präsentation bei der sekundären HLH sehr heterogen. Eine Trias bestehend aus Splenomegalie, Fieber und Zytopenien wird jedoch häufig beobachtet, in der vorliegenden Arbeit trat diese bei 62 % der Patienten auf. Weitere häufige Befunde waren Hepatomegalie, Niereninsuffizienz bzw. akutes Nierenversagen, disseminierte intravasale Gerinnung, Blutungen oder eine neurologische Symptomatik. Die Symptomatik kann dabei wesentlich durch die Wirkung proinflammatorischer Zytokine sowie die Migration von T-Zellen in das Gewebe erklärt werden, jedoch sind in Abhängigkeit des betroffenen Organsystems auch ungewöhnliche oder atypische Verläufe möglich. So können beispielsweise neurologische Symptome wie Parästhesien, Aphasie oder Sehstörungen oder auch endokrine Störungen Erstsymptome einer lymphomassoziierten HLH sein (Simeni Njonou et al. 2019). Hierdurch wird die Diagnosestellung nicht selten erschwert; bei etwa 20 % der Patienten in der vorliegenden Auswertung betrug die Zeit von Erstvorstellung bis Diagnosestellung mehr als 21 Tage. Damit einhergehend ist auch die Einleitung einer spezifischen Therapie oft verzögert.

Derzeit für die Diagnosestellung genutzt werden die HLH-2004-Diagnosekriterien, welche zuletzt im Jahr 2007 revidiert wurden (siehe Tabelle 3) (Henter et al. 2007). Notwendig sind dabei entweder der Nachweis einer krankheitsdefinierenden Mutation oder mindestens 5 der 8 unter 2) genannten Kriterien. Als Kennzeichen der HLH gelten extrem erhöhte Ferritinwerte, wenngleich diese auch bei anderen Erkrankungen wie der Hämochromatose oder im Kontext von Leber- und Nierenversagen auftreten können und somit eingeschränkt spezifisch für die HLH sind (Schram et al. 2015, Otrock et al. 2017). Nichtsdestotrotz sollten massiv erhöhte Ferritinwerte differentialdiagnostisch an die HLH denken lassen, insbesondere bei Patienten mit wiederkehrendem Fieber trotz adäquater antibiotischer Therapie. In der vorliegenden Analyse lagen die medianen Spitzenspiegel bei 30.000 µg/l, drei von vier Patienten wiesen Spitzenspiegel von 10.000 µg/l oder mehr auf. Tendenziell die höchsten Werte wurden bei Patienten mit I-HLH und MAS-HLH beobachtet. Auch in anderen Fallserien zeigten sich zum Teil extrem erhöhte Ferritinkonzentrationen über 50.000 µg/l (Otrock und Eby 2015). Vor diesem Hintergrund wird eine mögliche Anpassung des derzeit in den HLH-2004-Diagnosekriterien genutzten Schwellenwertes von 500 µg/l diskutiert. Zur Erhöhung der diagnostischen Spezifität wurden höhere Grenzwerte zwischen 2000 und 16.000 µg/l vorgeschlagen, in einer pädiatrischen Kohorte zeigten Ferritinspiegel über 10.000 µg/l eine Sensitivität von 90 % und eine Spezifität von 96 % für die HLH (Allen et al. 2008, Naymagon et al. 2020).

Ein Problem stellt nach wie vor die Dunkelziffer nicht diagnostizierter Fälle dar, besonders auf Intensivstationen bei Patienten mit vermuteter Sepsis, da das klinische Bild viele Gemeinsamkeiten zu der HLH aufweist. In einer Studie von Lachmann et al. wurden 78 % der Patienten mit HLH auf Intensivstation nicht diagnostiziert (Lachmann et al. 2018). Erhöhte diagnostische Aufmerksamkeit ist daher notwendig, die (wiederholte) Bestimmung der Ferritinwerte wird für diese Patientengruppe empfohlen (Machowicz et al. 2017, La Rosée et al. 2019). In Zukunft könnte die routinemäßige Messung bestimmter Zytokine helfen, die Sepsis von der HLH abzugrenzen, erste Studien hierzu zeigten bei HLH-Patienten im Vergleich zu Sepsis-Patienten deutlich erhöhte Werte für Interferon gamma und Interleukin-10, wohingegen höhere Interleukin-6 Werte bei Sepsis-Patienten gefunden wurden (Xu et al. 2012). Auch für die Abgrenzung der verschiedenen HLH-Formen könnte eine standardisierte Zytokinmessung künftig hilfreich sein, beispielsweise wurden bei Patienten mit MAS-HLH deutlich höhere Interleukin-18 Konzentrationen gefunden (Put et al. 2015). Der

lösliche Interleukin-2 Rezeptor (sIL2R) reflektiert die Aktivierung der T-Zellen, erhöhte Werte treten unter anderem bei Lymphomen, der autoimmun-lymphoproliferativen Erkrankung oder der Sarkoidose auf. Für die pädiatrische HLH wurden für Werte größer als 2400 U/ml eine Spezifität von 100 % und eine Sensitivität von 93 % gefunden, wobei in dieser Auswertung keine Patienten mit Lymphomen oder autoimmun-lymphoproliferativer Erkrankung eingeschlossen waren (Lin et al. 2017). In der vorliegenden Analyse wiesen 94 % aller Patienten erhöhte sIL2R-Werte (> 2400 U/ml) auf, sowohl im Median als auch hinsichtlich der Extremwerte wurden bei Patienten mit HLH infolge Malignität die höchsten Werte festgestellt. Dies steht im Einklang mit bisher publizierten Analysen, so fanden Hayden et al. bei Patienten mit M-HLH signifikant höhere Werte im Vergleich zu Patienten mit I-HLH oder MAS-HLH (Hayden et al. 2017). Deutlich erhöhte sIL2R-Werte sollten somit bei Patienten mit HLH und noch nicht identifiziertem Trigger an ein Malignom als mögliche Ursache denken lassen und eine erweiterte Diagnostik auslösen, vor allem Lymphome stellen nicht selten eine diagnostische Herausforderung dar. Hinweis für das Vorliegen eines Lymphoms kann ein erhöhter Quotient aus sIL2R und Ferritinwert sein: In einer Studie von Tsuji et al. war eine hohe sIL2R:Ferritin-Ratio statistisch signifikant mit einer Lymphom-assoziierten HLH vergesellschaftet (Tsuji et al. 2014). Weiterhin ist bei Verdacht auf Lymphom-assoziierte HLH eine Bildgebung mittels PET-CT empfehlenswert, da hierbei im Gegensatz zu der normalen Computertomographie eine zusätzliche Aussage mittels quantitativer Bestimmung der FDG-Aufnahme in Form von „standardized uptake values“ (SUV) gegeben werden kann. Für die Lymphom-assoziierte HLH konnten in einer Studie signifikant höhere maximale SUV im Vergleich zur HLH anderer Ursache gefunden werden (Wang et al. 2016).

Sowohl Ferritin als auch sIL2R können neben ihrer diagnostischen Aussagekraft auch als Verlaufsparemeter während der Behandlung genutzt werden, zudem ist für beide Parameter auch eine prognostische Relevanz belegt. In einer pädiatrischen Kohorte war ein Abfall des Ferritins um weniger als 50 % unter Therapie im Vergleich zu einem Abfall um mehr als 96 % mit einem 17-fach erhöhtem Sterberisiko assoziiert (Lin et al. 2011). Für sIL2R-Werte von mehr als 10.000 U/ml wurde ein signifikant schlechteres 5-Jahres-Überleben beobachtet (Imashuku et al. 1995).

In der vorliegenden Arbeit wurden sowohl für das Gesamt- als auch für das 30-Tage-Überleben potentielle Prognoseprädiktoren untersucht. Als statistisch signifikant erwiesen sich hierbei für das Gesamtüberleben ein Alter über 50 Jahre, eine

Thrombozytenzahl unter 20 Gpt/l, eine Neutrophilenzahl kleiner 1 Gpt/l sowie ein Albuminwert unter 20 g/l. Für das 30-Tage-Überleben zeigten eine niedrige Thrombozytenzahl (weniger 20 Gpt/l) sowie ein niedriges Albumin kleiner 20 g/l eine schlechtere Prognose an. Einige dieser Faktoren und auch weitere negative Prädiktoren wie beispielsweise Malignome als Ursache der HLH sind in der Literatur beschrieben (Arca et al. 2015, Parikh et al. 2014). Mögliche Erklärungsansätze für die identifizierten Faktoren könnten ein schlechterer Gesundheitszustand mit vermehrten Komorbiditäten vor Beginn der HLH sein (Alter über 50 Jahre), ein insgesamt schwererer Verlauf mit höherer inflammatorischer Aktivität (ausgeprägtere Zytopenien) oder eine erhöhte Rate an Komplikationen wie fulminante Blutungen oder Sekundärinfektionen (Thrombozytopenie, Neutropenie). Niedrige Albuminwerte sind einerseits ebenfalls Ausdruck der Schwere der Inflammation (Albumin als Anti-Akut-Phase-Protein), können andererseits aber auch einen fortgeschrittenen Verlauf mit Leberbeteiligung und konsekutiver Leberinsuffizienz anzeigen.

Die Hämophagozytose als namensgebendes Kriterium ist nicht zwingend für die Diagnosestellung, sofern 5 weitere der 8 HLH-2004-Diagnosekriterien erfüllt sind. In der vorliegenden Auswertung gelang ein Hämophagozytose-Nachweis in Knochenmark, Lymphknoten oder Milz nur in 63 % der Fälle, was auch bisher publizierte Erfahrungen bestätigt (Otrock und Eby 2015, Riviere et al. 2014). Insbesondere zu Beginn der Symptomatik kann die Hämophagozytose oft fehlen. Zu beachten ist, dass die Hämophagozytose auch bei Sepsis oder rheumatischen Erkrankungen nachweisbar sein kann, wodurch die Spezifität eingeschränkt ist (Gupta et al. 2008).

Ein weiteres Problem stellt die „Untersucher-Abhängigkeit“ dar, da in den derzeit genutzten HLH-2004-Diagnosekriterien die Hämophagozytose als solche nicht weiter charakterisiert wird. Eine erhöhte Spezifität kann möglicherweise durch die Etablierung und Implementation bestimmter Kriterien für die Wertung der Hämophagozytose bei der HLH erreicht werden. In einer 2018 von Gars et al. publizierten Analyse erwies sich eine Phagozytose kernloser Erythrozyten als unspezifisch, wohingegen die Phagozytose von Granulozyten oder die Phagozytose multipler kernhaltiger Zellen durch einen Makrophagen stärker mit dem Vorliegen einer HLH assoziiert waren. Ebenfalls fand sich bei HLH-Patienten eine höhere Zahl von Phagozyten (Gars et al. 2018).

Neben den HLH-2004-Diagnosekriterien wurde für alle in dem HLH-Patientenregister erfassten Patienten der HScore berechnet. Dieser wurde 2014 von Fardet et al. speziell für die Diagnose der sekundären HLH entwickelt, da das klinische Bild häufig Überlappungen zu Sepsis oder hämatologischen Neoplasien aufweist (Fardet et al. 2014). Der Score umfasst insgesamt 9 Variablen (siehe Tabelle 4) und ist frei zugänglich. Vorteile sind der Verzicht auf möglicherweise nicht routinemäßig durchgeführte Untersuchungen (sIL2R, Bestimmung der NK-Zell-Aktivität) und die graduelle Abstufung bestimmter Parameter wie Ferritin, so dass die Inflamationsaktivität und Krankheitsschwere in der Berechnung berücksichtigt werden. Die in dem Score erreichte Punktzahl ist mit einer klinischen Wahrscheinlichkeit für das Vorliegen einer HLH korreliert, als Schwellenwert mit der besten Sensitivität und Spezifität wurde ein Score von 169 Punkten ermittelt. In der vorliegenden Analyse lag der mediane Punktwert bei 233 Punkten, die Werte zeigten eine starke Korrelation zu der Zahl der erfüllten HLH-2004-Diagnosekriterien (siehe Supplement Abbildung 2). Auch in weiteren publizierten Arbeiten konnte eine gute diagnostische Eignung des HScore belegt werden, auch für Patienten mit MAS-HLH (Batu et al. 2017, Debaugnies et al. 2016). Die Nutzung dieses einfach zu berechnenden Scores ist daher bei HLH-Verdacht empfehlenswert.

Generell sollten jedoch sowohl die Zahl erfüllter HLH-2004-Diagnosekriterien als auch der HScore in regelmäßigen Abständen reevaluiert werden. Dies gilt insbesondere für die Diagnose der MAS-HLH, bei der ein dynamischer Abfall bestimmter Laborparameter aussagekräftiger als Absolutwerte ist, da Patienten mit autoimmuner bzw. rheumatischer Erkrankung oft schon im Vorfeld krankheitsbedingt eine erhöhte inflammatorische Aktivität aufweisen und damit HLH-Kriterien wie Ferritinerhöhung oder Zytopenien nur eingeschränkt verwertbar sind. Für die Diagnose des Makrophagenaktivierungssyndroms wurden daher eigenständige Kriterien aufgestellt, welche jedoch analog zu den HLH-2004-Diagnosekriterien anhand der Daten pädiatrischer Patienten entwickelt wurden (Ravelli et al. 2016b, Minoia et al. 2019).

Funktionelle Tests wie beispielsweise die Messung der NK-Zell-Aktivität wurden in der vorliegenden Analyse nur bei wenigen Patienten durchgeführt. Generell ist bei erwachsenen Patienten mit sekundärer HLH und gesicherter Grunderkrankung wie beispielsweise Malignom oder autoinflammatorischer Erkrankung oder bei Nicht-EBV-Infektion zunächst keine weiterführende funktionelle Diagnostik notwendig. Erfolge sollte diese jedoch bei jüngeren Patienten mit EBV-Infektion, Patienten mit

rezidivierenden HLH-Episoden oder unklarem Trigger, Patienten mit positiver Familienanamnese oder Patienten mit klinischen Zeichen für (partiellen) Albinismus, da in diesen Fällen nicht selten Auffälligkeiten gefunden werden. Empfehlenswert ist in solchen Fällen die Beratung durch ein Referenzzentrum, ebenfalls muss die immunologische Diagnostik (beispielsweise Degranulationsassays) in den klinischen Kontext eingeordnet werden. Finden sich in der funktionellen Diagnostik Auffälligkeiten, so erfolgt in einem zweiten Schritt die gezielte Mutationsanalyse. Zu beachten sind in diesem Zusammenhang auch Fälle sogenannter „late-onset“ familiärer HLH bei Erwachsenen. Im deutschen HLH-Register, welches Grundlage der vorliegenden Arbeit ist, sind derzeit 5 Fälle einer solchen „late-onset“ FHL dokumentiert (Altersspanne 19 – 51 Jahre, siehe Supplement Tabelle 2). Die Kenntnis dieser Verläufe und Befunde hat insbesondere für die Therapie große Bedeutung, da im Gegensatz zu Patienten mit sekundärer HLH ein persistierender Immundefekt vorliegt und eine kurative Behandlung nur mittels allogener Stammzelltransplantation möglich ist. Kommt in diesen seltenen Fällen ein verwandter Spender in Betracht, so sollte dieser unbedingt auf die entsprechende Mutation getestet werden, da trotz Vorliegen der Mutation nicht zwangsläufig der Phänotyp einer HLH vorliegen muss.

Während bei der primären HLH definierte Mutationen einen Defekt der Zytotoxizität bedingen, ist die Pathogenese der sekundären HLH komplexer und weniger gut verstanden. Als mögliche Einflussfaktoren werden in den letzten Jahren unter anderem auch sogenannte hypomorphe Mutationen HLH-prädisponierender Gene wie Perforin diskutiert, welche je nach Studie bei bis zu 15 % der untersuchten Patienten gefunden wurden (Zhang et al. 2011, Wang et al. 2014, Cetica et al. 2016). Einige dieser Mutationen wie der Perforin-Gen Polymorphismus A91V in heterozygotem Zustand werden jedoch je nach untersuchter Kohorte auch bei Gesunden in bis zu 10 % gefunden, was einen relevanten Einfluss auf die Expression und Funktion von Perforin in Anbetracht der insgesamt geringen Inzidenz der HLH und in Abwesenheit anderer Faktoren wie (medikamentöser) Immunsuppression eher unwahrscheinlich macht. Interessanterweise zeigten House et al. jedoch auch für gesunde Probanden mit heterozygoter Perforin A91V-Mutation eine verminderte NK-Zell-Zytotoxizität, so dass eine mögliche Relevanz in der Pathogenese der sekundären HLH im Kontext zusätzlicher Faktoren wie Immunsuppression oder Malignom durchaus denkbar ist (House et al. 2015). Gestützt wird diese These durch die Beobachtung einer partiell verminderten Degranulation bei einem Teil der HLH-Patienten mit monoallelischen

Mutationen in HLH-prädisponierenden Genen (Cetica et al. 2016). Andererseits kann nicht ausgeschlossen werden, dass in dieser Analyse eventuell weitere vorliegende (monoallelische) Mutationen nicht identifiziert werden konnten. Möglicherweise wird der Einfluss solcher Mutationen auch überschätzt, eine kürzlich publizierte Analyse fand unter 88 Patienten mit sekundärer HLH und einem medianen Alter von 54 Jahren keine Häufung solcher Varianten in 17 HLH-assoziierten Genen im Vergleich zu gesunden Kontrollpopulationen (Miller et al. 2020).

In der vorliegenden Arbeit wurde eine Stichprobe von 20 Patienten mittels Sanger-Sequenzierung auf Veränderungen im Perforin-Gen untersucht, welches am häufigsten von hypomorphen Mutationen betroffen ist. In 2 von 20 Patienten (10 %) konnte dabei jeweils eine heterozygote A91V Mutationen detektiert werden. Die Häufigkeit des Auftretens dieses Polymorphismus entspricht damit in etwa der in der gesunden Population, was die These von Miller et al. stützt. Auch wenn hypomorphe Mutationen in HLH-prädisponierenden Genen im Vergleich zur gesunden Bevölkerung nicht gehäuft auftreten, ist dennoch ein Einfluss auf die Krankheitsentstehung denkbar. So könnte eine mögliche diskrete Verminderung der Degranulation durch eine solche Mutation wie durch House et al. beschrieben, welche für sich genommen keine klinische Relevanz besitzt, im Zusammenspiel mit weiteren Faktoren wie medikamentöser Immunsuppression, einem zusätzlichen Trigger oder vorbestehender Inflammation zur Entstehung einer sekundären HLH beitragen (Brisse et al. 2016, House et al. 2015). Die Vorgeschichte und der klinische Verlauf der beiden Patienten mit Nachweis einer heterozygoten A91V Mutation unterstützen diese Annahme: Patient 1 war nach allogener Stammzelltransplantation immunsupprimiert und hatte eine CMV-Infektion als unmittelbaren HLH-Auslöser; Patient 2 hatte bei vorbekannter B-CLL u. a. eine Therapie mit Rituximab und Bendamustin erhalten und entwickelte die HLH im Kontext eines neu aufgetretenen anaplastischen T-Zell-Lymphoms.

Die Behandlung der HLH umfasst neben der Immunsuppression zur Unterbrechung des Zytokinsturms die Behandlung der auslösenden Erkrankung, um die persistierende Immunstimulation zu unterbinden. Daher kommt der Identifikation und zielgerichteten Behandlung des Triggers, beispielsweise mittels gerichteter antiinfektiver oder Chemotherapie, größte Bedeutung zu. Wesentliche Bestandteile der Therapie der sekundären HLH wurden aus Therapieprotokollen der primären HLH adaptiert. Zu beachten ist dabei, dass die Intensität der Immunsuppression nach der Schwere der HLH gewählt werden sollte. Eine voll dosierte Therapie entsprechend des

pädiatrischen HLH-2004-Protokolls ist bei Erwachsenen in den allermeisten Fällen nicht notwendig, eine allogene Stammzelltransplantation wird nicht regelhaft durchgeführt, sondern nur im Falle rezidivierender HLH-Episoden in Betracht gezogen oder zur Therapie der auslösenden Grunderkrankung (Malignität) eingesetzt (La Rosée 2015). Bei leichteren HLH-Verläufen kann bei Erwachsenen neben der gezielten Behandlung des Auslösers eine milde immunmodulatorische Therapie mit Steroiden und polyvalenten Immunglobulinen ausreichen. In der vorliegenden Arbeit erhielten 90 % der Patienten Steroide, aufgrund der Liquorgängigkeit wurde dabei bevorzugt Dexamethason eingesetzt, in Fällen von MAS-HLH auch Methylprednisolon. Bei schweren Verläufen wird aufgrund der guten Wirksamkeit gegenüber aktivierten T-Zellen der Topoisomerase-II-Hemmer Etoposid eingesetzt, der auch integraler Bestandteil des HLH-2004-Therapieprotokolls ist (Johnson et al. 2014). In der vorliegenden Analyse erhielten etwa die Hälfte der Patienten Etoposid, wobei die Dosierung individuell angepasst werden sollte und eher niedriger als bei der primären HLH gewählt wird. Für die Subgruppe junger Erwachsener mit schwer verlaufender EBV-HLH erwies sich dabei ein frühzeitiger Behandlungsbeginn als prognostisch günstig (Imashuku et al. 2003).

Weitere mögliche Optionen stellen insbesondere bei kritisch kranken Patienten die zielgerichtete Blockade von Zytokinrezeptoren (z. B. durch Anakinra oder Tocilizumab) oder die Zytokinadsorption dar, welche bei 3 Patienten eingesetzt wurde. Für die rezidierte oder refraktäre EBV-HLH konnte eine chinesische Pilotstudie mit dem PD-1-Antikörper Nivolumab positive Wirkungen erzielen, interessanterweise bewirkte der Einsatz von Nivolumab dabei auch eine Wiederherstellung der Expression bestimmter kostimulatorischer und an der Degranulation beteiligter Gene in CD8-positiven T-Zellen (Liu et al. 2020). Weiterhin wurden zuletzt vielversprechende Daten zum Einsatz von Ruxolitinib bei rezidivierter oder refraktärer HLH publiziert (Ahmed et al. 2019, Goldsmith et al. 2019). In der bisher größten Studie von Wang et al. zeigten 25 von insgesamt 34 behandelten Patienten mit rezidivierter oder refraktärer HLH ein Therapieansprechen (5 Patienten mit vollständiger Remission, 20 Patienten mit partieller Remission) (Wang et al. 2020). Die Wirkung von Ruxolitinib beruht auf einer Inhibition der Januskinasen 1 und 2 und damit einer verminderten Aktivierung vor allem von STAT-Proteinen (Signal Transducers and Activators of Transcription), aber auch von MAP-Kinasen (Mitogen-activated Protein Kinases) und des Proteinkinase B-Signalwegs (PI3K/AKT). Die Signaltransduktion von Zytokinen und Chemokinen kann

damit effektiv gehemmt werden. Derzeit zugelassen ist Ruxolitinib für die primäre und sekundäre Myelofibrose sowie in der Zweitlinientherapie der Polycythaemia vera, jedoch ist eine gute Wirksamkeit auch für andere Entitäten mit vermehrter Zytokinfreisetzung belegt, etwa für die Steroid-refraktäre Graft-versus-host-Erkrankung (Zeiser et al. 2020).

Eine Hyperinflammation mit deutlich erhöhten Zytokinspiegeln, schwerer Pneumonie und ARDS tritt auch bei einem Teil der Patienten mit COVID-19 Erkrankung auf. In einer retrospektiven Analyse wiesen Patienten mit erhöhtem Ferritin und Interleukin-6-Spiegeln eine schlechtere Prognose auf, in Autopsiestudien konnten bei betroffenen Patienten unter anderem in Lungengewebe hyperaktive T-Lymphozyten nachgewiesen werden (Ruan et al. 2020, Xu et al. 2020). Die durch die Zytokinfreisetzung bedingten Symptome und Laborcharakteristika bei schwerer COVID-19 Erkrankung weisen Parallelen zu einem Makrophagenaktivierungssyndrom auf und umfassen Gerinnungsaktivierung, Hyperferritinämie sowie initial Leukozytose (bei Lymphopenie) und Hyperfibrinogenämie. Die belegte Wirksamkeit von Ruxolitinib bei anderen hyperinflammatorischen Syndromen und ein auch im Vergleich zu anderen JAK-Inhibitoren günstiges Nebenwirkungsprofil begründen den Einsatz auch bei COVID-19 vermittelter Hyperinflammation (Heidel und Hochhaus 2020). In einer Pilotstudie, welche 14 Patienten mit anhand eines Punktesystems objektiver schwerer COVID-19 Erkrankung einschloss, konnte bei 12 dieser Patienten eine signifikante Reduktion der Entzündungsantwort in Folge der Ruxolitinib-Gabe nachgewiesen werden, bei 11 Patienten zeigte sich eine anhaltende klinische Besserung (La Rosée et al. 2020). Vorteil von Ruxolitinib gegenüber anderen in laufenden Studien untersuchten zielgerichteten Wirkstoffen (Anakinra, Tocilizumab) ist die Inhibition einer ganzen Reihe von Zytokinen durch Hemmung der Januskinasen. Im Unterschied dazu zielen Anakinra oder Tocilizumab auf die Wirkung einzelner Zytokine ab (Interleukin-1 bzw. Interleukin-6).

6 Schlussfolgerungen

Die vorliegende Arbeit stellt die erste multizentrische Auswertung erwachsener Patienten mit HLH in Deutschland dar. Mit insgesamt 137 analysierten Patienten ist die Studie zudem eine der größten bisher publizierten Arbeiten zur HLH bei Erwachsenen.

Das Spektrum möglicher Auslöser sowie die Patientencharakteristika spiegeln die Heterogenität der HLH bei Erwachsenen wider. Die variable klinische Präsentation kann die Diagnose der HLH erheblich erschweren, so dass zwischen Krankenhausaufnahme und Diagnosestellung nicht selten 3 Wochen und mehr lagen. Entscheidend ist eine hohe Vigilanz für die Erkrankung, klinische Parameter wie Fieber und Splenomegalie sowie laborchemische Befunde wie Zytopenien und massiv erhöhte Ferritinwerte als Charakteristikum sollten an eine HLH denken lassen. Auch wenn erhöhte Ferritinwerte nicht spezifisch für die HLH sind, so finden sich bei der HLH typischerweise deutlich höhere Werte als bei möglichen Differentialdiagnosen wie beispielweise der Sepsis. Als Aktivitätsmarker der Inflammation können Ferritin, welches bei der HLH primär von Makrophagen sezerniert wird, und sIL2R auch für die Verlaufsbeurteilung des Therapieansprechens genutzt werden. In Anbetracht der in allen HLH-Subgruppen deutlich erhöhten medianen Ferritinwerte, welche in Vergleichsstudien ähnlich hoch waren, könnte perspektivisch ein höherer Schwellenwert für die Diagnose der HLH festgesetzt werden, um die Spezifität zu erhöhen. Die Diagnosestellung unterstützen kann die Berechnung des HScores, der in der vorliegenden Analyse eine gute Korrelation zu den HLH-2004-Diagnosekriterien zeigte und einfach zu berechnen ist. Die Kenntnis von Risikofaktoren für das Versterben kann helfen, Hochrisikopatienten zu identifizieren und im Falle einer nicht ausreichenden Therapieantwort ggf. frühzeitig eine Therapieintensivierung vorzunehmen, beispielsweise durch Hinzunahme von Etoposid bei Patienten mit M-HLH, welche entsprechend bisher publizierter Daten eine schlechtere Prognose aufweisen als Patienten mit I-HLH oder MAS-HLH. Entscheidend für die adäquate und erfolgreiche Therapie ist die Identifikation des Auslösers, da mittels gezielter Behandlung eine Terminierung der pathologischen Inflammation erreicht werden kann. Notwendig ist daher eine umfangreiche und gegebenenfalls invasive diagnostische Abklärung, um beispielsweise ein Lymphom histologisch sichern zu können. Die Pathogenese der sekundären HLH ist komplex, eine Rolle in der Krankheitsentstehung spielen neben der unmittelbaren Triggererkrankung auch eine vorbestehende

Immunsuppression, eine zusätzliche Infektion und genetische Faktoren. Abzugrenzen sind seltene Fälle einer im Erwachsenenalter auftretenden primären HLH. An die Möglichkeit einer hereditären HLH sollte insbesondere bei Patienten mit rezidivierenden HLH-Episoden, HLH ohne identifizierbaren Auslöser, Patienten mit Zeichen eines (partiellen) Albinismus oder jungen Patienten mit EBV-assoziiertes HLH gedacht werden. In diesen Fällen ist die weiterführende Beratung durch ein Referenzzentrum empfehlenswert.

Künftige Analysen sollten sich der weiteren Verbesserung und Optimierung der Diagnostik und Therapie der sekundären HLH widmen, beispielsweise sollte die Rolle von Zytokinprofilen als Ansatzpunkt für die Abgrenzung zu anderen Entitäten beleuchtet werden. Die Identifikation und weitere Untersuchung möglicher genetischer Einflüsse, beispielsweise mittels Exomsequenzierung, könnte zu einem besseren Verständnis der Pathogenese der sekundären HLH beitragen. Weiterhin könnte mit zunehmender Kenntnis der Krankheitsentstehung und der involvierten Signalwege die Therapie nicht nur der HLH, sondern auch anderer Entitäten mit assoziierter Hyperinflammation wie der Graft-versus-host Erkrankung, durch den Einsatz neuer Substanzen verbessert werden. Als Beispiel für den Entitäts-übergreifenden Einsatz molekular-zielgerichteter Substanzen bei Zytokinsturmerkrankungen kann auch die Verwendung des Januskinase-Inhibitors Ruxolitinib oder des Interleukin-1-Rezeptorantagonisten Anakinra bei schwer verlaufender COVID-19 Erkrankung genannt werden.

7 Literaturverzeichnis

- Ahmed A, Merrill SA, Alsawah F, Bockenstedt P, Campagnaro E, Devata S, Gitlin SD, Kaminski M, Cusick A, Phillips T, Sood S, Talpaz M, Quiery A, Boonstra PS, Wilcox RA. 2019. Ruxolitinib in adult patients with secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis: an open-label, single-centre, pilot trial. *Lancet Haematol*, 6 (12):e630-e637.
- Allen CE, Yu X, Kozinetz CA, McClain KL. 2008. Highly elevated ferritin levels and the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*, 50 (6):1227-1235.
- Arca M, Fardet L, Galicier L, Riviere S, Marzac C, Aumont C, Lambotte O, Coppo P. 2015. Prognostic factors of early death in a cohort of 162 adult haemophagocytic syndrome: impact of triggering disease and early treatment with etoposide. *Br J Haematol*, 168 (1):63-68.
- Atteritano M, David A, Bagnato G, Beninati C, Frisina A, Iaria C, Bagnato G, Cascio A. 2012. Haemophagocytic syndrome in rheumatic patients. A systematic review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 16 (10):1414-1424.
- Bains A, Mamone L, Aneja A, Bromberg M. 2017. Lymphoid malignancy-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis: Search for the hidden source. *Ann Diagn Pathol*, 28:37-42.
- Batu ED, Erden A, Seyhoglu E, Kilic L, Buyukasik Y, Karadag O, Bilginer Y, Bilgen SA, Akdogan A, Kiraz S, Ertenli AI, Ozen S, Kalyoncu U. 2017. Assessment of the HScore for reactive haemophagocytic syndrome in patients with rheumatic diseases. *Scand J Rheumatol*, 46 (1):44-48.
- Bodley Scott R, Robb-Smith AHT. 1939. HISTIOCYTIC MEDULLARY RETICULOSIS. *The Lancet*, 234 (6047):194-198.
- Brisse E, Wouters CH, Matthys P. 2016. Advances in the pathogenesis of primary and secondary haemophagocytic lymphohistiocytosis: differences and similarities. *Br J Haematol*, 174 (2):203-217.
- Bryceson YT, Pende D, Maul-Pavicic A, Gilmour KC, Ufheil H, Vraetz T, Chiang SC, Marcenaro S, Meazza R, Bondzio I, Walshe D, Janka G, Lehmborg K, Beutel K, zur Stadt U, Binder N, Arico M, Moretta L, Henter JI, Ehl S. 2012. A prospective evaluation of degranulation assays in the rapid diagnosis of familial hemophagocytic syndromes. *Blood*, 119 (12):2754-2763.
- Canna SW, de Jesus AA, Gouni S, Brooks SR, Marrero B, Liu Y, DiMattia MA, Zaal KJ, Sanchez GA, Kim H, Chapelle D, Plass N, Huang Y, Villarino AV, Biancotto A, Fleisher TA, Duncan JA, O'Shea JJ, Benseler S, Grom A, Deng Z, Laxer RM, Goldbach-Mansky R. 2014. An activating NLRC4 inflammasome mutation causes autoinflammation with recurrent macrophage activation syndrome. *Nat Genet*, 46 (10):1140-1146.

- Cetica V, Sieni E, Pende D, Danesino C, De Fusco C, Locatelli F, Micalizzi C, Putti MC, Biondi A, Fagioli F, Moretta L, Griffiths GM, Luzzatto L, Arico M. 2016. Genetic predisposition to hemophagocytic lymphohistiocytosis: Report on 500 patients from the Italian registry. *J Allergy Clin Immunol*, 137 (1):188-196 e184.
- Chandel HS, Pandey SP, Roy S, Doyen N, Saha B. 2014. TLR-CD40 Cross-Talk in Anti-Leishmanial Immune Response. *Front Immunol*, 5:220.
- Coburn ES, Siegel CA, Winter M, Shah ED. 2020. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis Occurring in Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review. *Dig Dis Sci*.
- Debaugnies F, Mahadeb B, Ferster A, Meuleman N, Rozen L, Demulder A, Corazza F. 2016. Performances of the H-Score for Diagnosis of Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Adult and Pediatric Patients. *Am J Clin Pathol*, 145 (6):862-870.
- Emile JF, Ablu O, Fraitag S, Horne A, Haroche J, Donadieu J, Requena-Caballero L, Jordan MB, Abdel-Wahab O, Allen CE, Charlotte F, Diamond EL, Egeler RM, Fischer A, Herrera JG, Henter JI, Janku F, Merad M, Picarsic J, Rodriguez-Galindo C, Rollins BJ, Tazi A, Vassallo R, Weiss LM, Histiocyte S. 2016. Revised classification of histiocytoses and neoplasms of the macrophage-dendritic cell lineages. *Blood*, 127 (22):2672-2681.
- Fardet L, Galicier L, Lambotte O, Marzac C, Aumont C, Chahwan D, Coppo P, Hejblum G. 2014. Development and validation of the HScore, a score for the diagnosis of reactive hemophagocytic syndrome. *Arthritis Rheumatol*, 66 (9):2613-2620.
- Farquhar JW, Claireaux AE. 1952. Familial haemophagocytic reticulosis. *Arch Dis Child*, 27 (136):519-525.
- Gagnaire MH, Galambrun C, Stephan JL. 2000. Hemophagocytic syndrome: A misleading complication of visceral leishmaniasis in children--a series of 12 cases. *Pediatrics*, 106 (4):E58.
- Gars E, Purington N, Scott G, Chisholm K, Gratzinger D, Martin BA, Ohgami RS. 2018. Bone marrow histomorphological criteria can accurately diagnose hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Haematologica*, 103 (10):1635-1641.
- Goldsmith SR, Saif Ur Rehman S, Shirai CL, Vij K, DiPersio JF. 2019. Resolution of secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis after treatment with the JAK1/2 inhibitor ruxolitinib. *Blood Adv*, 3 (23):4131-4135.
- Greil C, Roether F, La Rosée P, Grimbacher B, Duerschmied D, Warnatz K. 2017. Rescue of Cytokine Storm Due to HLH by Hemoabsorption in a CTLA4-Deficient Patient. *J Clin Immunol*, 37 (3):273-276.

- Gupta A, Weitzman S, Abdelhaleem M. 2008. The role of hemophagocytosis in bone marrow aspirates in the diagnosis of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*, 50 (2):192-194.
- Han AR, Lee HR, Park BB, Hwang IG, Park S, Lee SC, Kim K, Lim HY, Ko YH, Kim SH, Kim WS. 2007. Lymphoma-associated hemophagocytic syndrome: clinical features and treatment outcome. *Ann Hematol*, 86 (7):493-498.
- Hayden A, Lin M, Park S, Pudek M, Schneider M, Jordan MB, Mattman A, Chen LYC. 2017. Soluble interleukin-2 receptor is a sensitive diagnostic test in adult HLH. *Blood Adv*, 1 (26):2529-2534.
- Heidel F, Hochhaus A. 2020. Holding CoVID in check through JAK? The MPN-approved compound ruxolitinib as a potential strategy to treat SARS-CoV-2 induced systemic hyperinflammation. *Leukemia*.
- Henter JI, Elinder G, Ost A. 1991a. Diagnostic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. The FHL Study Group of the Histiocyte Society. *Semin Oncol*, 18 (1):29-33.
- Henter JI, Elinder G, Soder O, Ost A. 1991b. Incidence in Sweden and clinical features of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Acta Paediatr Scand*, 80 (4):428-435.
- Henter JI, Horne A, Arico M, Egeler RM, Filipovich AH, Imashuku S, Ladisch S, McClain K, Webb D, Winiarski J, Janka G. 2007. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*, 48 (2):124-131.
- House IG, Thia K, Brennan AJ, Tothill R, Dobrovic A, Yeh WZ, Saffery R, Chatterton Z, Trapani JA, Voskoboinik I. 2015. Heterozygosity for the common perforin mutation, p.A91V, impairs the cytotoxicity of primary natural killer cells from healthy individuals. *Immunology and Cell Biology*, 93 (6):575-580.
- Hsu SM, Waldron JW, Jr., Hsu PL, Hough AJ, Jr. 1993. Cytokines in malignant lymphomas: review and prospective evaluation. *Hum Pathol*, 24 (10):1040-1057.
- Huck K, Feyen O, Niehues T, Ruschendorf F, Hubner N, Laws HJ, Telieps T, Knapp S, Wacker HH, Meindl A, Jumaa H, Borkhardt A. 2009. Girls homozygous for an IL-2-inducible T cell kinase mutation that leads to protein deficiency develop fatal EBV-associated lymphoproliferation. *J Clin Invest*, 119 (5):1350-1358.
- Imashuku S, Hibi S, Sako M, Ishida Y, Mugishima H, Chen J, Tsunematsu Y. 1995. Soluble interleukin-2 receptor: a useful prognostic factor for patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*, 86 (12):4706-4707.
- Imashuku S, Kuriyama K, Sakai R, Nakao Y, Masuda S, Yasuda N, Kawano F, Yakushijin K, Miyagawa A, Nakao T, Teramura T, Tabata Y, Morimoto A, Hibi S. 2003. Treatment of Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic

- lymphohistiocytosis (EBV-HLH) in young adults: a report from the HLH study center. *Med Pediatr Oncol*, 41 (2):103-109.
- Ishii E, Ohga S, Imashuku S, Yasukawa M, Tsuda H, Miura I, Yamamoto K, Horiuchi H, Takada K, Ohshima K, Nakamura S, Kinukawa N, Oshimi K, Kawa K. 2007. Nationwide survey of hemophagocytic lymphohistiocytosis in Japan. *Int J Hematol*, 86 (1):58-65.
- Janka GE, Lehmborg K. 2014. Hemophagocytic syndromes--an update. *Blood Rev*, 28 (4):135-142.
- Jerome KR, Tait JF, Koelle DM, Corey L. 1998. Herpes simplex virus type 1 renders infected cells resistant to cytotoxic T-lymphocyte-induced apoptosis. *J Virol*, 72 (1):436-441.
- Johnson TS, Terrell CE, Millen SH, Katz JD, Hildeman DA, Jordan MB. 2014. Etoposide selectively ablates activated T cells to control the immunoregulatory disorder hemophagocytic lymphohistiocytosis. *J Immunol*, 192 (1):84-91.
- Kaufman KM, Linghu B, Szustakowski JD, Husami A, Yang F, Zhang K, Filipovich AH, Fall N, Harley JB, Nirmala NR, Grom AA. 2014. Whole-exome sequencing reveals overlap between macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis and familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Arthritis Rheumatol*, 66 (12):3486-3495.
- La Rosée F, Bremer HC, Gehrke I, Kehr A, Hochhaus A, Birndt S, Fellhauer M, Henkes M, Kumle B, Russo SG, La Rosée P. 2020. The Janus kinase 1/2 inhibitor ruxolitinib in COVID-19 with severe systemic hyperinflammation. *Leukemia*.
- La Rosée P. 2015. Treatment of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2015:190-196.
- La Rosée P, Horne A, Hines M, von Bahr Greenwood T, Machowicz R, Berliner N, Birndt S, Gil-Herrera J, Girschikofsky M, Jordan MB, Kumar A, van Laar JAM, Lachmann G, Nichols KE, Ramanan AV, Wang Y, Wang Z, Janka G, Henter JI. 2019. Recommendations for the management of hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Blood*, 133 (23):2465-2477.
- Lachmann G, La Rosée P, Schenk T, Brunkhorst FM, Spies C. 2016. [Hemophagocytic lymphohistiocytosis : A diagnostic challenge on the ICU]. *Anaesthesist*, 65 (10):776-786.
- Lachmann G, Spies C, Schenk T, Brunkhorst FM, Balzer F, La Rosée P. 2018. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis: Potentially Underdiagnosed in Intensive Care Units. *Shock*, 50 (2):149-155.
- Li F, Li P, Zhang R, Yang G, Ji D, Huang X, Xu Q, Wei Y, Rao J, Huang R, Chen G. 2014a. Identification of clinical features of lymphoma-associated hemophagocytic syndrome (LAHS): an analysis of 69 patients with

- hemophagocytic syndrome from a single-center in central region of China. *Med Oncol*, 31 (4):902.
- Li J, Wang Q, Zheng W, Ma J, Zhang W, Wang W, Tian X. 2014b. Hemophagocytic lymphohistiocytosis: clinical analysis of 103 adult patients. *Medicine (Baltimore)*, 93 (2):100-105.
- Lin M, Park S, Hayden A, Giustini D, Trinkaus M, Pudek M, Mattman A, Schneider M, Chen LYC. 2017. Clinical utility of soluble interleukin-2 receptor in hemophagocytic syndromes: a systematic scoping review. *Ann Hematol*, 96 (8):1241-1251.
- Lin TF, Ferlic-Stark LL, Allen CE, Kozinetz CA, McClain KL. 2011. Rate of decline of ferritin in patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis as a prognostic variable for mortality. *Pediatr Blood Cancer*, 56 (1):154-155.
- Liu P, Pan X, Chen C, Niu T, Shuai X, Wang J, Chen X, Liu J, Guo Y, Xie L, Wu Y, Liu Y, Liu T. 2020. Nivolumab treatment of relapsed/refractory Epstein-Barr virus-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis in adults. *Blood*, 135 (11):826-833.
- Locatelli F, Jordan MB, Allen C, Cesaro S, Rizzari C, Rao A, Degar B, Garrington TP, Sevilla J, Putti MC, Fagioli F, Ahlmann M, Dapena Diaz JL, Henry M, De Benedetti F, Grom A, Lapeyre G, Jacqmin P, Ballabio M, de Min C. 2020. Emapalumab in Children with Primary Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *N Engl J Med*, 382 (19):1811-1822.
- Machowicz R, Janka G, Wiktor-Jedrzejczak W. 2017. Similar but not the same: Differential diagnosis of HLH and sepsis. *Crit Rev Oncol Hematol*, 114:1-12.
- Mao H, Tu W, Qin G, Law HK, Sia SF, Chan PL, Liu Y, Lam KT, Zheng J, Peiris M, Lau YL. 2009. Influenza virus directly infects human natural killer cells and induces cell apoptosis. *J Virol*, 83 (18):9215-9222.
- Miller PG, Niroula A, Ceremsak JJ, Gibson CJ, Taylor MS, Birndt S, Perner F, Arnason J, Sperling AS, Agrawal M, Schram AM, Nikiforow S, Pihan G, Hasserjian RP, Aster JC, La Rosée P, Morgan EA, Berliner N, Ebert BL. 2020. Identification of germline variants in adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood Adv*, 4 (5):925-929.
- Minoia F, Bovis F, Davi S, Horne A, Fischbach M, Frosch M, Huber A, Jelusic M, Sawhney S, McCurdy DK, Silva CA, Rigante D, Unsal E, Ruperto N, Martini A, Cron RQ, Ravelli A, Pediatric Rheumatology International Trials Organization tCA, Rheumatology Research Alliance tPRCSG, the Histiocyte S. 2019. Development and initial validation of the MS score for diagnosis of macrophage activation syndrome in systemic juvenile idiopathic arthritis. *Ann Rheum Dis*, 78 (10):1357-1362.
- Mizuta H, Nakano E, Takahashi A, Koyama T, Namikawa K, Yamazaki N. 2020. Hemophagocytic lymphohistiocytosis with advanced malignant melanoma

- accompanied by ipilimumab and nivolumab: A case report and literature review. *Dermatol Ther*:e13321.
- Naymagon L, Tremblay D, Mascarenhas J. 2020. Reevaluating the role of ferritin in the diagnosis of adult secondary hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Eur J Haematol*, 104 (4):344-351.
- Nosedá R, Bertoli R, Müller L, Ceschi A. 2019. Haemophagocytic lymphohistiocytosis in patients treated with immune checkpoint inhibitors: analysis of WHO global database of individual case safety reports. *J Immunother Cancer*, 7 (1):117.
- Otrock ZK, Eby CS. 2015. Clinical characteristics, prognostic factors, and outcomes of adult patients with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Am J Hematol*, 90 (3):220-224.
- Otrock ZK, Hock KG, Riley SB, de Witte T, Eby CS, Scott MG. 2017. Elevated serum ferritin is not specific for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Ann Hematol*, 96 (10):1667-1672.
- Parikh SA, Kapoor P, Letendre L, Kumar S, Wolanskyj AP. 2014. Prognostic factors and outcomes of adults with hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Mayo Clin Proc*, 89 (4):484-492.
- Parrott J, Shilling A, Male HJ, Holland M, Clark-Ganheart CA. 2019. Hemophagocytic Lymphohistiocytosis in Pregnancy: A Case Series and Review of the Current Literature. *Case Rep Obstet Gynecol*, 2019:9695367.
- Ponzoni M, Campo E, Nakamura S. 2018. Intravascular large B-cell lymphoma: a chameleon with multiple faces and many masks. *Blood*, 132 (15):1561-1567.
- Put K, Avau A, Brisse E, Mitera T, Put S, Proost P, Bader-Meunier B, Westhovens R, Van den Eynde BJ, Orabona C, Fallarino F, De Somer L, Tousseyn T, Quartier P, Wouters C, Matthys P. 2015. Cytokines in systemic juvenile idiopathic arthritis and haemophagocytic lymphohistiocytosis: tipping the balance between interleukin-18 and interferon-gamma. *Rheumatology (Oxford)*, 54 (8):1507-1517.
- Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Lopez-Guillermo A, Khamashta MA, Bosch X. 2014. Adult haemophagocytic syndrome. *Lancet*, 383 (9927):1503-1516.
- Ravelli A, Minoia F, Davi S, Horne A, Bovis F, Pistorio A, Arico M, Avcin T, Behrens EM, De Benedetti F, Filipovic A, Grom AA, Henter JI, Ilowite NT, Jordan MB, Khubchandani R, Kitoh T, Lehmsberg K, Lovell DJ, Miettunen P, Nichols KE, Ozen S, Pachlopnik Schmid J, Ramanan AV, Russo R, Schneider R, Sterba G, Uziel Y, Wallace C, Wouters C, Wulffraat N, Demirkaya E, Brunner HI, Martini A, Ruperto N, Cron RQ. 2016a. Expert consensus on dynamics of laboratory tests for diagnosis of macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis. *RMD Open*, 2 (1):e000161.
- Ravelli A, Minoia F, Davi S, Horne A, Bovis F, Pistorio A, Arico M, Avcin T, Behrens EM, De Benedetti F, Filipovic L, Grom AA, Henter JI, Ilowite NT, Jordan MB,

- Khubchandani R, Kitoh T, Lehmborg K, Lovell DJ, Miettunen P, Nichols KE, Ozen S, Pachlopnik Schmid J, Ramanan AV, Russo R, Schneider R, Sterba G, Uziel Y, Wallace C, Wouters C, Wulffraat N, Demirkaya E, Brunner HI, Martini A, Ruperto N, Cron RQ, Paediatric Rheumatology International Trials O, Childhood A, Rheumatology Research A, Pediatric Rheumatology Collaborative Study G, Histiocyte S. 2016b. 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*, 75 (3):481-489.
- Riviere S, Galicier L, Coppo P, Marzac C, Aumont C, Lambotte O, Fardet L. 2014. Reactive hemophagocytic syndrome in adults: a retrospective analysis of 162 patients. *Am J Med*, 127 (11):1118-1125.
- Romberg N, Al Moussawi K, Nelson-Williams C, Stiegler AL, Loring E, Choi M, Overton J, Meffre E, Khokha MK, Huttner AJ, West B, Podoltsev NA, Boggon TJ, Kazmierczak BI, Lifton RP. 2014. Mutation of NLRC4 causes a syndrome of enterocolitis and autoinflammation. *Nat Genet*, 46 (10):1135-1139.
- Rosée PL, Schenk T, Kunert C, Hochhaus A. 2013. Die hämophagozytische Lymphohistiozytose (HLH) und das Makrophagenaktivierungssyndrom (MAS): Klinisches Erscheinungsbild und Diagnostik. *37 (5):217*.
- Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. 2020. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med*, 46 (5):846-848.
- Sandler RD, Tattersall RS, Schoemans H, Greco R, Badoglio M, Labopin M, Alexander T, Kirgizov K, Rovira M, Saif M, Saccardi R, Delgado J, Peric Z, Koenecke C, Penack O, Basak G, Snowden JA. 2020. Diagnosis and Management of Secondary HLH/MAS Following HSCT and CAR-T Cell Therapy in Adults; A Review of the Literature and a Survey of Practice Within EBMT Centres on Behalf of the Autoimmune Diseases Working Party (ADWP) and Transplant Complications Working Party (TCWP). *Front Immunol*, 11:524.
- Sano H, Kobayashi R, Tanaka J, Hashino S, Ota S, Torimoto Y, Kakinoki Y, Yamamoto S, Kurosawa M, Hatakeyama N, Haseyama Y, Sakai H, Sato K, Fukuhara T. 2014. Risk factor analysis of non-Hodgkin lymphoma-associated haemophagocytic syndromes: a multicentre study. *Br J Haematol*, 165 (6):786-792.
- Schram AM, Campigotto F, Mullally A, Fogerty A, Massarotti E, Neuberg D, Berliner N. 2015. Marked hyperferritinemia does not predict for HLH in the adult population. *Blood*, 125 (10):1548-1552.
- Simeni Njonnou SR, Couturier B, Gombeir Y, Verbanck S, Devuyst F, El Hachem G, Theate I, Trepant AL, De Wilde V, Vandergheynst FA. 2019. Pituitary Gland and Neurological Involvement in a Case of Hemophagocytic Syndrome Revealing an Intravascular Large B-Cell Lymphoma. *Case Rep Hematol*, 2019:9625075.

- Stepp SE, Dufourcq-Lagelouse R, Le Deist F, Bhawan S, Certain S, Mathew PA, Henter JI, Bennett M, Fischer A, de Saint Basile G, Kumar V. 1999. Perforin gene defects in familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Science*, 286 (5446):1957-1959.
- Teachey DT, Rheingold SR, Maude SL, Zugmaier G, Barrett DM, Seif AE, Nichols KE, Suppa EK, Kalos M, Berg RA, Fitzgerald JC, Aplenc R, Gore L, Grupp SA. 2013. Cytokine release syndrome after blinatumomab treatment related to abnormal macrophage activation and ameliorated with cytokine-directed therapy. *Blood*, 121 (26):5154-5157.
- Tschistowitsch T, Bykowa O. 1928. Retikulose als eine Systemerkrankung der blutbildenden Organe. *Virchows Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medizin*, 267 (1):91-105.
- Tsuji T, Hirano T, Yamasaki H, Tsuji M, Tsuda H. 2014. A high sIL-2R/ferritin ratio is a useful marker for the diagnosis of lymphoma-associated hemophagocytic syndrome. *Ann Hematol*, 93 (5):821-826.
- Wang J, Wang Y, Wu L, Wang X, Jin Z, Gao Z, Wang Z. 2020. Ruxolitinib for refractory/relapsed hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Haematologica*, 105 (5):e210-e212.
- Wang J, Wang D, Zhang Q, Duan L, Tian T, Zhang X, Li J, Qiu H. 2016. The significance of pre-therapeutic F-18-FDG PET-CT in lymphoma-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis when pathological evidence is unavailable. *J Cancer Res Clin Oncol*, 142 (4):859-871.
- Wang Y, Huang W, Hu L, Cen X, Li L, Wang J, Shen J, Wei N, Wang Z. 2015. Multicenter study of combination DEP regimen as a salvage therapy for adult refractory hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Blood*, 126 (19):2186-2192.
- Wang Y, Wang Z, Zhang J, Wei Q, Tang R, Qi J, Li L, Ye L, Wang J, Ye L. 2014. Genetic features of late onset primary hemophagocytic lymphohistiocytosis in adolescence or adulthood. *PLoS One*, 9 (9):e107386.
- Xu XJ, Tang YM, Song H, Yang SL, Xu WQ, Zhao N, Shi SW, Shen HP, Mao JQ, Zhang LY, Pan BH. 2012. Diagnostic accuracy of a specific cytokine pattern in hemophagocytic lymphohistiocytosis in children. *J Pediatr*, 160 (6):984-990 e981.
- Xu Z, Shi L, Wang Y, Zhang J, Huang L, Zhang C, Liu S, Zhao P, Liu H, Zhu L, Tai Y, Bai C, Gao T, Song J, Xia P, Dong J, Zhao J, Wang FS. 2020. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome. *Lancet Respir Med*, 8 (4):420-422.
- Zeiser R, von Bubnoff N, Butler J, Mohty M, Niederwieser D, Or R, Szer J, Wagner EM, Zuckerman T, Mahuzier B, Xu J, Wilke C, Gandhi KK, Socie G, Group RT. 2020. Ruxolitinib for Glucocorticoid-Refractory Acute Graft-versus-Host Disease. *N Engl J Med*, 382 (19):1800-1810.

Zhang K, Jordan MB, Marsh RA, Johnson JA, Kissell D, Meller J, Villanueva J, Risma KA, Wei Q, Klein PS, Filipovich AH. 2011. Hypomorphic mutations in PRF1, MUNC13-4, and STXBP2 are associated with adult-onset familial HLH. *Blood*, 118 (22):5794-5798.

8 Anhang


Tabellen- und Abbildungsverzeichnis

Tabelle 1. Einteilung der HLH nach zugrundeliegender Ursache, adaptiert nach La Rosée et al. 2019.	11
Tabelle 2. Übersicht der von Mutationen betroffenen Gene bei hereditärer bzw. primärer HLH sowie assoziierter Erkrankungen mit Immundefekt. Tabelle adaptiert nach La Rosée et al. 2019.....	13
Tabelle 3. HLH-2004 Diagnosekriterien nach Henter et al. 2007. Für die Diagnosestellung der HLH müssen entweder mind. 5 der unter 2) genannten Kriterien erfüllt sein oder eine mit der HLH zu vereinbarende molekulargenetische Abberation vorliegen.....	16
Tabelle 4. HScore nach Fardet et al. 2014. Immunsuppression ist definiert als HIV-Infektion oder immunsuppressive Dauertherapie mit z.B. Glukokortikoiden, Cyclosporin oder Azathioprin.....	17
Abbildung 1. Normale Immunantwort am Beispiel einer virusinfizierten Zelle und unkontrollierte Aktivierung bei HLH mit Folge der Hyperinflammation (La Rosée et al. 2013).	12

Ethikvotum

Universitätsklinikum Jena Ethik-Kommission Postfach 07740 Jena

PD Dr. med. P. La Rosée
KIM II / Abt. Onkologie
UKJ
Erlanger Allee 101
07740 Jena



**Universitätsklinikum
Jena**

Ethik-Kommission

Vorsitzende: Prof. Dr. med. Dagmar Barz
Geschäftsstelle: Dr. phil. Ulrike Skorsetz

Bachstraße 18
07743 Jena

Telefon 03641 93 37 70
Telefax 03641 93 37 71

E-Mail: ethikkommission@med.uni-jena.de

18. März 2013

Bearbeitungsnummer: 3728-03/13

Sehr geehrter Dr. La Rosée,

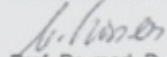
wir haben die Anzeige des Studienvorhabens

Etablierung eines nationalen Registers der hämophagozytischen Lymphohistiozytose des Erwachsenen

zustimmend zur Kenntnis genommen.

Es bestehen keine ethischen Bedenken.

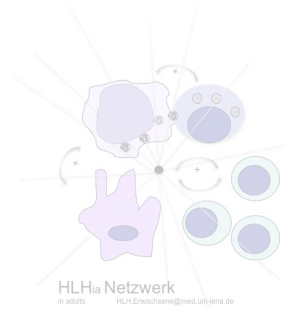
Mit freundlichen Grüßen


Prof. Dr. med. D. Barz
Vorsitzende
(i. A. Dr. U. Skorsetz)

Bachstraße 18 - 07743 Jena - Telefon 03641 93 00
Internet: www.ukj.uni-jena.de
Gerichtsstand Jena
Steuernummer 161 / 144 / 02979 USt-IdNr. DE 150545777
Bankverbindung
Sparkasse Jena BIC 530 500 30 Konto 221

Universitätsklinikum Jena - Körperschaft des öffentlichen Rechts
als Teilgesellschaft der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Verwaltungsvorsitzender: Prof. Dr. Thomas Deute
Medizinischer Vorstand
und Sprecher des Klinikumsrates: Prof. Dr. Klaus Höfler
Wissenschaftlicher Vorstand: Prof. Dr. Klaus Ziemdorf
Kaufmännischer Vorstand: Dr. Burkhard Seidel-Kraem

Patienteneinverständniserklärung



Stempel d. behandelnden Einrichtung/Klinik

Klinik und Poliklinik für Innere Medizin II

**Abteilung Hämatologie und Internistische
Onkologie**
Direktor: Professor Dr. med. A. Hochhaus

Deutsches Patientenregister Erwachsenen-HLH
Studienleiter: Prof. Dr. med. Paul Graf La Rosée
e-mail: HLH.Erwachsene@med.uni-jena.de
Tel. : 03641-9-324201
Fax : 03641-9-324202

Einverständniserklärung

Zur Registrierung der klinischen Daten und Laborparameter bei hämophagozytischer Lymphohistiozytose (HLH).

Patient: _____
Name, Vorname

Geb.Dat.: _____

Die bei Ihnen erhobenen Befunde veranlassten Ihren behandelnden Arzt, die Verdachtsdiagnose einer seltenen Immunerkrankung, der hämophagozytischen Lymphohistiozytose – kurz „HLH“ – zu stellen. Diese Erkrankung tritt häufig zusammen mit einer die HLH verursachenden Erkrankung auf. Aufgrund der Seltenheit des Krankheitsbildes im Erwachsenenalter gibt es hierfür noch keine Therapiestandards. Wir sind bemüht, durch Deutschland-weite Registrierung von Patienten und wissenschaftliche Analyse der gesammelten Daten diese Wissenslücke kleiner zu machen. Unser Ziel ist es, die Diagnosestellung zu beschleunigen, und durch Auswertung der Therapieergebnisse auch Leitlinien für erwachsene Patienten mit HLH zu erstellen.

Hierfür haben wir eine Datenbank erstellt, welche die wichtigsten klinischen Daten und die für eine Diagnosestellung notwendigen Laborparameter anonymisiert enthält.

Das klinische Register dient auch der Vernetzung von Ärzten, welche Patienten mit einer HLH behandeln. Es ermöglicht Therapieberatung bei einer seltenen, oft sehr individuell zu behandelnden Erkrankung. Unser Ziel ist es auch, mit dem HLH-Register die Wachsamkeit ärztlicher Kollegen gegenüber möglichen Symptomen einer HLH zu erhöhen.

Mit Ihrer Unterschrift bestätigen Sie die Zustimmung zur Speicherung und wissenschaftlichen Untersuchung ihrer anonymisierten Daten.

Ich erkläre, dass ich mit der Speicherung und Übermittlung meiner anonymisierten Daten zur wissenschaftlichen Auswertung einverstanden bin.

Ja [] Nein []

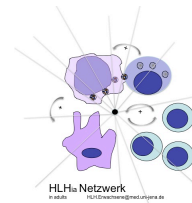
Ort, Datum Unterschrift
Patient

Ort, Datum, Unterschrift
Aufklärender Arzt

Bachstraße 18 · 07743 Jena · Telefon 03641 93 00
Internet: www.uniklinikum-jena.de
Gerichtsstand Jena
USt.-IdNr. DE 150545777
Bankverbindung:
Sparkasse Jena · BLZ 830 530 30 · Konto 221

Universitätsklinikum Jena · Körperschaft des öffentlichen Rechts
als Teilkörperschaft der Friedrich-Schiller-Universität Jena
Verwaltungsratsvorsitzender: Markus Hoppe
Medizinischer Vorstand und Sprecher des Klinikumsvorstands:
Priv.-Doz. Dr. med. Jens Maschmann
Wissenschaftlicher Vorstand: Prof. Dr. Klaus Benndorf
Kaufmännischer Vorstand: Dr. Brunhilde Seidel-Kwem

Dokumentationsbogen



Deutsches Patientenregister Erwachsenen-HLH

Studienleiter: Prof. Dr. med. Paul Graf La Rosée
 Klinik für Innere Medizin II
 Hämatologie, Onkologie, Immunologie, Infektiologie u.
 Palliativmedizin
 Schwarzwald Baar Klinikum
 Klinikstr. 11
 78052 Villingen-Schwenningen
 e-mail : paul.larosee@sbk-vs.de
Telephon +49 (0)7721 93-4001
Fax +49 (0)7721 93 94099
Mobil: 0176-60863186

Koordinator des Registers :

Dr. med. Thomas Schenk
 Universitätsklinikum Jena
 Klinik für Innere Medizin II, Hämatologie u. internistische Onkologie
 Erlanger Allee 101
 07747 Jena
 e-mail: HLH.Erwachsene@med.uni-jena.de
 Tel. : 03641-9-324201

Dokumentationsbogen Registerstudie HLH (Erwachsene)

Allgemeine Patientendaten:

Patienten ID:

Geburtsdatum:

Zentrum:

behandelnder Arzt:

Datum des *follow up*:

lebend: ; verstorben:
 (ankreuzen)

Sterbedatum:

Diagnosen:

HLH-Diagnose:

Erstdiagnose der HLH (Datum):

Zeit bis zur HLH-Diagnose:
 [Tage]

Immundefizienzsyndrom *:

(*z.B. Chédiak-Higashi, Griscelli, X-linked lymphoproliferative syndrome)

Mutation **:

(** z.B. Perforin, UNC13D, Syntaxin11, UNC18B)

NK/T-Zell Funktion (FACS) ***:

(*** Perforin, XIAP, SAP, CD107a), erniedrigte NK-Zellen)

HLH - Trigger *****:

(***** z.B. Infektion, Lymphom, rheumatische Erkrankung, Transplantation)

HLH-Registerstudie

CRF_v2.0 Blatt 2

Therapie:

Zeit bis zur Therapieeinleitung seit Auftreten erster Symptome [Tage]:

Klinik:

Fieber (ja/nein):

Neurologische Symptomatik (ja/nein):

Splenomegalie (ja/nein; ggf. Milzgröße [cm]):

Labor:

(für HLH-Diagnosekriterien wichtige Parameter sind unterstrichen)

Hämoglobin (g/dl):Neutrophile Granulozyten (Gpt/L):Thrombozyten (Gpt/L):Fibrinogen (g/l):Triglyzeride [mmol/L] (initial u. maximal):Ferritin [$\mu\text{g/L}$] (initial u. maximal):sIL2R (löslicher IL2-Rezeptor) [U/ml] (Maximalwert):Hämophagozytose ja/nein (Liquor; Knochenmark; Lymphknoten):

Protein i. Liquor [mg/L]:

LDH [$\mu\text{mol/L*s}$] (initial u. maximal):ALAT [$\mu\text{mol/L*s}$] (initial u. maximal):ASAT [$\mu\text{mol/L*s}$] (initial u. maximal):Bilirubin direkt [$\mu\text{mol/L}$] (initial u. maximal):Ammoniak [$\mu\text{mol/L}$] (Maximalwert)

EBV IgG initial:

EBV [Kopien/mL] (Maximalwert):

Albumin (g/l):

D-Dimer ($\mu\text{g/L}$):

CRP [mg/L]:

Procalcitonin [ng/mL]:

Andere:

_____, den _____

Name, Stempel, Unterschrift

Seite 2 von 2

Ehrenwörtliche Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass mir die Promotionsordnung der Medizinischen Fakultät der Friedrich-Schiller-Universität bekannt ist,

ich die Dissertation selbst angefertigt habe und alle von mir benutzten Hilfsmittel, persönlichen Mitteilungen und Quellen in meiner Arbeit angegeben sind,

mich folgende Personen bei der Auswahl und Auswertung des Materials sowie bei der Herstellung des Manuskripts unterstützt haben:

Prof. Dr. med. Paul Graf La Rosée

die Hilfe eines Promotionsberaters nicht in Anspruch genommen wurde und dass Dritte weder unmittelbar noch mittelbar geldwerte Leistungen von mir für Arbeiten erhalten haben, die im Zusammenhang mit dem Inhalt der vorgelegten Dissertation stehen,

dass ich die Dissertation noch nicht als Prüfungsarbeit für eine staatliche oder andere wissenschaftliche Prüfung eingereicht habe und

dass ich die gleiche, eine in wesentlichen Teilen ähnliche oder eine andere Abhandlung nicht bei einer anderen Hochschule als Dissertation eingereicht habe.

Jena, 20.06.2020

Sebastian Birndt

Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

Danksagung

Ich bedanke mich herzlich bei allen, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

An erster Stelle gilt mein Dank Herrn Prof. Dr. med. Paul Graf La Rosée für die Überlassung des interessanten Themas, die ausgezeichnete Betreuung und die vielen hilfreichen Hinweise und konstruktiven Anmerkungen.

Weiterhin danke ich Herrn apl. Prof. Dr. med. Thomas Ernst für die Möglichkeit, die molekulargenetischen Untersuchungen in seinem Labor durchführen zu können. Der Arbeitsgruppe Molekulare Hämatologie danke ich für die allzeit angenehme Arbeitsatmosphäre und die unkomplizierte Hilfe bei aufgetretenen Fragen.

Ein weiterer Dank gilt Herrn Dr. med. Thomas Schenk für seine fortwährende Unterstützung und Diskussion bei der Interpretation der Ergebnisse.

Herrn Prof. Dr. med. Andreas Hochhaus, Direktor der Klinik für Innere Medizin II am Universitätsklinikum Jena, danke ich für die Möglichkeit der Durchführung der Arbeit in seiner Klinik.

Weiterhin möchte ich mich bei dem Team der Studienzentrale der Klinik für Innere Medizin II für das angenehme Arbeitsumfeld danken.

Dem interdisziplinären Zentrum für klinische Forschung (IZKF) am Universitätsklinikum Jena danke ich für gewährte Unterstützung in Form eines Promotionsstipendiums.

Darüber hinaus danke ich allen Patienten für die Bereitschaft zur Teilnahme an dem HLH-Register und allen behandelnden Ärzten für die Übermittlung entsprechender klinischer Daten.

Schließlich danke ich meinen Eltern und meiner Familie für die fortwährende Unterstützung und die Ermöglichung des Studiums.