

X kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség

VÁRSZEGI ÁGNES¹, ERDŐS MELINDA², PRINZ GYULA¹, MARÓDI LÁSZLÓ²

¹Szent László Kórház IV. sz. Belgyógyászati Osztály és ²Debreceni Egyetem OEC, Infektológiai és Gyermekimmunológiai Tanszék.

A világ felnőtt lakosságának 90-95%-ában lehet Epstein-Barr vírus (EBV) elleni antitesteket kimutatni, ami azt bizonyítja, hogy a vírus igen elterjedt. Hogy a vírussal való első találkozás mikor következik be és hatására milyen megjelenésű és súlyosságú betegség jelentkezik, több külső tényező, ill. genetikai ok következménye (1).

Földrajzi, gazdasági és szociális körülményektől függően változik, hogy a primer infekció mely életkorban jelentkezik és okoz-e tüneteket egyáltalán. A harmadik világbeli országokban és az élet korai szakában az EBV fertőzés általában tünetmentes, míg a fejlettebb országokban a fertőzés későbbi életkorra tolódik, ezért gyakran infektív mononucleosis (IM) képében jelentkezik. Az esetek túlnyomó részében az IM komplikációk nélkül rövid időn belül gyógyul, kis százalékban pedig krónikus EBV fertőzésben folytatódik (1, 2).

Az EBV okozhat még haemophagocytás lymphohistiocytosist, hajjas sejtes leukoplakiát, Hodgkin kórt, Burkitt lymphomát, HIV fertőzöttek Non-Hodgkin lymphomáját, vagy nasopharyngealis carcinomát (1).

Ritka, 1 : 1 000 000 előfordulási gyakoriságú (3), X kromoszómához kötött öröklődő, ezért fiúkban manifesztálódó primer immundeficienciával járó kórkép, az X kromoszómához kötött lymphoproliferatív betegség (X-linked lymphoproliferative disease, XLP), amelyben az EBV fertőzés gyakran halálos kimenetelű. A kórképet David Purtilo először egy Duncan nevű családban ismerte fel (3, 4), emiatt az irodalomban a Duncan's disease és Purtilo disease elnevezések is fellelhetők.

Pályázatunkban egy genetikailag igazolt XLP-ben szenvedő beteg és családja esetét ismertetjük.

ESETISMERTETÉS

2005. szeptember közepétől október közepéig a Szent László Kórház IV. Belgyógyászati Osztályán kezeltünk egy 20. életévében lévő, vegetáriánus fiút. A beteget 3 éves korában invaginatio miatt operálták a Szegedi Orvostudományi Egyetem Gyermekklinikáján. A műtét során vett vékonybél rezekátumban, szövettanilag diffúz, nagy B-sejtes, Non-Hodgkin lymphomát igazoltak (CD20+ immunoblastos morfológiai variáns, aktivált B-sejt-szerű fenotípussal). A műtétet követően cyclophosphamid, vincristin, prednisolon, doxorubicin kezelésben részesült, majd 2002-ig gondozták. Relapsusa, egyéb betegsége nem volt.

2005. szeptember elején a betegnek felső légúti hurutos tünetei jelentkeztek, lázzal, pharyngitissel. Egy hét múlva egy vidéki kórházba került nem szűnő magas láz, nyugalmi dyspnoe miatt; belövellt tonsillákat és nyaki nyirokcsomó megnagyobbodást észleltek. Tonsillitis follicularisra gondolva amoxicillin-klavulánsav kezelést indítottak. Másnap a

szemek körül és az arcon jelentkező duzzanat miatt az antibiotikumot - penicillin allergiát feltételezve - levofloxacinra váltották. Három nap kórházi kezelés után a fiút a szülei otthonába vitték, ahol rövid időn belül sárgaság jelentkezett. Ambuláns laborvizsgálat során kóros májfunkciós értékeket találtak: Se. Bilirubin, 144.6 $\mu\text{mol/l}$; GOT, 244 U/l; GPT, 254 U/l; GGT, 451 U/l; vérképében mononuclearis sejtsszaporulat volt.

Betegségének harmadik hetében került felvételre a Szent László Kórház IV. Belgyógyászati Osztályára súlyos általános állapotban. Felvételekor láz (40 °C), 130/min pulzusszám, tachypnoe és nyugalmi dyspnoe volt észlelhető. Vizsgálatakor a csaknem összeérő tonsillákon konfluáló lepedék volt látható, jelentős nyaki nyirokcsomó megnagyobbodást, icterust, a jobb bordaívét 3 cm-rel meghaladó májat, megnagyobbodott lépét, a hasban közepes mennyiségű szabad hasúri folyadékot észleltünk. Első laboratóriumi

INR	3,4
prothrombin	25 %
GOT	3975 U/l
GPT	1418 U/l
GGT	292 U/l
ALP	587 U/l
bilirubin	315 $\mu\text{mol/l}$
LDH	6614 U/l
fehérje	47 g/l
albumin	22 g/l
karbamid	3,3 mmol/l
kreatinin	57 $\mu\text{mol/l}$
hemoglobin	97 g/l
MCV	86 fl
fehérvérsejt	10 G/l
thrombocyta	76 G/l
We	30 mm/h

1.táblázat. Felvételi laborértékek

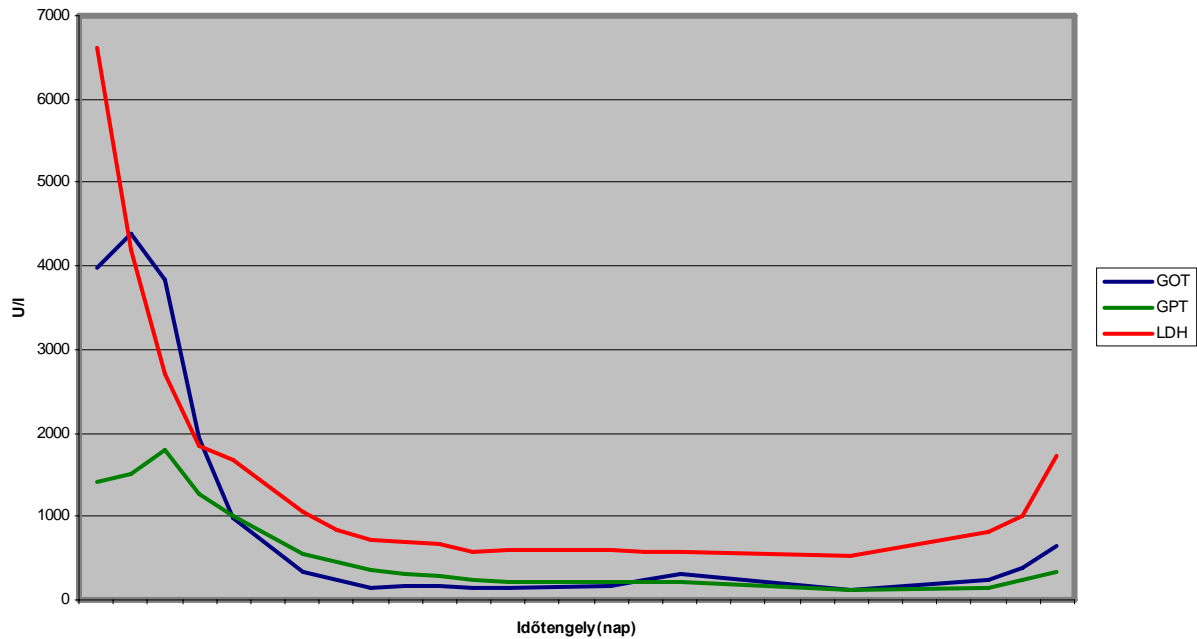
eredményei (1.táblázat) akut májelégtelenségre utaltak, megtartott vesefunkciókkal. Mérsékelt normocytas, normochrom anaemia, thrombocytopenia, normális fehérvérsejtszám mellett a vvt. süllyedése 30 mm/ó volt. A csökkenő prothrombin érték (INR: 4.18) miatt a beteg ápolásának 2. napján akut májtranszplantációs listára került. Felvételétől napi 250 mg methylprednisolon kezelésben részesült, ill. egy alkalommal phytomenadiont kapott intravénásan, mivel a vegetáriánus életmód miatt K vitamin hiányt feltételeztünk.

Mellkas és hasi CT vizsgálat során kis hydrothorax, hepatosplenomegalia, közepes mennyiségű ascites és paraaortikusan, a bal vese mellett, néhány 1,5-2 cm-es nyirokcsomó ábrázolódott. Infiltráció a májparenchymában nem volt. A kórelőzményben szereplő lymphoma miatt, a második napon sternumpunctio történt. A csontvelő mikroszkópos vizsgálata nem volt kórjelző, immunfeno-típezéssel magas T sejt arány volt megfigyelhető, ezen belül a CD8+ sejtek, ill.

minimálisan az NK sejtek aránya volt emelkedett. Ápolásának 3. napján nyaki nyirokcsomó excisio történt, a szövettani vizsgálat extrém mértékben hyperplasisas paracortexet, eltűnt folliculusokat, illetve heterogén sejtösszetételű paracortexet mutatott. A lymphocyták mellett sok aktivált lymphoid sejt, immunoblast, korai plazmasejt érési formák, macrophagok voltak láthatók. A sinusok aktivált lymphocytá sejteteket és macrophagokat tartalmaztak. A paraffinos blokkból izolált DNS-en immunoglobulin nehézlánc és T sejt receptor génátrendeződés vizsgálat során klonális génterméket kimutatni nem lehetett.

Az időközben elvégzett laborvizsgálatok (ANF, AMA, SMA, Hepatitis A, B, C, Parvovirus B19, HIV 1,2, CMV, coeruloplasmin) nem voltak kórosak, az Epstein –Barr vírus szerológia heveny EBV infekcióra jellemző képet mutatott: heterophil antitest, negatív; EBV-CA IgM, 1:40; EBV-CA IgA, 1:160; EBV-CA, IgG; 1:2560, EBV anti-EBNA IgG, negatív; (rheuma faktor mentesített szérumból végzett végpont titrálási eredmények). Szérumában polyclonalis IgA és IgM szaporulat volt detektálható.

Májfunkciós értékei javultak, a 3. napon az INR jelentősen csökkent (reggel 3.9, este 2.1), prothrombinja nőtt (reggel 21%, este 42%) emiatt a májtranszplantációs listáról levették. A szérum bilirubin értékei kivételével, amelyek betegsége alatt végig 250-300 $\mu\text{mol/l}$ körül mozogtak, májfunkciós értékei javulást mutattak (1.ábra), INR értéke 7 nap alatt 1.35-re csökkent.



1.ábra. GOT, GPT, LDH értékek alakulása a napok függvényében

A kezelés 3. napján oropharyngeális candidiasis jelentkezett, a jelentős nyelési fájdalom miatt a tonsillák bakteriális fertőzését feltételeztük. Fluconazolt és clindamycint kaptott, majd a torokváladék (*Streptococcus C* csoport) ismeretében később penicillinre tértünk át.

A 4. napon a nyirokcsomóbiopszia területéről induló szivárgó vérzés, a csökkenő thrombocytaszám és D-dimer pozitivitás alapján DIC lehetősége merült fel. Az elkövetkezendő 3 napban 22 E thrombocyta koncentrátum, 11 E friss fagyasztott plazma és 5 E szűrt vvt. koncentrátum adásával véralvadási zavarát rendezni tudtuk.

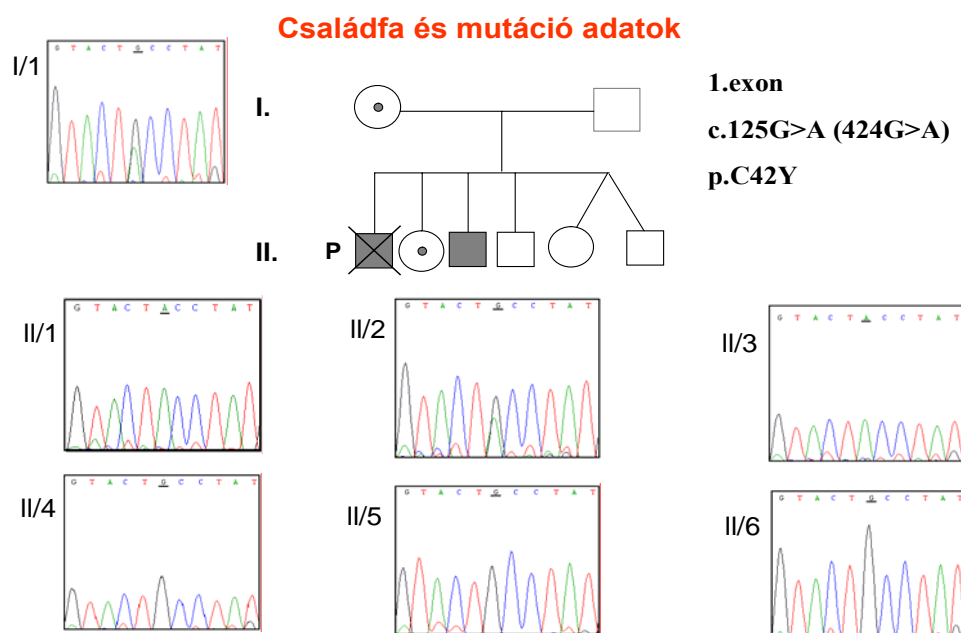
A 6. napon enyhe leukopeniát és granulocytopeniát észleltünk, a már felvételekor is meglévő anaemia és thrombocytopenia mellett. Kezelésének 15. napján az összfehérvérsejtszám $1060/\text{mm}^3$ az abszolút neutrophil szám 0 volt. A 15. napon észlelt keringésmegingás háttérében bacteraemiát feltételeztünk, dopamin kezelést indítottunk. Kolóniastimuláló faktort (G-CSF) és szepszis gyanúja miatt imipenemet kaptott. Hemokultúráiból kórokozó nem tenyésztett. A kezelés mellett állapota stabilizálódott, a presszoramint 6 nap elteltével el lehetett hagyni, fehérvérsejt (5,6 G/l) és neutrophil (3,22 G/l) száma a 18. napra normalizálódott.

A 17. napon crista biopsziát végeztünk. Szövettanilag az egyenetlen, átlagosan 20%-os cellularitású csontvelőben hypocellularis, aplasias szakasz utáni korai, relatív jó regenerációt mutató, myeloid és megakaryocyt sejtsor mellett az erythropoesis csaknem teljesen hiányzott, kis mértékű hemophagocytosis volt látható. A perifériás vér immunfenotípus vizsgálata ekkor sem utalt malignus sejtklón jelenlétére, a vérplazmában és monoclonaris sejtekben, real-time PCR-rel, EBV genom nem volt kimutatható. XLP betegséget feltételezve elvégeztük az SH2D1A gén bidirekcionális szekvenálását. Az EDTA-s vérből izolált genomikus DNS felhasználásával, PCR-rel amplifikáltuk az XLP gén 4 exonját és az exon-intron határokat. A szekvencia analízist ABI PRISM 3130 génszekvenáló készülékkel végeztük. A kapott szekvenciákat internetes adatbázisban megtalálható normál génszekvencia adatokkal hasonlítottuk össze. Az eredmények azt mutatták, hogy a beteg az XLP gén 1.

exonján c.125G>A missense mutációt hordoz, amely a 42. aminosav pozícióban cisztein→tirozin cserét eredményez (2.ábra).

A kezelés 4. hetében ismét oropharyngeális candidiasist észleltünk, amelyre fluconazolt adtunk. A jobb oldali hónaljrákában porckemény nyirokcsomók jelentek meg, ebből aspirációs cytológiai mintavétel történt. Annak ellenére, hogy a beavatkozás UH vezérelve történt, szövődményként jobb oldali köpeny pneumothorax (PTX) alakult ki. A cytológia vizsgálat alapján felmerült a malignitás gyanúja.

A PTX miatt a beteg kórházunk intenzív terápiás osztályán tartós mellkasi szívásra szorult. Ismét magas lázak jelentkeztek, meropenem+amikacin kombinációt alkalmaztunk. Az ekkor levett hemokultúrában Gram negatív pálcá tenyésztett. Traszfúzióra és thrombocytá pótlásra szorult. Az intenzív osztályos kezelés 4. napján keringési elégtelenség tünetei között exitált. A halála előtti napokban májenzim értékei és LDH értéke ismét megemelkedtek.



2.ábra. Családfa és génszekvencia adatok. A proband és fiútestvére a c.125G>A missense mutációra hemizigóták, az anya és az egyik lánytestvér hordozó

Kórbonctani és kórszövettani leletek

A >50% cellularitású csontvelőben gócos necrosis nyomai és regenerálódó vérképzés, kisebb mértékű haemophagocytosis. A jobb axillaris régió nyirokcsomóiban kiterjedt necrosisok mellett monomorf, nagysejtes infiltrátumok, plasmablast karakterű, CD 20+ sejtekkel, magas apoptotikus rátával. A nyirokcsomó vizsgálata polyclonalitást mutatott.

A májban centrilobularis és multiplex centro-portalis bridging szubmasszív májnecrosis, súlyos cholestasis. A portalis terekben masszív lymphoplasmocytoid, atypusos, de heterogén, döntően kissejtes, T sejt túlsúlyú infiltrátumok. A makroszkóposan észlelt borsónyi és túszerűsárga gócban monomorf, nagy B-sejtes infiltrátum, melyből visszaizolált DNS mintában végzett immunglobulin nehézlánc génátrendeződés vizsgálat során klonális géntermék volt kimutatható.

A tüdőben, makroszkóposan a jobb tüdő alsó lebenyében, körülírt kis gócban szintén monomorf nagy B sejt infiltrátum.

A szívizomzat térképszerűen márványozott, kevert sejtösszetételű gócos lymphoid infiltráció.

A vesékben cholaemias nephrosis. Az agyban és a lépben patológiás eltérés nem figyelhető meg.

MEGBESZÉLÉS

A beteg családjában a mindennapokban gyakran használtak gyógynövény kivonatokat immunerősítésre, öngyógyításra. Több alkalommal észleltük, hogy betegünk is kapott ismeretlen összetételű gyógyhatású készítményt. Felmerült a kérdés, nem kapott-e hepatotoxicus készítményt a betegség tüneteit megelőzően. Ezt utólag pontosan tisztázni nem lehet.

A szokatlanul magas transzamináz értékek, a dominálónan emelkedett GOT értékek, a láz, autoimmun hepatitis lehetőségét is felvetették, különösképpen, hogy 4 évvel fiatalabb öccsénél lineáris morphea betegség fennállásáról tudomásunk volt. Az autoimmun eredetet cáfolták később megérkező leletei, amelyekben csupán enyhe ANF pozitivitás igazolódott.

A kórelőzményben szereplő lymphoma relapsusának lehetősége is felmerült. Ezt a nyaki nyirokcsomó hisztológiai és citogenetikai vizsgálata, és a csontvelő ismételt vizsgálata nem igazolta. e

Réz anyagcserezavarra sem a caeruloplasmin szint, sem a szemészeti vizsgálat nem utalt. Hangsúlyozandó azonban, hogy e kettő negativitása a Wilson kórt nem feltétlenül zárja ki, ehhez genetikai vizsgálatok szükségesek. Esetünkben az időközben megérkezett vírus szerológiai vizsgálatok más megvilágításba helyezték a kórképet, így a fent említett differenciáldiagnosztikai problémát rejtő lehetőségek háttérbe szorultak.

Esetünkben egy IM-szerű, de annál sokkal kifejezettebb tüneteket produkáló betegséggel álltunk szemben, amely akut májelégtelenségben is megnyilvánult. Ez szteroid mellett javulni látszott, miközben rendkívül gyorsan, pár nap elteltével, DIC alakult ki. Ezt időrendi sorrendben lázas neutropenia, keringésmegingást okozó szepszis, aplasztikus vérképzés, végül kórbonctanilag igazolt fatális infektív mononucleosis (FIM) okozta májelégtelenség miatt bekövetkezett halál követetett.

Az XLP-nek több megjelenési formája ismert, melyek egymástól szeparáltak, vagy úgy, mint azt a mi betegünkben is láthattuk egymással variálódva is megjelenhetnek az érintett fiúkban (5, 6). Túlnyomó többségben három fő fenotípus figyelhető meg. Az esetek kb. 50-60%-ában FIM, 25-30%-ban dys- vagy hypogammaglobulinaemiát és szintén 25-30%-ban lymphomát okoz ez az immundeficiencia (1, 4, 5, 7, 8). A legtöbb lymphoma B típusú Burkitt, vagy diffúz nagy B sejt lymphoma (7). Kevésbé gyakori klinikai manifesztációk a cytopeniak, az aplasztikus anaemia és a lymphoid vasculitis (3, 8). Az általunk észlelt esetben tehát FIM, cytopenia, aplasztikus fázis, IgA és IgM szint emelkedéssel járó dysgammaglobulinaemia, XLP-ben gyakori halálókként megjelölt szepszis, és post mortem bizonyítást nyert májra lokalizálódó diffúz nagy B sejt lymphoma volt jelen.

Fontos kérdés, hogy primer EBV infekciót követően alakult-e ki ez a fulmináns lefolyású tünetegyüttes? A szerológiában megmutatkozó EBV-CA IgM 1:40 pozitivitás, anti-EBNA negativitás akut fertőzésre utal. Ugyanakkor a betegség 6. hetében Real-time PCR-rel megvizsgált perifériás vér mononuclearis sejtjeiben és a plazmában nem volt kimutatható vírusgenom. Ismert, hogy akut IM-ben a betegség kezdetétől számított 10. napon a legmagasabb az EBV DNS kópiaszám a vérben (1,5x10.4 kópia/ml) és a mononuclearis

sejtekben (4,8x 10.3 kópia/ 10.6 sejt). A vírusszám felezési ideje 3 nap (9). Az irodalomban arra vonatkozó adatot nem találtunk, hogy a vírusszám feleződés XLP-ben milyen ütemben történik. Lymphoproliferatív betegség fennállása 1000 kópia/100 ul plazma és 5000 kópia/ug genomális DNS mennyiségek felett biztosnak mondható. A beteg felvételi vérmintájának PCR vizsgálata nem történt meg.

Folyamatban lévő vizsgálataink célja annak kimutatása, hogy a általunk észlelt lymphomában jelen van-e EBV genom, továbbá a 3 éves korában lezajlott NHL-szövet tartalmazza-e ugyanezt? Jól ismert, hogy nem szükséges EBV infekció ahhoz, hogy az XLP valamilyen klinikai formája - legyen az lymphoma, ami többnyire ileocecalis elhelyezkedésű (7), vagy gammaglobulinaemia - megjelenjen a betegben (5, 10). Az XLP regiszter adatai alapján a fiúk 12 -13 % -a már mutat valamilyen tünetet a primer EBV infekció előtt (5, 8). A mi betegünknek 3 éves korában történt invaginatio miatti műtét során nyert vékonybél rezekátumban Non-Hodgkin lymphoma igazolódott. Bár tudjuk, hogy a daganatok mindössze 25%-ban mutatható ki EBV (5), ennek az első lymphomából való kimutatása esetén az egész történetet újra át kell gondolni. Egyrészt, mert a primer EBV infekciót követően az érintett fiúk 40%-ában FIM, míg másokban lymphoproliferatív betegség, dysgammaglobulinaemia, haematológiai cytopeniák alakulnak ki, míg néhány esetben tünetek egyáltalán nem jelentkeznek (5), másrészt mert felvételekor EBV-VCA IgM pozitivitást észleltünk.

Kimutatták, hogy nincs különbség EBV-vel infektálódott és EBV-vel nem fertőzött XLP-s csoportokban abban a tekintetben, hogy a tünetek mely életkorban manifesztálódnak. Vagyis XLP-s fiúkat szükségtelen EBV infekciótól óvni, a tünetek e nélkül is jelentkezni fognak (5). Nem találtak különbséget abban a tekintetben sem, hogy az XLP kialakulásáért felelős SH2D1A gén mely szakaszát és milyen mutáció éri. A betegség kimenetele és klinikuma ettől független (5). Ez és a fentiek mind arra utalnak, hogy más genetikai és/vagy környezeti hatásoknak is szerepet kell játszaniuk abban, hogy mennyire érzékeny egy XLP-s fiú az EBV infekcióra és hogy a betegség milyen megjelenési formája alakul ki benne (5).

A beteg családja genetikai vizsgálatával kiderült, hogy egy fiú- és egy lánytestvére szintén hordozza ezt a hibás gént, amelyet édesanyjuk örökölt tovább. A fiútestvér csontvelő őssejt transzplantációja azóta megtörtént. Betegünket megmenteni nem tudtuk, de öccsének a genetikai vizsgálat alapján esélyt adtunk a gyógyulásra (2. ábra). A lánytestvér majdani fiúgyermekében az esetleges XLP átörökítést prenatalis diagnosztikával tudjuk kimutatni. Arról tudomásunk nincs, hogy az anyai felmenőkben az XLP valamelyik fenotípusa megjelent volna, vagyis ebben a családban dokumentáltan ez az első manifesztálódott eset.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnénk köszönetet nyilvánítani Trethon Andrásnak, akiben először felmerült, hogy XLP-vel állunk szemben és Barta Anikó, Csomor Judit, Király Ágnes, Mihály Ilona, Szabó Zsuzsa, Fekete Sándor, Gopcsa László, Kriván Gergely doktoroknak akik tevékenységükkel és tanácsaikkal segítették munkánkat.

IRODALOM

1. Hoffman R, Edward JB, et al: Haematology 4 th edition 2005.
2. Reese RE, Betts RF: A Practical Approach to Infectious Diseases 4 th edition 1996.
3. Purtilo DT, Cassel CK, Yang JP, Harper R: X-linked recessive progressive combined variable immunodeficiency (Duncan's disease) *Lancet* 1975. 7913: 935-940
4. Strahm B, Rittweiler K, Duffner U, Brandau O, Orłowska-Volk M, Karajannis MA: Recurrent B-cell non-Hodgkin lymphoma in two brothers with X-linked lymphoproliferative disease without evidence for Epstein-Barr virus infection *Br J haem* 2000. 108, 377-382
5. Sumegi J, Huang D, Lanyi A, et al: Correlation of mutations of SH2D1A gene and Epstein-Barr virus infection with clinical phenotype and outcome in X-linked lymphoproliferative disease *Blood* 2000. 96: 3118-3125
6. Purtilo DT, Sakamoto k, Barnabei VA, et al: Epstein- Barr virus- induced diseases in boys with X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP) *Am J Med* 1982. 73: 49-56
7. Harrington DS, Weisenburger PD, Purtilo DT: Malignant lymphoma in the X-linked lymphoproliferative syndrome *Cancer* 1987. 59: 1419- 1429
8. Seemayer TA, Gross TG, Egeler RM, et al: X-linked lymphoproliferative disease: Twenty- five years after the discovery *Pediatr Res* 1995. 38: 471-478
9. Balfour HH, Holman CJ, Giesbrecht JE, et al: Quantitative Epstein-Barr virus (EBV) shedding during acute infectious mononucleosis: the kissing disease confirmed Program and abstracts of 43rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September 14-17, 2003. Chicago, Illinois. Abstract V-1292
10. Brandau O, Schuster V, Weis M, et al: Epstein-Barr virus-negative boys with non-Hodgkin lymphoma are mutated in SH2D1A gene, as are patients with X-linked lymphoproliferative disease (XLP) *Hum Mol Genet* 1999. 8: 2407-13