

Streszczenie pracy doktorskiej lek. Fryderyka Lorenza pt.: „*Studies on the significance of serum ferritin concentration in Gaucher disease, hemophagocytic lymphohistiocytosis and before allogeneic stem cell transplantation*”

Streszczenie

Regulacja gospodarki żelazem odbywa się przy pomocy układu hepcydynaferroportyna. Wysokie stężenia hepcydyny powodują degradację ferroportyny i zahamowanie wchłaniania żelaza w enterocytach oraz ich uwalnianie z makrofagów. Nadmiar jonów żelaza magazynowany jest w postaci związanej z ferrytyną. Ferrytyna jest białkiem o masie cząsteczkowej 450 kDa, składającym się z 24 podjednostek mogących wiązać do 4500 atomów żelaza Fe³⁺ (Andrews i wsp., 1992). Ferrytyna jest bezpośrednio zaangażowana w patofizjologię wielu chorób, będąc kluczowym białkiem ograniczającym charakter oraz zasięg stresu oksydacyjnego występującego w chorobach zapalnych i nowotworowych (Harrison i wsp., 1996). Poprzez modulowanie odpowiedzi immunologicznej ferrytyna wpływa na aktywność limfocytów, granulocytów i makrofagów. Prowadzi to do zwiększonego ryzyka zakażeń bakteryjnych, grzybiczych i wirusowych oraz hamowania odpowiedzi przeciwnowotworowej (Broxmeyer i wsp., 1981; Hann i wsp., 1989).

W ubiegłych latach wiele badań analizowało wpływ ferrytynemii na przebieg procesu allotransplantacji komórek hematopoetycznych (alloSCT), zarówno w kontekście bezpośredniego nasilania efektów toksyczności leczenia kondycjonującego, jak i stopnia nasilenia i przebiegu ostrej i przewlekłej reakcji przeszczep-przeciw gospodarzowi (*graft-versus-host disease*, GVHD). U chorych z zespołami mielodysplastycznymi ocena poziomu ferrytyny w surowicy przed transplantacją jest uznanym czynnikiem ryzyka, wpływającym na czas przeżycia chorych poddanych alloSCT (Armand i wsp., 2007; Pullarkat i wsp., 2008; Mahindra i wsp., 2009).

Celem pierwszej pracy oryginalnej z cyklu stanowiącej niniejszą pracę doktorską, była ocena czy hiperferrytynemia stwierdzana w okresie przed rozpoczęciem procedury alloSCT jest czynnikiem ryzyka dla wystąpienia GVHD oraz czynnikiem prognostycznym dla wyników odległych allotransplantacji; wskaźnik przeżycia całkowitego (OS) i przeżycia wolnego od wznowy (RFS). Analizę retrospektywną przeprowadzono w grupie 309 pacjentów z rozrostowymi chorobami hematologicznymi, którzy zostali poddani procedurze alloSCT. Stwierdzono, że stężenie ferrytyny w surowicy powyżej 400 µg/L, ocenione przed rozpoczęciem procedury allotransplantacji, było istotnym czynnikiem zmniejszającym częstość występowania przewlekłej reakcji GVHD ($p = 0,002$) oraz znamienne pogarszało wskaźniki; OS ($p = 0,011$), RFS ($p = 0,001$) oraz odsetek wznów choroby ($p = 0,023$).

W przebiegu choroby Gauchera (GD) obserwuje się często umiarkowany wzrost poziomu ferrytyny, ale jej znaczenie jako wskaźnika diagnostycznego i prognostycznego jest mało poznane. W kolejnej pracy, analizie retrospektywnej poddano dane kliniczne i laboratoryjne uzyskane u 16 dorosłych pacjentów z GD typu 1 (GD1) w celu oceny, czy poziom ferrytyny koreluje znamienne z fenotypem GD1 oraz czy hiperferrytynemia wpływa na parametry aktywności układu immunologicznego u chorych na GD1. W analizie wykazano podwyższone stężenie ferrytyny w surowicy powyżej 500 µg/L u 81% pacjentów. Nie stwierdzono istotnej korelacji pomiędzy wysokimi wartościami ferrytyny a płcią, wielkością śledziony, czy stanem klinicznym ocenionym według skali Zimrana. W analizowanej grupie chorych na GD1 wskaźnik stężenia poziomów białek hepcydyna/ferrytyna był wyraźnie obniżony, w porównaniu do wartości przyjętych dla zdrowej populacji. Podobne wyniki stwierdza się u chorych ze schorzeniami wątroby wywołanymi stanem przeładowania żelazem (Dahlfors i wsp., 2015). Nie stwierdzono zmian stężenia cytokin IL-1 β , IL-6, IL-8 i IL-10 w surowicy, natomiast u 5/11 chorych wykazano umiarkowany wzrost stężenia czynnika martwicy guza α (*tumor necrosis factor α* ; TNF- α). W badanej grupie u 10/15 pacjentów nie stwierdzono zmian stężenia rozpuszczalnego receptora dla interleukiny-2 α (sIL-2R α) w surowicy, u 4/15 chorych stwierdzono obniżone stężenie sIL-2R α . Średnie stężenie β 2-mikroglobuliny (beta2M) było podwyższone. Włączenie leczenia GD korelowało z obniżeniem stężenia ferrytyny u wszystkich leczonych pacjentów, jednakże wartości ferrytyny utrzymywały się nadal powyżej wartości prawidłowych. U wszystkich leczonych chorych stężenie TNF- α w surowicy uległo normalizacji.

W oparciu o dotychczasowe dane literaturowe oraz zaprezentowane wyniki badań, można wnioskować, iż ferrytyna może stanowić prognostyczny biomarker u pacjentów poddanych leczeniu za pomocą alloSCT oraz mieć zastosowanie jako marker skuteczności leczenia u chorych z GD1.

Celem kolejnej pracy było wykazanie korelacji podwyższonego stężenia ferrytyny surowiczej z wybranymi cechami klinicznymi i wskaźnikami laboratoryjnymi u chorych na limfohistiocytozę hemofagocytarną wtórną do procesu nowotworowego (M-HLH). Dodatkowo badano czy hiperferrytynemia związana jest z określonym profilem morfologiczno-czynnościowym układu odpornościowego w tej grupie pacjentów. Wysoki poziom ferrytyny jest jednym z podstawowych kryteriów rozpoznania HLH. Badaniami została objęta grupa 71 dorosłych chorych z M-HLH wywołaną mieloidalnymi i limfoidalnymi nowotworami hematologicznymi. W analizowanej grupie stwierdzono podwyższone stężenie ferrytyny w surowicy u 97% pacjentów, a u 91% chorych podwyższone stężenie sIL-2R α . Badanie stężenia profilu cytokin w surowicy krwi w chwili ustalenia rozpoznania HLH wykazało znaczne podwyższenie stężenia TNF- α u 86% badanych, IL-6 u 88%, IL-10 u 97%, IL-8 u 50%, a IL-1 β u 12% pacjentów. Poziom ferrytyny surowiczej nie różnił się znamienne u chorych, którzy przeżyli i tych, którzy zmarli z powodu M-HLH.

Hiperferrytynemia jest zatem częstym objawem w M-HLH. Rozpoznanie HLH należy zawsze brać pod uwagę w diagnostyce różnicowej chorób przebiegających z wysokimi wartościami ferrytyny, mając na względzie zwykle szybki przebieg choroby i bardzo złe rokowanie jeśli pozostanie bez leczenia. Pomiar surowiczego stężenia cytokin zapalnych może być pomocnym narzędziem w celu potwierdzenia "burzy cytokinowej" wzmacniając podejrzenie HLH.

Summary

Regulation of iron metabolism depends on hepcidin-ferroportin system. High levels of hepcidin leads to ferroportin degradation and inhibition of iron absorption in enterocytes and its release from macrophages. Excess of iron ions is stored bound to ferritin. Ferritin is a protein of 450 kDa consisting of 24 subunits with capacity to bind 4500 iron ions Fe $^{3+}$ (Andrews et al., 1992). Ferritin is directly implicated in a pathophysiology of a wide range of diseases, being a key protein limiting character and extent of the oxidative stress that occurs in inflammatory and neoplastic diseases (Harrison et al., 1996). By modulating the immune response, ferritin affects the activity of lymphocytes, granulocytes and macrophages. It leads to increased risk of bacterial, fungal and viral infections and decreased cytotoxic response against cancer cells (Broxmeyer et al., 1981; Hann et al., 1989).

Many studies concern the impact of ferritinemia on outcome in allogeneic stem cell transplantation (alloSCT), both in terms of direct toxicity exacerbation of conditioning treatment, severity and course of acute and chronic graft versus host disease (GVHD). In patients with myelodysplastic syndrome assessment of ferritinemia before transplantation is an approved risk factor affecting survival in patients treated with alloSCT (Armand et al., 2007; Pullarkat et al., 2008; Mahindra et al., 2009).

The aim of the first work forming the thesis was to determine if the pretransplantation hyperferritinemia is a risk factor for the occurrence of GVHD and if it is a prognostic factor for long-term results; overall survival (OS) and relapse free survival (RFS). The retrospective analysis was performed in a group of 309 patients with proliferative hematological diseases subjected to alloSCT. It was found that elevated pre-transplantation ferritin (> 400 μ g/L) was an essential factor decreasing the frequency of chronic GVHD ($p = 0,002$), significantly worsened OS ($p = 0,011$), RFS ($p = 0,001$) and higher risk of relapse ($p = 0,023$).

Moderate hyperferritinemia is a frequent finding in the course of Gaucher disease (GD), however its diagnostic and prognostic significance is not well known. In the next work, clinical and laboratory data of the 16 adult patients with GD type 1 (GD1) were retrospectively analyzed to evaluate correlation between ferritin level and GD1 phenotype and if hyperferritinemia affects the activity parameters of the immune profile in GD1. Study showed elevated ferritin levels (> 500 μ g/L) in 81% evaluated patients. There was no significant correlation between hyperferritinemia and the patient's sex, spleen status, or clinical status as defined by the Zimran SSI value. In the analyzed group of patients with GD1, hepcidin to ferritin ratio was clearly low, compared to the values in a healthy population. Similar results are found in patients with liver disorders caused by iron overload (Dahlfors et al., 2015). There were no abnormalities in serum of IL-1 β , IL-6, IL-8, and IL-10, while tumor necrosis factor alpha (TNF- α) was moderately elevated in 5 of 11 patients.

Among 10 of 15 patients there were no abnormalities in the levels of soluble interleukin-2 receptor alpha (sIL-2R α), 4/15 patients had decreased sIL-2R α . The mean concentration of β 2-microglobulin (beta2M) was slightly above the reference range. Treatment correlated with ferritin decrease in all treated patients, but the ferritin levels remained above normal values. Elevated serum TNF- α concentration normalized in all treated patients.

Based on the existing literature data as well as on the results presented in the submitted studies, it can be assumed that ferritin can be used as a prognostic biomarker in patients treated with alloSCT and as a marker of treatment response in patients with GD1.

The aim of the next work was to demonstrate correlation between elevated ferritin level in serum with selected clinical features and laboratory indicators in patients with malignancy associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (M-HLH). Additionally, we analyzed if hyperferritinemia is associated with the morphological and functional profile of the immune system in this group of patients. Elevated serum ferritin concentration is one of the basic criteria, essential for HLH diagnosis. The study included 71 adult patients with M-HLH caused by myeloid or lymphoid hematological neoplasms. In the analyzed group of patients, elevated serum ferritin level was found in 97% patients and high serum sIL-2R α in 91% patients. Assessment of cytokine profile in serum at diagnosis showed elevated TNF- α in 86% of patients, IL-6 in 88% patients, IL-10 in 97% patients, IL-8 in 50% patients, IL-1 β in 12% patients. Serum ferritin concentrations were not found to differ significantly in patients who survived vs. patients who died due to the M-HLH.

Hyperferritinemia is a frequent phenomenon in M-HLH. HLH diagnosis should be kept in mind as a differential diagnosis for more frequent causes of hyperferritinemia, aiming at interaction with a very rapid course of the disease and fatal prognosis if left untreated. Measurement of serum inflammatory cytokines could confirm a "cytokine storm" which could substantially strengthen a suspicion of M-HLH.