

*ELŻBIETA WAWRZYNIAK-DZIERŻEK¹, AGNIESZKA POMYKAŁA¹, GRAŻYNA WRÓBEL¹,
KORNELIA GAJEK¹, JOWITA FRĄCZKIEWICZ¹, MAŁGORZATA SALAMONOWICZ¹,
KATARZYNA BĄBOL-POKORA², MAREK USSOWICZ¹

Trudności diagnostyczne i lecznicze w małopłytkowości odpornej na leczenie – opis przypadku

Diagnostic and therapeutic difficulties in a refractory thrombocytopenia – a case report

¹Klinika Transplantacji Szpiku, Onkologii i Hematologii Dziecięcej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Kierownik Kliniki:

²Klinika Pediatrii Onkologii i Hematologii, Uniwersytet Medyczny w Łodzi

Kierownik Kliniki:

Summary

The most common cause of thrombocytopenia in children is the immune thrombocytopenia, diagnosed in case of typical clinical manifestation and after exclusion of other background. In the case of refractory immune thrombocytopenia, the diagnostic approach should be expanded due to possible other etiology. In the new-born male, thrombocytopenia was discovered immediately after birth. The pregnancy was uncomplicated, and the family did not reveal significant morbidities. During the work-up, the most common causes of thrombocytopenia in neonatal age were excluded, including infectious background, fetal hypoxia, alloimmune thrombocytopenia, and myeloproliferative diseases. The patient was treated according to the recommendations for the management of immune thrombocytopenia, but did not achieve normalization of the platelet number. The genetic testing identified a mutation in the *WAS* gene (new pathogenic variant NM_000377.2: c.274-1G > A – splice acceptor variant), which allowed to establish the Wiskott-Aldrich syndrome diagnosis. The described case reminds the need for in-depth diagnostics in patients with therapy resistant immune thrombocytopenia.

Keywords

thrombocytopenia, immune thrombocytopenia (ITP), Wiskott-Aldrich syndrome

WSTĘP

Według definicji o małopłytkowości mówimy, gdy liczba płytek krwi spada poniżej $100 \times 10^9/l$. Najczęstszą postacią u dzieci jest małopłytkowość immunologiczna (ang. *idiopathic thrombocytopenic purpura* – ITP) wynikająca z obecności auto- lub alloprzeciwciał przeciw płytkowych. Zgodnie z kryteriami ITP stanowi izolowany problem, bez współistnienia innych odchyśleń w morfologii krwi (1). Diagnostyka małopłytkowości immunologicznej w okresie noworodkowym jest diagnostyką przez wykluczanie jednostek chorobowych mogących stanowić inne prawdopodobne przyczyny wyszczególnione w tabeli 1.

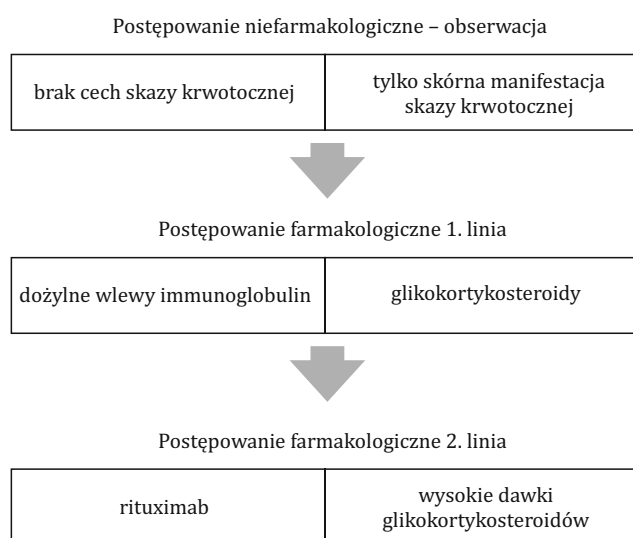
Postępowanie w przypadku małopłytkowości immunologicznej u dzieci zależy od stanu pacjenta, charakteru skazy

i może polegać na przyjęciu postawy obserwacyjnej lub aktywnym leczeniu. Większość przypadków ITP ulega samodzielnemu wyleczeniu, a zastosowanie terapii ma znaczenie w skróceniu okresu małopłytkowości i zmniejszeniu ryzyka wystąpienia przewlekłej małopłytkowości (3, 4) (ryc. 1).

W niewielkim odsetku pacjentów z małopłytkowością obserwuje się złą odpowiedź na leczenie. W razie braku remisji, nawrotów choroby lub oporności na podstawową terapię za pomocą glikokortykosteroidów lub dożylnych wlewów immunoglobulin wskazane jest zastosowanie kolejnych linii leczenia. Metody terapeutyczne w odpornej małopłytkowości zależą w dużym stopniu od rozwiązań systemowych, doświadczeń lekarza i czynników leżących po stronie rodziny (5). Szeroko rekomendowaną i akceptowaną nowoczesną

Tab. 1. Przyczyny małopłytkowości w okresie noworodkowym (na podstawie (2))

Przyczyna	Częstość występowania (%)
Sepsa	47
Niedotlenienie płodu	25
Martwicze zapalenie jelit	4,1
Anomalie chromosomalne	3,9
Choroba hemolityczna noworodka	2,4
Infekcja cytomegalowirusowa	2,4
Choroby rozrostowe szpiku	1,6
Noworodkowa małopłytkowość alloimmunologiczna	1
Inne	1,5

**Ryc. 1.** Postępowanie w małopłytkowości immunologicznej u dzieci (na podstawie (1))

opcją leczniczą jest zastosowanie eltrombopagu, który jest lekiem o wielokierunkowym działaniu, wysokiej skuteczności i korzystnym profilem bezpieczeństwa w leczeniu przewlekłej małopłytkowości (6, 7).

W przypadku małopłytkowości immunologicznej opornej na leczenie, po przeprowadzeniu rozszerzonej diagnostyki możliwa jest zmiana rozpoznania. Istotnym elementem algorytmu diagnostycznego jest również wiek pacjenta i przy małopłytkowości u noworodka nieodpowiadającej na standardowe leczenie należy rozważyć w diagnostyce różnicowej również przyczynę wrodzoną (8). Lee z Singapuru opublikował wyniki, z których wynika, że nawet u 10% dzieci, u których pierwotnie rozpoznano izolowaną małopłytkowość, ostatecznie odnaleziono inną przyczynę obniżonej liczby płytek (9).

OPIS PRZYPADKU

Przedstawiamy przypadek noworodka płci męskiej z ciąży drugiej, porodu drugiego, urodzonego przez cięcie cesarskie. U rodziców nie stwierdzono istotnych schorzeń, a wywiad rodzinny nie wykazał obciążenia. Okres ciąży był niepowikłany, matka nie przyjmowała w tym okresie żadnych leków. Dziecko po urodzeniu było w dobrym stanie ogólnym i otrzymało 10 punktów w skali Apgar, a w badaniu fizykalnym nie wykazano odchylenia. W rutynowych badaniach laboratoryjnych bezpośrednio po urodzeniu stwierdzono małopłytkowość $30 \times 10^9/l$.

Podczas diagnostyki przeprowadzonej na oddziale noworodkowym wykluczono infekcję wewnątrzmaciczną – wyniki testów w kierunku kiły, wrodzonego zespołu TORCH, wirusowego zapalenia wątroby oraz HIV były ujemne. W toku diagnostyki stwierdzono niezgodność antygenową pomiędzy dzieckiem a matką (w zakresie antygenów płytkowych HPA-3 i HPA-15), jednak nie wykryto przeciwciał przeciwplatek. W związku z podejrzeniem immunologicznego tła małopłytkowości już na oddziale neonatologicznym czterokrotnie podano dożylny wlew immunoglobulin, a później glikokortykosteroidy (początkowo dożylnie metyloprednizolon, następnie doustnie prednizon). Ze względu na utrzymującą się małopłytkowość pacjent w wieku 3 miesięcy trafił pod opiekę kliniki hematologii.

W badaniu fizykalnym przy przyjęciu obserwowano liczne wybroczyny na skórze całego ciała, a także pojedyncze podbiegnięcia krwawe. Dodatkowo w tym okresie zaobserwowano granulocytopenię ($0,75 K/\mu L$) oraz obwodową limfadenopatię (w postaci konglomeratu dwóch węzłów chłonnych pachwinowych). Ze względu na podejrzenie choroby rozrostowej wykonano biopsję aspiracyjną szpiku. Szpik został opisany jako bogatokomórkowy, z obecnością licznych megakariocytów o różnym stopniu dojrzałości, z sugerowanym rozpoznaniem zespołu mielodysplastycznego, za czym nie przemawiały kryteria diagnostyczne i dotychczasowy przebieg kliniczny. Badanie cytogenetyczne wykazało prawidłowy kariotyp męski. Wynik badania histopatologicznego bioptatu pachwinowego węzła chłonnego wykazał zmiany zapalne i wykluczył proces nowotworowy. Ponowiono terapię w postaci wlewów immunoglobulin oraz sterydoterapię z użyciem metyloprednizolonu/prednizonu w 4. miesiącu życia oraz 4 cykle z deksametazonem w 6. miesiącu życia. Wobec braku poprawy w 7. miesiącu życia zdecydowano o podaniu przeciwciał monoklonalnych anti-CD20 (rituximab). Żadna z zastosowanych metod terapeutycznych nie przyniosła trwałego rezultatu, a liczba płytek krwi wzrosła maksymalnie do $55 \times 10^9/l$.

W tej sytuacji zdecydowano o przeprowadzeniu badań genetycznych metodą sekwencjonowania nowej generacji (Next Generation Sequencing, NGS), które przeprowadzono z wykorzystaniem uniwersalnego panelu klinicznego Trusight One (Illumina) obejmującego 4813 genów. Sekwencjonowanie przeprowadzono w aparacie Miseq (Illumina). W genie *WAS* (ang. *Wiskott-Aldrich syndrome*) zidentyfikowano wariant patogenny NM_000377.2:c.274-1G > A obejmujący miejsce splicingowe eksonu 3. Zmiana została potwierdzona metodą sekwencjonowania bezpo-

średniego na poziomie RNA, ujawniając delecję eksonu 3, co pozwoliło na postawienie ostatecznej diagnozy zespołu Wiskotta-Aldricha.

W konsekwencji w wieku 17 miesięcy pacjent został zakwalifikowany do przeszczepienia macierzystych komórek hematopoetycznych od swojego zdrowego brata. Krótko przed przeszczepem podano ponownie wlewy immunoglobulin oraz 4 dawki rituximabu w celu eliminacji alloprzeciwciał. Okres okołoprzeszczepowy przebiegł bez poważnych powikłań, z wyjątkiem reaktywacji wirusa cytomegalii. Początkowo uzyskano pełne przyjęcie przeszczepu, jednak z czasem obserwowano narastający odsetek autologicznej hematopoezy (mieszany chimeryzm) i ponownie wystąpiła małopłytkowość.

Wystąpienie procesów odrzucania przeszczepu i mieszanego chimeryzmu po przeszczepieniu, bez poprawy po modyfikacjach leczenia immunosupresyjnego, doprowadziło do pojawienia się małopłytkowości na tle upośledzenia hematopoezy. Ze względu na krótki okres po transplantacji i brak zgody rodziców na ponowne przeszczepienie lub immunoterapię wlewami limfocytów dawcy zastosowano terapię za pomocą agonisty receptora trombopoetyny – eltrombopagu w dawce 25 mg dziennie. Leczenie było bardzo dobrze tolerowane, ale po 3 miesiącach terapii eltrombopagiem nie uzyskano wzrostu liczby płytek i ją zakończono z powodu nieskuteczności. Obecnie pacjent oczekuje na drugą transplantację macierzystych komórek hematopoetycznych.

DYSKUSJA

Nawet u 1-5% noworodków, u których wykonuje się badania krwi na oddziale neonatologicznym, stwierdza się małopłytkowość (10). Infekcje wewnątrzmaciczne o różnej etiologii stanowią najczęstsze przyczyny małopłytkowości u noworodków (11). Stan opisanego pacjenta i wyniki badań dodatkowych wykonanych bezpośrednio po porodzie nie wskazywały na zakażenie jako potencjalną przyczynę małopłytkowości. Za inny częsty powód małopłytkowości u noworodków uważa się przewlekłe niedotlenienie płodu lub niedotlenienie okołoporodowe (11), jednak wobec niepowikłanego okresu ciąży oraz dobrego stanu dziecka bezpośrednio po urodzeniu ta przyczyna została wykluczona. Różnice w antygenach płytkowych między matką a dzieckiem mogą prowadzić do małopłytkowości alloimmunologicznej wywołanej przez przechodzące przez łożysko matczyne przeciwciała przeciwplatek, uczestniczące następnie na drodze immunologicznej w niszczeniu płytek noworodka (10). Choć u pacjenta opisano niezgodność antygenową, to brak matczyńskich przeciwciał przeciwplatekowych we krwi dziecka przemawiał przeciwko mechanizmowi alloimmunologicznemu.

W małopłytkowości immunologicznej z reguły nie ma wskazań do diagnostycznej punkcji szpiku (1), ale ze względu na odchylenia w więcej niż jednej linii hematopoezy (małopłytkowość oraz przemijającą granulocytopenię) oraz obwodową limfadenopatię, a tym samym podejrzenie choroby rozrostowej u dziecka, konieczne były badania szpiku. Proces nowotworowy został ostatecznie wykluczony po badaniach węzła chłonnego i badaniach cytologicznych oraz cytogenetycznych aspiratu krwi szpikowej.

Wrodzone małopłytkowości należą do rzadkich problemów w praktyce hematologicznej, mogą stanowić problem izolowany, choć częściej współistnieją z innymi zespołami genetycznymi. U opisywanego przez nas pacjenta przez bardzo długi okres izolowany charakter małopłytkowości sugerował błędne rozpoznanie ITP i dopiero oporność na standardowo stosowane leczenie, a także fakt, że małopłytkowość została rozpoznana wkrótce po porodzie, skłoniły nas do przeprowadzenia testów genetycznych. Wykorzystaliśmy sekwencjonowanie nowej generacji, z pomocą którego ujawniono zmianę w genie *WAS* patognomiczną dla zespołu Wiskotta-Aldricha, wykrytą do tej pory u jednego japońskiego pacjenta (12).

Zespół Wiskotta-Aldricha jest chorobą genetyczną dziedziczną w sprzężeniu z płcią. W skład zespołu wchodzi następujące nieprawidłowości: małopłytkowość ze zmniejszoną objętością płytki, egzema, nawracające infekcje, a także skłonność do procesów autoimmunologicznych i chorób nowotworowych, szczególnie chłoniaków nieziarniczych (13). Z przedstawionych cech zespołu u pacjenta stwierdzono jedynie małopłytkowość, natomiast z diagnostycznego punktu widzenia myląca była prawidłowa objętość krwinki płytkowej, a ze względu na niski wiek nie doszło do zaburzeń odporności i infekcji oportunistycznych. Leczeniem z wyboru zespołu Wiskotta-Aldricha jest transplantacja hematopoetycznych komórek krwiotwórczych (13), którą nasz pacjent przeżył w wieku 17 miesięcy.

W przypadku przewlekłej małopłytkowości, zwłaszcza o przerywanym charakterze i przejściowej odpowiedzi na leczenie, brak dogłębnej i wielokierunkowej diagnostyki może skutkować przeoczeniem właściwej przyczyny, którą może być właśnie konstytucjonalna małopłytkowość (14, 15). W badaniu oceniającym skuteczność leczenia rituximabem i deksametazonem w przewlekłej postaci ITP w populacji chłopców nie obserwowano odpowiedzi klinicznej, co może wskazywać na brak diagnostyki w kierunku małopłytkowości konstytucjonalnej sprzężonej z płcią w postaci *WAS/XLT* (16).

Zastosowanie eltrombopagu, mimo istotnego podłoża konstytucjonalnego małopłytkowości, przeprowadzono na podstawie opisywanej stymulacji hematopoezy i ustępowaniu allogenicznej niewydolności szpiku kostnego po przeszczepieniu (17, 18). Brak efektu terapeutycznego eltrombopagu w opisywanym przypadku należy wiązać ze stanem tolerancji i pojawieniem się upośledzonej, autologicznej megakariopoezy, co stanowi argument za koniecznością kolejnego przeszczepienia szpiku z wykorzystaniem terapii o silniejszym działaniu mieloablacyjnym (niszczącym komórki macierzyste).

WNIOSKI

Odstęp między pierwszymi nieprawidłowościami laboratoryjnymi a postawieniem ostatecznego rozpoznania zespołu Wiskotta-Aldricha u opisywanego pacjenta wyniósł 14 miesięcy, co stanowi częsty problem w przypadku diagnostyki chorób rzadko występujących. Przedstawiony przypadek przypomina o konieczności poszerzonej diagnostyki w pozornie znanych, lecz opornych na terapię jednostkach hematologicznych.

Konflikt interesów
Conflict of interest

Brak konfliktu interesów
None

Adres do korespondencji

*Elżbieta Wawrzyniak-Dzierżek
Klinika Transplantacji Szpiku,
Onkologii i Hematologii Dziecięcej
Uniwersytet Medyczny
im. Piastów Śląskich we Wrocławiu
ul. Borowska 213, 50-556 Wrocław
tel.: +48 (71) 733-27-00
wawrzyniak.elzbieta@wp.pl

Piśmiennictwo

1. Neunert C, Lim W, Crowther M et al.: Review article The American Society of Hematology 2011 evidence-based practice guideline for immune thrombocytopenia. *Blood* 2018; 117(16): 4190-4208.
2. Resch E, Hinkas O, Urlesberger B et al.: Neonatal thrombocytopenia – causes and outcomes following platelet transfusions. *Eur J Pediatr* 2018; 177(7): 1045-1052.
3. Heitink-Pollé KMJ, Uiterwaal CSPM, Porcelijn L et al.: Intravenous immunoglobulin vs observation in childhood immune thrombocytopenia: a randomized controlled trial. *Blood [Internet]* 2018; 132(9): 883-891.
4. Bennett CM, Neunert C, Grace RF et al.: Predictors of remission in children with newly diagnosed immune thrombocytopenia: Data from the Intercontinental Cooperative ITP Study Group Registry II participants. *Pediatr Blood Cancer [Internet]* 2018; 65(1): e26736.
5. Grace RF, Despotovic JM, Bennett CM et al.: Physician decision making in selection of second-line treatments in immune thrombocytopenia in children. *Am J Hematol [Internet]* 2018; 93(7): 882-888.
6. Kim TO, Despotovic J, Lambert MP: Eltrombopag for use in children with immune thrombocytopenia. *Blood Adv [Internet]* 2018; 2(4): 454-461.
7. Guo J-C, Zheng Y, Chen H-T et al.: Efficacy and safety of thrombopoietin receptor agonists in children with chronic immune thrombocytopenia: a meta-analysis. *Oncotarget [Internet]* 2018; 9(6): 7112-7125.
8. Sharma R, Botero JP, Jobe SM: Congenital Disorders of Platelet Function and Number. *Pediatr Clin North Am* 2018; 65: 561-578.
9. Lee AC: Isolated thrombocytopenia in childhood: what if it is not immune thrombocytopenia? *Singapore Med J* 2018; 59(7): 390-393.
10. Roberts I, Stanworth S, Murray NA: Thrombocytopenia in the Neonate. *Blood Rev* 2008; 22(4): 173-186.
11. Carr R, Kelly M, Williamson LM: Neonatal Thrombocytopenia and Platelet Transfusion – A UK Perspective. *Neonatology* 2015; 107(1): 1-7.
12. Report R: Bioehi~ic~a. 1996; 4439(96): 96-98.
13. Massaad MJ, Ramesh N, Geha RS: Wiskott-Aldrich syndrome: a comprehensive review. *Ann N Y Acad Sci* 2013; 1285: 26-43.
14. Medina SS, Siqueira LH, Colella MP et al.: Intermittent low platelet counts hampering diagnosis of X-linked thrombocytopenia in children: report of two unrelated cases and a novel mutation in the gene coding for the Wiskott-Aldrich syndrome protein. *BMC Pediatr [Internet]* 2017; 17(1): 151.
15. Kaneko R, Yamamoto S, Okamoto N et al.: Wiskott-Aldrich syndrome that was initially diagnosed as immune thrombocytopenic purpura secondary to a cytomegalovirus infection. *SAGE Open Med Case Reports [Internet]* 2018; 6: 2050313X17753788.
16. Oved JH, Lee CSY, Bussel JB: Treatment of Children with Persistent and Chronic Idiopathic Thrombocytopenic Purpura: 4 Infusions of Rituximab and Three 4-Day Cycles of Dexamethasone. *J Pediatr [Internet]* 2017; 191: 225-231.
17. Yoshihara H, Arai F, Hosokawa K et al.: Thrombopoietin/MPL Signaling Regulates Hematopoietic Stem Cell Quiescence and Interaction with the Osteoblastic Niche. *Cell Stem Cell [Internet]* 2007; 1(6): 685-697.
18. Tanaka T, Inamoto Y, Yamashita T et al.: Eltrombopag for Treatment of Thrombocytopenia after Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant [Internet]* 2016; 22(5): 919-924.

nadesłano: ??????/
zaakceptowano do druku: ??????/?