

Análise clínico-patológica da síndrome TAFRO demonstra um subtipo distinto de doença de Castleman multicêntrica negativa para HHV-8

Noriko Iwaki,^{1,2} David C. Fajgenbaum,³ Christopher S. Nabel,³ Yuka Gion,¹ Eisei Kondo,⁴ Mitsuhiro Kawano,⁵ Taro Masunari,⁶ Isao Yoshida,⁷ Hiroshi Moro,⁸ Koji Nikkuni,⁹ Kazue Takai,⁹ Kosei Matsue,¹⁰ Mitsutoshi Kurosawa,¹¹ Masao Hagihara,¹² Akio Saito,¹³ Masataka Okamoto,¹⁴ Kenji Yokota,¹⁵ Shinichiro Hiraiwa,¹⁶ Naoya Nakamura,¹⁶ Shinji Nakao,¹⁷ Tadashi Yoshino,¹ and Yasuharu Sato^{1,15*}



Tradução por: Cláudia Sofia Mourato da Silva, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

A doença de Castleman multicêntrica (MCD) descreve um grupo heterogêneo de doenças envolvendo inflamação sistêmica, histopatologia dos nódulos linfáticos característica e disfunção de múltiplos órgãos devido a hipercitoquinémia patológica. Enquanto o vírus do herpes humano do tipo 8 (HHV-8) estimula a hipercitoquinémia numa coorte de indivíduos imunocomprometidos, a etiologia da MCD negativa para HHV-8 é idiopática (iMCD). Recentemente, uma série limitada de casos de iMCD no Japão partilhando uma constelação de aspetos clínicos, incluindo trombocitopenia (T), anasarca (A), febre (F), fibrose da reticulina (R) e organomegália (O) foi descrita como síndrome TAFRO. Aqui, relatamos achados clínico-patológicos de 25 pacientes (14 homens e 11 mulheres, 23 nascidos no Japão e 2 nos Estados Unidos), a maior série de casos de síndrome TAFRO, incluindo o primeiro relato de casos provenientes dos Estados Unidos da América (USA). A idade média de início foi 50 anos (intervalo: 23-72). A frequência de cada característica foi a seguinte: trombocitopenia (21/25), anasarca (24/25), febre (21/25), organomegália (25/25) e fibrose da reticulina (13/16). Estes pacientes demonstraram, frequentemente, dor abdominal, níveis elevados de fosfatase alcalina sérica e insuficiência renal aguda. Surpreendentemente, nenhum dos casos demonstrou hipergamaglobulinemia marcada, o que é frequentemente relatado na iMCD. As biópsias dos nódulos linfáticos revelaram centros germinativos atróficos com núcleos aumentados de células endoteliais e proliferação de vénulas endoteliais na zona interfolicular. 23 dos 25 casos foram, inicialmente, tratados com corticosteróides; 12 pacientes responderam mal e exigiram terapia adicional. 3 pacientes morreram durante o período de observação (média: 9 meses) devido à progressão da doença ou infeções. A síndrome de TAFRO é um subtipo único de iMCD que demonstra características clinicopatológicas específicas. São necessários mais estudos para clarificar o prognóstico, a fisiopatologia e o tratamento apropriado.

Am. J. Hematol. 91:220-226. © 2015 Wiley Periodicals, Inc.

Introdução

A doença de Castleman Multicêntrica (MCD) é uma doença rara geralmente caracterizada por episódios de inflamação sistêmica, proliferação reactiva de linfócitos morfológicamente benignos, linfadenopatia multicêntrica, gamaglobulinemia policlonal, anemia microcítica, hipoalbuminemia e proteínas inflamatórias séricas elevadas, como a proteína-C-reativa (PCR) [1-3]. O diagnóstico de MCD é estabelecido histologicamente após a biópsia do nódulo linfático, quando se observa: hialinização vascular (HV), células plasmáticas (PC) ou características-tipo mistas [4,5]. Acredita-se que estas anomalias histopatológicas e clínicas resultam da hipercitoquinémia patológica, nomeadamente da interleucina-6 (IL-6), embora a citocina responsável por iniciar a cascata inflamatória possa variar de paciente para paciente. Estas características clínicas e alterações nos nódulos linfáticos podem ser observadas noutras doenças. Assim sendo, a MCD representa um diagnóstico de exclusão [6-10].

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article.

¹Department of Pathology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and, Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan; ²Department of Cellular Transplantation Biology (Hematology/Oncology and Respiratory Medicine), Division of Cancer Medicine, Graduate School of Medical Sciences Kanazawa University, Kanazawa, Japan; ³Department of Medicine, Division of Hematology & Oncology, Raymond & Ruth Perelman School of Medicine, University of Pennsylvania, Philadelphia, Pennsylvania; ⁴Department of General Medicine, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and, Pharmaceutical Sciences, Okayama, Japan; ⁵Division of Rheumatology, Kanazawa University Hospital, Kanazawa, Japan; ⁶Department of Hematology, Chugoku Central Hospital, Fukuyama, Japan; ⁷Department of Hematologic Oncology, National Hospital Organization Shikoku Cancer Center, Matsuyama, Japan; ⁸Division of Clinical Infection Control and Prevention, Niigata University Graduate School of Medical and Dental Sciences, Niigata, Japan; ⁹Division of Hematology, Niigata City General Hospital, Niigata, Japan; ¹⁰Division of Hematology and Oncology, Department of Medicine, Kameda Medical Center, Kamogawa, Japan; ¹¹Department of Hematology, National Hospital Organization Hokkaido Cancer Center, Sapporo, Japan; ¹²Department of Hematology, Eiju General Hospital, Tokyo, Japan; ¹³Department of Hematology, National Hospital Organization Nishigunma National Hospital, Shibukawa, Japan; ¹⁴Department of Hematology and Medical Oncology, Fujita Health University School of Medicine, Toyoake, Japan; ¹⁵Division of Pathophysiology, Okayama University Graduate School of Health Sciences, Okayama, Japan; ¹⁶Department of Pathology, Tokai University School of Medicine, Kanagawa, Japan; ¹⁷Cellular Transplantation Biology, Division of Medicine, Kanazawa University Institutes of Medical, Pharmaceutical, and Health Sciences, Kanazawa, Japan.

Disclosure: D. Fajgenbaum serves on an advisory board to Janssen Pharmaceuticals. The rest of the authors have no potential conflicts of interest.

***Correspondence to:** Dr. Yasuharu Sato; Division of Pathophysiology, Okayama University Graduate School of Health Sciences, 2-5-1 Shikata-cho, Kita-ku, Okayama 700-8558, Japan. E-mail: satou-y@okayama-u.ac.jp

Recebido para publicação: 7 de Setembro de 2015; **Revisto:** 5 de Novembro de 2015; **Aceite:** 10 de Novembro de 2015

Am. J. Hematol. 91:220–226, 2016.

Publicado online: 17 de Novembro de 2015 in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com).

DOI: 10.1002/ajh.24242

TABELA 1. Sintomas da TAFRO e achados histológicos na TAFRO-iMCD

Sintomas da TAFRO		
Trombocitopénia	Contagem de plaquetas	<100x10 ³ /µL
Anasarca	Fluidos pleurais e ascites	tomografia computadorizada
Febre	Temperatura corporal	> 38,0°C (100,4F)
Reticulina (fibrose)	Avaliada na biópsia da medula óssea	
Organomegália	Linfadenopatia e/ou hepatomegália/esplenomegália	tomografia computadorizada

*Estes foram avaliados na altura do diagnóstico.

Achados histológicos dos nódulos linfáticos		
TAFRO-iMCD		iMCD-NOS
Centros germinativos	Centros germinativos atrofícos com núcleos alargados de células endoteliais	Centros germinativos hiperplásicos de vários tamanhos
Zona Interfollicular	Proliferação de vénulas endoteliais, pequenos n.ºs de células plasmáticas maduras	Proliferação de células plasmáticas maduras
HHV-8	Negativo	Negativo
Restrições da cadeia leve	Nenhuma	Nenhuma

HHV-8; Latency-associated nuclear antigen-1 assess to Human Herpes Virus-8.

O vírus do herpes humano do tipo 8 (HHV-8), o qual infeta as células B e expressa um homólogo viral da IL-6, desencadeia a doença (MCD) em pacientes imunocomprometidos [11,12]. Há também uma coorte significativa de pacientes MCD no mundo inteiro que são negativos para HHV-8 e cuja etiologia da doença é desconhecida [13-15]. Estes casos são referidos como MCD idiopática (iMCD) [6]. Possíveis etiologias nestes pacientes incluem outros vírus além do HHV-8, secreção parácrina de citocinas por uma pequena população de células neoplásicas ou mecanismos autoinflamatórios [6]. A etiologia desconhecida destes casos de iMCD constitui um enorme desafio com vista a desenhar regimes de tratamento apropriados.

Recentemente, Takai *et al.* [16] reportou 3 pacientes que partilhavam uma constelação de sintomas clínicos que foram designados de síndrome TAFRO: trombocitopénia (T), anasarca (A), febre (F), fibrose da reticulina (R) e organomegália (O). 1 dos 3 pacientes foi submetido a uma biópsia dos nódulos linfáticos, demonstrando alterações *hyaline-vascular-like*, consistentes com MCD. Estes pacientes responderam bem à terapia imunossupressora com ciclosporina e prednisolona. Takai e os seus colegas de trabalho propuseram que esta nova entidade clínica representava um grupo de doenças inflamatórias sistémicas enraizadas na auto-imunidade [16]. Desde esta descrição inicial em 2010, foram relatados 11 casos adicionais de síndrome TAFRO [14,17-22] e, mais recentemente, foi relatado na Europa um caso Caucásiano [23]. Todos estes pacientes onde foi realizada uma biópsia do nódulo linfático demonstraram histopatologia consistente com MCD. Médicos nos EUA reportaram ter pacientes iMCD com características TAFRO (*Personal Communications, van Rhee, F; Personal Communications, Udrick, T*). Contudo, estas descrições de TAFRO nos EUA não foram publicadas, sendo essencial um reconhecimento maior e relatos da TAFRO fora do Japão.

Para investigar a entidade clínica da síndrome TAFRO e caracterizar melhor os seus achados histopatológicos, analisámos a maior série até à data de 25 pacientes diagnosticados com iMCD ou negativa para HHV-8, demonstrando a síndrome TAFRO (TAFRO-iMCD). Este é o maior relato de pacientes com síndrome de TAFRO e a primeira descrição de TAFRO nos EUA.

Métodos

Pacientes. Os pacientes que foram diagnosticados com iMCD negativa para HHV-8 foram selecionados de arquivos no Departamento de Patologia, na Universidade de Okayama, desde 1999 a 2013 para cuidadosa revisão de prontuários por uma equipa de médicos. 23 pacientes japoneses demonstraram pelo menos 3 de entre 5 sintomas clínicos da TAFRO e histopatologia dos nódulos linfáticos iMCD característica da TAFRO, tal como centros germinativos atrofícos com núcleos aumentados de células endoteliais, proliferação de vénulas endoteliais com núcleos aumentados na zona interfollicular e pequenos números de células plasmáticas maduras [18]. 12 destes casos foram referenciados à nossa instituição porque os respetivos médicos suspeitavam de síndrome TAFRO. 2 destes casos foram relatados previamente [17,18]. Também incluímos 2 pacientes dos EUA, que tinham iMCD e demonstravam todas as 5 características clínicas da TAFRO. Ambos tinham nascido nos EUA e residem aí atualmente. 1 é de descendência europeia e foi relatado anteriormente [14], enquanto o outro paciente é descendente de Sri Lanka.

Para controlo, foram selecionados 19 casos de MCD negativa para HHV-8 com o subtipo PC do mesmo arquivo da Universidade de Okayama. Estes casos são aqui referidos como iMCD-NOS (não outrora especificados).

O uso de amostras e os registos médicos (história clínica, tratamento e dados de sobrevivência) no nosso estudo foi aprovado pelo Institute Review Board (IRB) na Universidade de Okayama. O consentimento informado escrito foi dispensado pelo IRB, uma vez que o nosso estudo se limitou ao uso de amostras de tecido humano em excesso e registos médicos.

O antigénio nuclear 1 associado a latência (LANA-1) foi desenvolvido por imunohistoquímica de nódulo linfático embebido em parafina para aceder ao *status* do HHV-8. Foi também testada a reação em cadeia da polimerase (PCR) para o DNA HHV-8 no sangue, em 8 casos de TAFRO-iMCD. Para todos os doentes e controlos, foram excluídos diagnósticos alternativos para iMCD, conforme determinado por características clínicas, hemoculturas, imunoeletroforese e testes de autoanticorpos. O diagnóstico diferencial engloba: doenças infecciosas, síndrome de POEMS (polineuropatia, organomegália, endocrinopatia, proteína M e pigmentação da pele/skin), linfoma e doenças reumatológicas, tais como lúpus eritematoso sistémico (LES).

Definição dos sintomas de TAFRO. A trombocitopénia foi definida como a contagem de plaquetas < 100x10³/µL na altura do diagnóstico. A febre foi definida como a temperatura > 38,0 °C (100,4 F). A anasarca foi definida como a presença de fluidos pleurais e ascites em tomografia computadorizada. A organomegália incluía linfadenopatia, hepatomegália ou esplenomegália, que foi também avaliada por radiologistas utilizando tomografia computadorizada (CT). A fibrose da reticulina foi avaliada por biópsia da medula óssea (tabela 1).

Examinação imunohistoquímica e histológica. Os espécimes da biópsia de medula óssea e nódulos linfáticos embebidos em parafina foram cortados em secções de 4 µm, corados com hematoxilina/eosina e impregnados com prata de reticulina, respetivamente. As secções de nódulos linfáticos foram coradas imunohistoquimicamente utilizando uma imunocoloração automatizada (*Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA*). As secções de tecido foram submetidas a pré-tratamento de aquecimento padronizado para recuperação do antigénio com anticorpos específicos para CD20 (L26; 1:200; Novocastra, Newcastle, UK); CD3 epsilon (PS1; 1:50; Novocastra); CD21 (1F8; 1:20; Dako, Carpinteria, CA, USA); CD10 (56C6; 1:50; Novocastra); bcl2 (3.1; 1:200; Novocastra); CD138 (MI15; 1:100; Dako); cadeias leves kappa (kp-53; 1:100; Novocastra); cadeias leves lambda (HP-6054; 1:200; Novocastra) e HHV-8 (13B10; 1:25; Novocastra). A hibridização *in situ* (ISH) das cadeias leves kappa e lambda foi executada por um *stainer* Bond Max automatizado (*Leica Biosystems, Melbourne, Austrália*).

Análise estatística. Todas as análises estatísticas foram efetuadas com o EZR (*Saitama Medical Center, Jichi Medical University, Saitama, Japão*), que é uma interface gráfica do usuário para R (*The R Foundation for Statistical Computing, Viena, Áustria*). Comparações de parâmetros clínicos (contagem de plaquetas, níveis séricos de PCR, imunoglobulina G (IgG), imunoglobulina A (IgA), imunoglobulina M (IgM), lactato desidrogenase (LD), fosfatase alcalina (ALP) e IL-6) na síndrome de TAFRO e iMCD-NOS foram realizadas com o teste exato de

Fisher para variáveis categóricas e o teste U de Mann-Whitney para variáveis contínuas. Todos os *p-values* eram *two sided* e *p-values* de 0,05 ou inferiores eram considerados estatisticamente significativos.

Resultados

Características clínicas:

Grupo da síndrome de TAFRO (TAFRO-iMCD). As características clínicas encontram-se resumidas na tabela 2. O grupo TAFRO-iMCD incluía 14 homens e 11 mulheres. A idade média de início da doença era 50 anos de idade (intervalo 23-72). 23 pacientes eram oriundos do leste asiático, enquanto 1 paciente era do sul da ásia e 1 era caucasiano. A duração média entre o início da doença e o tempo para fazer o diagnóstico por biópsia do nódulo linfático foi de 6 semanas (intervalo 1-70 semanas). O estado geral na altura do diagnóstico tendia a ser mau. O *performance status (PS)* do *Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG)* era maior do que 1 para 76,5% (13/17) dos pacientes. A duração média entre o diagnóstico e o último *follow-up* para colheita de dados foi de 9 meses (intervalo 0-91).

Uma vez que a biópsia da medula óssea foi apenas realizada em 16 casos, os 5 critérios só poderiam ser avaliados nesses 16 casos. 9 desses casos TAFRO-iMCD preenchiam todos os 5 critérios para TAFRO. Os restantes 16 casos iam de encontro a, pelo menos, 3 de 4 critérios. A frequência de cada complicação no diagnóstico foi a seguinte: trombocitopenia (21/25), anasarca (24/25), febre (21/25), fibrose da reticulina (13/16) e organomegalia (25/25). 32% (8/25) dos casos TAFRO-iMCD relataram dor abdominal, e 3 casos experienciaram linfadenopatia dolorosa. A duração média entre o diagnóstico e o último *follow-up* para a colheita de dados foi 9 meses (intervalo: 0-91).

Grupo-controlo da iMCD com células do tipo plasmático (iMCD-NOS). 12 homens e 7 mulheres com iMCD-NOS serviram como controlos dos mesmos arquivos da Universidade de Okayama. A idade média de início da doença era 47 anos de idade (média/intervalo: 28-68). Todos os casos tinham origem asiática. O estado geral no diagnóstico tendia a ser melhor do que no grupo TAFRO-iMCD, sendo todos os pacientes PS 0 ou 1. Nenhum dos pacientes exibiu anasarca. 2/11 casos demonstraram febre e todos os 19 casos tinham organomegalia (tabela 2).

TABELA 2. Características clínicas e dados laboratoriais, TAFRO-iMCD e iMCD-NOS (adaptado)

	TAFRO-iMCD (n=25)		iMCD-NOS (n=19)		P value
	Median	(range)	Median	(range)	
Age (y.o)	50	(23-72)	47	(28-68)	N.S
Gender (M:F)	14: 11		12: 7		N.S
PS \geq 2	76.5%	(13/17)	0%	(0/11)	P<0.01
Anasarca	96.0%	(24/25)	0%	(0/14)	P<0.01
Fever	84.0%	(21/25)	18.2%	(2/11)	P<0.01
Reticulin fibrosis	81.3%	(13/16)	N.E		N.E
Abdominal pain	32.0%	(8/25)	N.E		N.E
Plt ($\times 10^3/\mu\text{L}$)	43	(14-171)	339	(206-500)	P<0.01
Hb (g/dL)	9.1	(6.2-16.3)	11.0	(5.8-13.2)	P=0.12
Alb (g/dL)	2.3	(1.1-3.5)	2.8	(1.8-4.3)	P=0.01
CRP (mg/dL)	14.9	(0.8-30.2)	5.9	(1.5-16.9)	P=0.01
IgG (mg/dL)	1,476	(880-2,824)	4,775	(2,176-8,380)	P<0.01
IgA (mg/dL)	225.7	(129-432)	621	(258-997)	P<0.01
IgM (mg/dL)	74	(37-257)	229	(129-726)	P<0.01
LD (IU/L)	210	(110-424)	114	(85-138)	P<0.01
ALP (IU/L)	469	(102-2,388)	266	(174-1,240)	P<0.01
IL-6 (pg/mL)	16.2	(6.0-67.3)	25.9	(8.6-113)	P=0.17
VEGF (pg/mL)	305	(<20-1,410)	N.E		N.E

PS, performance status; Anasarca, pleural fluid and ascites; Fever: $>38.0^\circ\text{C}$ (100.4F).

Plt, Blood platelet count; Hb, Hemoglobin; Alb, Albumin; CRP, C-reactive protein; IgG, Immunoglobulin G; IgA, Immunoglobulin A; IgM, Immunoglobulin M; LD, lactate dehydrogenase; ALP, alkaline phosphatase; IL-6, Interleukin-6 (serum normal value; <5.0 pg/mL); VEGF, Vascular endothelial growth factor (plasma normal value, <115 pg/mL); N.S, not significant; N.E, not evaluated.

Aspetos laboratoriais:

Os dados laboratoriais são apresentados na tabela 2. Ambos os grupos demonstraram, comumente: anemia microcítica, hipoalbuminemia e PCR sérica elevada. Os níveis de PCR foram significativamente mais altos ($P=0.01$) no grupo TAFRO-iMCD, em comparação com o grupo MCD-NOS. Pacientes no grupo TAFRO-iMCD demonstraram trombocitopenia severa, enquanto nenhum dos casos iMCD-NOS tinha trombocitopenia. A contagem média de plaquetas foi $43 \times 10^3/\mu\text{L}$ (intervalo: $14-171 \times 10^3/\mu\text{L}$) para o grupo TAFRO-iMCD e $339 \times 10^3/\mu\text{L}$ ($206-500 \times 10^3/\mu\text{L}$) para o grupo iMCD-NOS ($P<0,01$). As plaquetas associadas a imunoglobulina G no soro foram verificadas em apenas 10 casos de TAFRO-iMCD e elevadas em 9 casos (Mediana 144, intervalo 12.5-1,340 ng/ 10^7 células).

O LD sérico médio não estava elevado em nenhum grupo no momento do diagnóstico. O ALP sérico, no diagnóstico, estava elevado em 19/24 casos (79,2%) dos casos TAFRO-iMCD (mediana: 469 IU/L, intervalo: 102-2,388 IU/L) sem elevações correspondentes nas transaminases, bilirrubina ou LD. O nível médio de ALP foi significativamente mais baixo ($P<0,01$), porém ainda elevado no grupo iMCD-NOS (mediana: 266 IU/L, intervalo: 174-1,240 IU/L). Todos os 5 casos TAFRO-iMCD que foram testados para as isozimas ALP demonstraram isozima hepática específica.

Vários casos de TAFRO-iMCD mostraram progressiva insuficiência renal aguda e 5 casos precisaram de hemodiálise temporária, devido a sintomas urêmicos durante a evolução da doença. O nível de creatinina sérica média nos casos TAFRO-iMCD, no diagnóstico, foi 0.96 mg/dL (intervalo 0.52-6.08 mg/dL).

Nenhum dos casos TAFRO-iMCD demonstrou hipergamaglobulinemia policlonal (nível de IgG médio 1,476 mg/dL, intervalo 880-2,842 mg/dL). Por oposição, 17 dos 19 casos de iMCD-NOS mostrou marcada hipergamaglobulinemia, com níveis de IgG superiores a 3,500 mg/dL (nível médio de IgG 4,775 mg/dL, intervalo 2,176-8,380 mg/dL) ($P<0,01$).

O nível médio de IL-6 sérico, no diagnóstico, foi maior para o grupo iMCD-NOS (25,9 pg/mL, intervalo: 8.6-113 pg/mL) do que para o grupo TAFRO-iMCD (16.2 pg/mL, intervalo: 6.0-67.3 mg/dL), mas estas diferenças não foram estatisticamente significativas. O nível médio de VEGF plasmático foi 305 pg/mL nos 16 casos de TAFRO-iMCD que mediram o VEGF (intervalo $<20-1,410$ pg/mL), que é aproximadamente 3 vezes acima do limite superior normal. O VEGF não foi medido para os casos iMCD-NOS.

Achados histológicos e imunohistoquímicos:

Nódulos linfáticos. Todos os 44 pacientes tinham uma ou mais amostras de nódulos linfáticos disponíveis para posterior análise. Todos os 42 casos japoneses de TAFRO-iMCD e iMCD-NOS foram reunidos e revistos no Departamento de Patologia da Universidade de Okayama. Ambos os casos dos EUA foram revistos no "National Institute of Health"/ "National Cancer Institute". Todos os casos de TAFRO-iMCD e iMCD-NOS foram testados para o HHV-8 por imunohistoquímica para o LANA-1, tendo sido os resultados negativos. O DNA do HHV-8 também não foi detetado por PCR no sangue em todos os 8 casos de TAFRO-iMCD em que este teste foi realizado.

Os pacientes com TAFRO-iMCD exibiram diversos achados histopatológicos comuns. Quase todos os nódulos linfáticos obtidos no diagnóstico estavam apenas ligeiramente aumentados no tamanho em relação ao comprimento de maior diâmetro (média: 9 mm, intervalo: 6-14 mm). Os achados histopatológicos característicos do grupo TAFRO-iMCD incluíam centros germinativos atróficos, expansão da zona interfolicular, proliferação de vênulas endoteliais de alta densidade e relativamente poucas células plasmáticas maduras (Fig. 1a-e). As características de HV, como os vasos sanguíneos penetrantes e invasivos, estavam presentes, mas não tão proeminentes como normalmente acontece no HV ou iMCD de tipo misto. Não foram observados achados arquiteturais típicos de CD unicêntrica hialina vascular. Além disso, foram encontrados núcleos aumentados em células endoteliais proliferativas, nos centros germinativos, e na zona interfolicular dos casos com TAFRO-iMCD (Fig. 1a-d). Estudos imunohistoquímicos mostraram que as redes de células dendríticas foliculares (FCD) tendiam a ser expandidas ou interrompidas na zona interfolicular dos casos TAFRO-iMCD (Fig. 1f).

Os achados histológicos de TAFRO-iMCD foram bastante diferentes dos de iMCD-NOS. Todos os casos de iMCD-NOS mostraram características do tipo-PC classicamente relatadas, incluindo: marcada plasmacitose interfolicular difusa, proeminência de centros germinativos e preservação da arquitetura global dos nódulos linfáticos [25]. Nenhuma restrição de cadeia leve foram detetadas por hibridização *in situ* ou coloração imunohistoquímica em qualquer um dos grupos (Tabela 1).

Medula óssea. As amostras de aspiração ou biópsias da medula óssea estavam disponíveis em 22/25 casos com TAFRO-iMCD. Os aspirados estavam apenas disponíveis em 6 casos. Nenhuma amostra demonstraram infiltração de células neoplásicas. Em 2 casos, a biópsia não permitiu obter qualquer material celular.

Das 22 amostras de medula óssea disponíveis, dos pacientes com TAFRO-iMCD, 13 eram hiperclulares (Fig. 1g-i), 6 eram normocelulares e 3 eram hipocelulares. A hiperplasia megacariocítica com ligeira atipia, como núcleos múltiplos e amplamente separados, foi observada em 12 casos (Fig. 1i). Os micromegacariócitos não estavam aumentados de forma evidente. Não foi observada plasmocitose significativa.

A mielofibrose (MF) foi pontuada usando uma escala de 0 a 3 de acordo com o consenso Europeu de graduação da fibrose da medula óssea [26]. 13/16 casos foram positivos para a fibrose da reticulina e todos os 13 casos foram classificados em MF-1 com uma rede muito frágil de fibras de reticulina (Fig. 1j). As amostras de medula óssea dos casos iMCD-NOS não foram testadas.

Orientação clínica e follow-up:

Corticosteróides (como prednisolona, metilprednisolona e dexametasona) foram usados como terapia de 1.ª linha em 23/25 casos com TAFRO-iMCD. 11/23 casos (47,8%) responderam bem à terapia inicial e isolada de corticosteróides. Devido a deterioração aguda, um caso exigiu poliquimioterapia (*multidrug therapy*) na altura do diagnóstico, consistindo num regime de: rituximab, tocilizumab, ciclofosfamida e etoposido. Um caso mostrou remissão espontânea apenas com drenagem do derrame pleural e tratamento com anti-inflamatórios não-esteróides (AINEs).

12 pacientes receberam terapia adicional devido a uma fraca resposta aos corticosteróides e 9 melhoraram com terapias adicionais. Alguns pacientes receberam mais do que um regime de tratamento adicional. Os tratamentos adicionais utilizados incluíam: ciclosporina (n=7); tocilizumab (n=6); rituximab (n=4); siltuximab (anticorpo monoclonal anti-IL6, n=1); talidomida (n=1); vincristina (n=1); sirolimus (n=1); VDT-ACE-R (bortezomib, dexametasona, talidomida, adriamicina, ciclofosfamida, etoposido e rituximab, n=1); e injeção intravenosa de imunoglobulina (IVIG, n=1). Um paciente em estado grave que foi refratário a terapia com corticosteróides, rituximab e siltuximab, respondeu bem a um ciclo de VDT-ACER, mas recidivou 15 meses mais tarde, durante a administração mantida de siltuximab a cada 3 semanas. O paciente respondeu, entretanto, a outro ciclo de VDT-ACE-R, mas recidivou 16 meses depois enquanto fazia siltuximab a cada 3 semanas e manutenção semanal com VDT. O paciente recebeu uma terceira rodada de VDT-ACE-R, a qual induziu outra remissão completa. Está agora a receber IVIG para manutenção e sirolimus, e tem estado em remissão completa por 21 meses. A terapia de substituição do plasma foi usada em 2 casos. 7 casos com insuficiência renal aguda severa requereram diálise temporária durante as crises, a qual foi descontinuada após o tratamento com politerapia.

O período médio de vigilância foi 9 meses (intervalo, 0-91). 3 pacientes morreram durante o período de observação devido a progressão da doença ou sépsis. 3 outros pacientes experienciaram crises da doença quando houve desmame dos agentes imunossupressores (em Informação de Apoio – Tratamentos – Tabela 1 e *outcomes* da TAFRO-iMCD). Nenhum dos pacientes desenvolveu linfoma, sarcoma de Kaposi ou outras doenças malignas durante o período de acompanhamento.

Discussão

Analisamos os achados clínicos e histopatológicos de 23 casos japoneses e 2 casos americanos de MCD negativa para HHV-8 que demonstraram os sintomas clínicos de TAFRO (TAFRO-iMCD). Em relação a iMCD-NOS, a TAFRO-iMCD é caracterizada por uma evolução clínica mais agressiva, refratária a corticosteróides, trombocitopenia, maior frequência de anasarca, níveis elevados de ALP e níveis normais de gamaglobulina. Estes traços clínicos e laboratoriais únicos sugerem que a TAFRO-iMCD é uma entidade distinta dentro da extensa entidade de iMCD.

2 grandes desafios no diagnóstico e tratamento da iMCD são o espectro de sintomas não-específicos e a etiologia pouco clara da doença. Em comparação, a MCD positiva para HHV-8 é mais fácil de diagnosticar, porque a coloração positiva de LANA-1 na presença de histopatologia de nódulos linfáticos característica de MCD é específica para MCD positiva para HHV-8. Uma vez que os linfócitos B apresentam o HHV-8, o tratamento tem como alvo o CD20 e a depleção das células B é altamente efetiva [27]. Contudo, a iMCD não tem um biomarcador de diagnóstico positivo e pode demonstrar um amplo espectro de sintomas, o que torna a doença extremamente difícil de diagnosticar. Além disso, quando a doença é diagnosticada, pouco se sabe acerca dos mecanismos de patogênese para guiar as decisões de tratamento.

O nosso relatório avança a compreensão da iMCD, abordando os desafios colocados por sintomas não-específicos e etiologia obscura. No que concerne aos sintomas da iMCD, identificamos um grupo de pacientes iMCD com ambas as características patológicas TAFRO e sintomas centrais TAFRO, os quais estão altamente representados em pacientes afetados. Identificar um grupo homogêneo com iMCD é crucial, porque simplifica o reconhecimento da doença e o diagnóstico. Enquanto a MCD associada a HHV-8 é prontamente reconhecida através da sensibilidade da coloração LANA-1 para o vírus HHV-8 e da especificidade dos achados histopatológicos “*Castleman-like*”, combinados com LANA-1 positivos, também a TAFRO-iMCD pode ser rapidamente reconhecida através dos seus sintomas clínicos facilmente identificáveis e achados patológicos. Além de ajudar no diagnóstico, a subclassificação de iMCD baseada em características clínicas vai ser útil para informar do prognóstico, tratamentos apropriados e novos alvos para futuras terapias.

Neste contexto, propomos que a MCD pode ser posteriormente classificada para lá do *status* HHV-8. A iMCD negativa para HHV-8 pode ser depois estratificada em iMCD com achados TAFRO ou iMCD-NOS. Com base nas nossas séries e outros relatos de iMCD, propomos os seguintes critérios de diagnóstico para iMCD com achados de TAFRO (tabela 3). Os pacientes com TAFRO-iMCD devem preencher os critérios histopatológicos, 3 critérios major e 1 ou mais critérios minor. É fundamental excluir doenças do diagnóstico diferencial. As doenças que deviam ser excluídas incluem doenças reumatológicas, como o LES, doenças infecciosas como o vírus do Epstein-Barr, e doenças neoplásicas como o linfoma, síndrome de POEMS e cancro. Recentemente, uma nova síndrome de citocinas hiperinflamatórias associada com HHV-8 ou infecção por vírus do herpes associada ao sarcoma de Kaposi (KSHV) foi descrita como síndrome de citocinas inflamatórias KSHV (KICS) [28]. Esta condição clínica caracteriza-se por IL-6 elevada devido à replicação do HHV-8 e apresenta-se com sintomas clínicos inflamatórios semelhantes à MCD. Porém, estes pacientes não têm histopatologia dos nódulos linfáticos característica da MCD e, tal como a TAFRO-iMCD, têm frequentemente nódulos linfáticos mais pequenos do que a MCD associada a HHV-8 ou a iMCD-NOS. Embora a TAFRO-iMCD e KICS tenham sintomas sobreponíveis, a TAFRO-iMCD pode ser distinguida da KICS porque os pacientes com TAFRO-

iMCD são negativos para HHV-8.

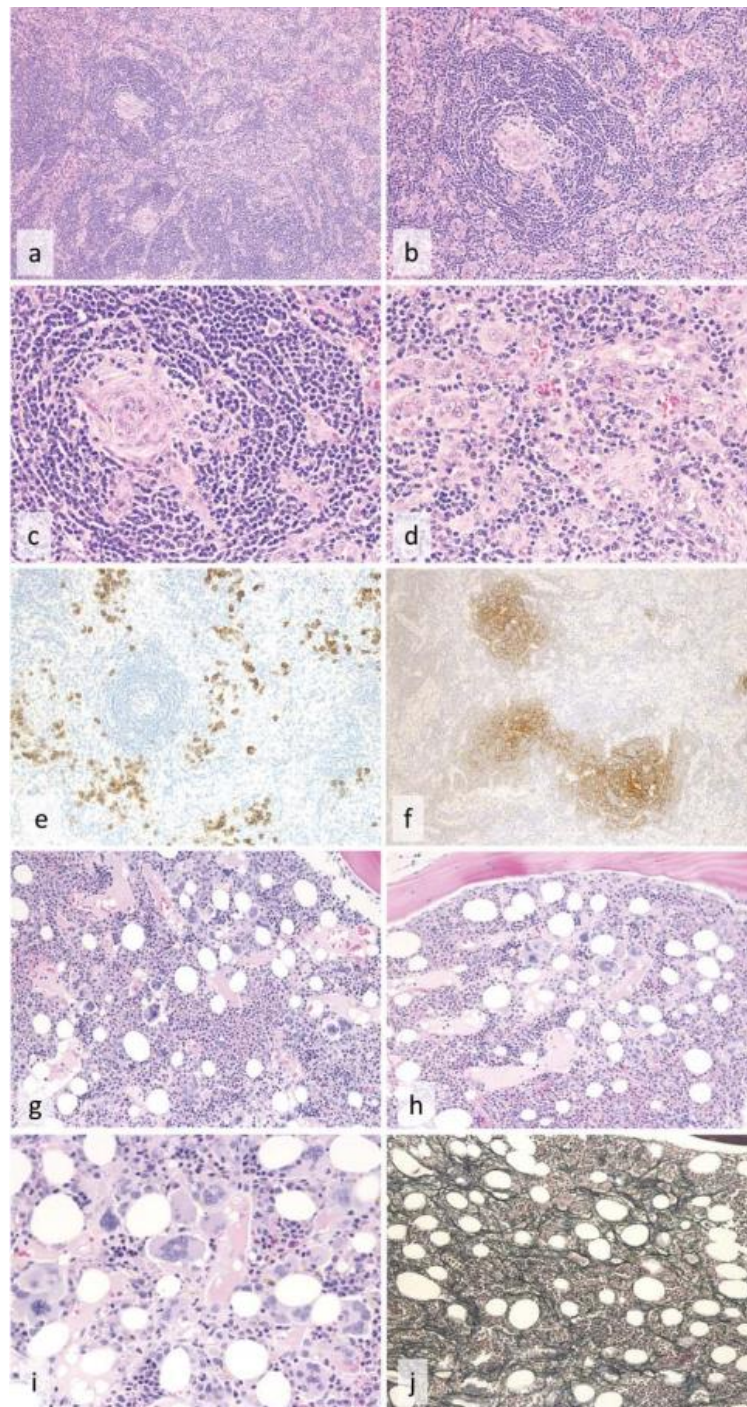


Figura 1. Achados histológicos dos nódulos linfáticos da TAFRO-iMCD (a-f) e medula óssea (g-j). a: A biópsia de um nódulo linfático ligeiramente aumentado mostra centros germinativos atróficos e seios intactos (coloração H&E); b: Observou-se marcada proliferação de vênulas de endotélio alto nos centros germinativos e na zona interfolicular; c: Centros germinativos atróficos com células endoteliais demonstraram a proliferação de núcleos aumentados sem proeminência de vasos sanguíneos hialinizados penetrantes. (coloração H&E); d: A zona interfolicular é expandida e há proliferação de vênulas endoteliais altamente densas com núcleos aumentados. (coloração H&E); e: Há pequenos números de células plasmáticas positivas para CD138 na zona interfolicular (imunocoloração CD138); f: Imunocoloração com CD21 mostra padrões expandidos ou interrompidos de redes de células dendríticas foliculares (imunocoloração CD21); g: 59% (13/22) dos casos mostram medula hiper celular. (coloração H&E); h: Megacariócitos tendem a ser hiperplásicos. (coloração H&E); i: Megacariócitos eram levemente atípicos, com núcleos múltiplos e amplamente separados. Não foi observada marcada plasmocitose. (coloração H&E); j: Coloração com prata mostra uma rede muito frágil de fibras de reticulina. (coloração com prata).

Este sistema de classificação expande a classificação anteriormente proposta por Kojima et al. que dividiu os casos japoneses de MCD em 2 variantes: linfadenopatia plasmocítica idiopática com hiperimmunoglobulinemia policlonal (tipo IPL) e tipo não-IPL. À semelhança da TAFRO-iMCD, os casos de não-IPL demonstraram achados HV, proliferação de vascularização na zona interfolicular e uma maior incidência de derrame pleural e/ou ascites, trombocitopenia e doenças auto-imunes. Também relataram que os casos não-IPL mostraram redes FDC com folículos expandidos ou interrompidos [29], o que observamos nas nossas séries TAFRO-iMCD.

Os casos do tipo IPL exibiram achados patológicos e clínicos mais consistentes com o nosso grupo iMCD-NOS.

Kojima et al. também referiram que a evolução clínica da MCD negativa para HHV-8 no Japão parece ter um percurso mais indolente e progride menos frequentemente para sarcoma de Kaposi ou linfomas de células B [29]. Nestas séries, que incluíram um período de follow-up médio de 9 meses, nenhum dos pacientes TAFRO-iMCD desenvolveu sarcoma de Kaposi, linfoma ou quaisquer outras doenças malignas.

TABELA 3. Critérios de diagnóstico propostos para a TAFRO-iMCD (adaptado)

1. Critérios histopatológicos:
 - Compatível com achados histológicos de nódulos linfáticos característicos da TAFRO-iMCD^a
 - LANA-1 negativo para o HHV-8
2. Critérios major:
 - Devem estar presentes 3 de 5 sintomas TAFRO:
 - ✓ Trombocitopenia
 - ✓ Anasarca
 - ✓ Febre
 - ✓ Fibrose da reticulina
 - ✓ Organomegalia
 - Ausência de hipergamaglobulinemia
 - Linfadenopatia de pequeno volume
3. Critérios minor (1 ou mais):
 - Hiper/normoplasia dos megacariócitos na medula óssea
 - Níveis altos de ALP sérica sem transaminase sérica marcadamente elevada

Requisitos: preencher os critérios histopatológicos, todos os critérios major, e 1 ou mais dos critérios minor.

Doenças que devem ser excluídas incluem: doenças reumatológicas, tal como: LES, doenças infecciosas, como: Vírus do Epstein-Barr agudo e doenças neoplásicas, por exemplo: linfoma, síndrome POEMS, e outros cânceros.

^a Achados dos nódulos linfáticos característicos da TAFRO, isto é, centros germinativos atróficos com núcleos alargados de células endoteliais, proliferação de vénulas endoteliais com núcleos alargados na zona interfolicular e pequenos números de células plasmáticas maduras. ALP, fosfatase alcalina.

Em contrapartida, mais de 20% dos pacientes com MCD associada a HHV-8 e positiva para HIV, noutras séries, desenvolveram linfoma de não-Hodgkin com um tempo de follow-up médio de 20 meses [30]. Dadas as consistências entre a caracterização de Kojima do tipo não-IPL e a nossa descrição de TAFRO-iMCD, acreditamos que estas entidades da doença são altamente similares e podem representar um único grupo. Adicionalmente, acreditamos que o diagnóstico de TAFRO-iMCD pode vir a ser amplamente aplicável em todo o mundo.

Além de proporcionar clareza no diagnóstico de MCD, este estudo identifica a TAFRO-iMCD como um ponto de referência crítico para a posterior elucidação da etiologia da iMCD. A heterogeneidade da iMCD pode representar muitas etiologias diferentes, confundindo os esforços dos investigadores que tentam descobrir a causa da doença. A consistência de sintomas nos pacientes com TAFRO-iMCD tem uma maior probabilidade de representar uma causa singular da doença, tornando este subconjunto da doença um grupo ideal para investigação mais aprofundada. Neste sentido, um dos *hallmarks* da MCD é a hipercitoquinemia patológica. A elevação de IL-6 tem sido frequentemente associada com a MCD. A IL-6 é uma citocina pró-inflamatória multifuncional que estimula a maturação de linfócitos B, aumenta a produção de imunoglobulinas pelas células plasmáticas e estimula a maturação dos megacariócitos, o que resulta tipicamente em trombocitose [31-34]. Nesta série de casos TAFRO-iMCD, a IL-6 pode não ser a citocina patológica primária. A IL-6 estava apenas ligeiramente elevada e os achados clínicos frequentemente associados com o excesso de IL-6, nomeadamente a trombocitose e a hipergamaglobulinemia, não foram observadas. Isto contrasta com os casos-controlo dos pacientes iMCD-NOS. Todos os casos de TAFRO-iMCD demonstraram trombocitopenia com hiper/normoplasia dos megacariócitos na medula óssea, na altura do diagnóstico ou em crises, o que pode ser devido ao aumento do consumo de trombócitos periféricos, que parece ser possivelmente de origem imunológica. A fibrose da reticulina sem plasmocitose foi frequentemente observada nos casos de TAFRO-iMCD. Apenas um pequeno número de casos de MCD associada a HHV-8 ou iMCD relataram achados na medula óssea. A MCD associada a HHV-8 nas biópsias da medula óssea demonstra, tipicamente, plasmocitose reativa com mínimo ou irregular grau 1 a 2 de fibrose [35]. 2 casos de iMCD relataram achados de medula óssea que eram muito consistentes com a histopatologia dos nódulos linfáticos, incluindo foliculos linfóides com centros germinativos hialinizados e regredidos, rodeados por uma pequena zona do manto, e células plasmáticas *bland* e policlonais perifericamente. Os 2 casos também demonstraram um aumento reativo nos megacariócitos [36].

Tem ainda sido relatado que não estava presente fibrose de reticulina significativa em qualquer um dos casos de síndrome POEMS [37]. Enquanto nenhum dos casos TAFRO-iMCD demonstrou hipergamaglobulinemia, quase todos os casos de iMCD-NOS demonstraram hipergamaglobulinemia policlonal.

Além disso, dos 6 casos de TAFRO-iMCD tratados com tocilizumab e 1 caso de TAFRO-iMCD tratado com siltuximab, 3 responderam e os outros 4 foram resistentes ao tratamento. Os níveis séricos de IL-6 dos indivíduos responsivos à terapia foram 20.2, 24.6 e 45.6 pg/mL.

Os valores dos indivíduos não-responsivos foram 6.0, 8.8, 26.4 e 67.3 pg/mL, sugerindo pouca evidência de uma associação entre a concentração sérica de IL-6 e a eficácia da terapia anti-IL6 com tocilizumab ou siltuximab na TAFRO-iMCD. Estes achados sugerem que a IL-6 elevada pode não ser o *driver* patológico primário da hipercitoquinemia pro-inflamatória responsável pela TAFRO-iMCD, sublinhando a importância de estudos mais aprofundados para identificar *drivers* alternativos da doença.

A MCD é uma doença heterogênea por hipercitoquinemia patológica, a qual é causada por HHV-8 em alguns casos, e por causa desconhecida noutros. Fajgenbaum et al. propuseram que a hipercitoquinemia na iMCD pode ser desencadeada por 1 ou mais dos seguintes mecanismos: autoimunes, mutação genética na linha germinativa num gene envolvido na imunidade inata (autoinflamatórios), secreção parácrina de citocinas (síndrome paraneoplásica), ou um vírus não-HHV-8. Este trabalho contribui para a evidência de que os casos de TAFRO-iMCD demonstram características clinicopatológicas únicas que se aglomeram na iMCD, potencialmente acionadas por uma das etiologias acima mencionadas. Adicionalmente, este artigo oferece a primeira descrição da TAFRO-iMCD nos EUA e é provável que existam mais casos que tenham passado despercebidos e não tenham sido relatados. Acreditamos que distinguir entre os subtipos de iMCD vai ajudar a clarificar o diagnóstico, o tratamento e o prognóstico. 2 prioridades urgentes neste campo incluem: (1) melhor caracterização dos achados clínicos e laboratoriais da MCD através de um registo global do paciente e estudo da história natural, o que está a ser atualmente planeado pela Castleman Disease Collaborative Network e investigadores na Universidade da Pensilvânia, e (2) investigações para descobrir as etiologias de iMCD, a fim de melhorar a gestão e os resultados.

Referências

1. Castleman B, Iverson L, Menendez VP. Localized mediastinal lymphnode hyperplasia resembling thymoma. *Cancer* 1956; 9:822-830.

2. Frizzera G, Peterson BA, Bayrd ED, Goldman A. A systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castleman's disease:

Clinical findings and clinicopathologic correlations in 15 patients. *J Clin Oncol* 1985; 3:1202-1216.

3. Keller AR, Hochholzer L, Castleman B. Hyalinevascular and plasma-cell types of giant lymph node hyperplasia of the mediastinum and other locations. *Cancer* 1972; 29:670–683.
4. Talat N, Belgaumkar AP, Schulte KM. Surgery in Castleman's disease: A systematic review of 404 published cases. *Ann Surg* 2012; 255:677–684.
5. Waterston A, Bower M. Fifty years of multicentric Castleman's disease. *Acta Oncol* 2004; 43: 698–704.
6. Fajgenbaum DC, van Rhee F, Nabel CS. HHV-8-negative, idiopathic multicentric Castleman disease: Novel insights into biology, pathogenesis, and therapy. *Blood* 2014; 123:2924–2933.
7. Dispenzieri A. POEMS syndrome: 2014 Update on diagnosis, risk-stratification, and management. *Am J Hematol* 2014; 89:213–223.
8. Kojima M, Nakamura S, Itoh H, et al. Systemic lupus erythematosus (SLE) lymphadenopathy presenting with histopathologic features of Castleman's disease: A clinicopathologic study of five cases. *Pathol Res Pract* 1997; 193:565–571.
9. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271–1277.
10. Dispenzieri A. How I treat POEMS syndrome. *Blood* 2012; 119:5650–5658.
11. Chadburn A, Cesarman E, Nador RG, Liu YF, Knowles DM. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus sequences in benign lymphoid. *Cancer* 1997; 80:788–797.
12. Gessain A. [Human herpesvirus 8 and associated diseases: Kaposi's sarcoma, body cavity based. *Bull Acad Natl Med* 1997; 181:1023–1034.
13. Suda T, Katano H, Delsol G, et al. HHV-8 infection status of AIDS-unrelated and AIDS associated multicentric. *Pathol Int* 2001; 51:671–679.
14. Fajgenbaum DC, Fajgenbaum D, Rosenbach M, van Rhee F, Nasir A, Reutter J. Eruptive cherry hemangiomas associated with multicentric Castleman disease: a case report and diagnostic clue. *JAMA Dermatol* 2013; 149:204–208.
15. Fajgenbaum D, Liu A, Ruth J, et al. HHV-8-negative, idiopathic multicentric castleman disease (IMCD): A description of clinical features and therapeutic options through a systematic literature review. *Blood (ASH Annual Meeting Abstracts)*. 2014; 124: 4861.
16. Takai K, Nikkuni K, Shibuya H, Hashidate H. Thrombocytopenia with mild bone marrow fibrosis accompanied by fever, pleural. *Rinsho Ketsueki* 2010; 51:320–325.
17. Inoue M, Ankou M, Hua J, Iwaki Y, Hagihara M. Complete resolution of TAFRO syndrome (thrombocytopenia, anasarca, fever, reticulin fibrosis and organomegaly) after immunosuppressive therapies using corticosteroids and cyclosporin a: A case report. *J Clin Exp Hematop* 2013; 53:95–99.
18. Iwaki N, Sato Y, Takata K, et al. Atypical hyaline vascular-type castleman's disease with thrombocytopenia, anasarca, fever, and systemic lymphadenopathy. *J Clin Exp Hematop* 2013; 53:87–93.
19. Kawabata H, Kotani S, Matsumura Y, et al. Successful treatment of a patient with multicentric Castleman's disease who presented with thrombocytopenia, ascites, renal failure and myelofibrosis using tocilizumab, an anti-interleukin-6 receptor antibody. *Intern Med* 2013; 52:1503–1507.
20. Masaki Y, Nakajima A, Iwao H, et al. Japanese variant of multicentric castleman's disease associated with serositis and thrombocytopenia—A report of two cases: Is TAFRO syndrome (Castleman-Kojima disease) a distinct clinicopathological entity? *J Clin Exp Hematop* 2013; 53:79–85.
21. Takai K, Nikkuni K, Momoi A, et al. Thrombocytopenia with reticulin fibrosis accompanied by fever, anasarca and hepatosplenomegaly: a clinical report of five cases. *J Clin Exp Hematop* 2013; 53:63–68.
22. Awano N, Inomata M, Sonoda Y, et al. A case of multicentric castleman's disease of mixedtype, which showed constellation of symptoms, i.e., thrombocytopenia, anasarca, anemia, fever, myelofibrosis, and lymphadenopathy. *J Clin Exp Hematop* 2013; 53:101–105.
23. Abdo LA, Morin CP, Collarino RP, et al. First European case of TAFRO syndrome associated with Sjogren disease. *Am J Intern Med* 2014; 2: 102–105.
24. Kanda Y. Investigation of the freely available easy-to-use software 'EZR' for medical statistics. *Bone Marrow Transplant* 2013; 48:452–458.
25. Frizzera G, Banks PM, Massarelli G, et al. A systemic lymphoproliferative disorder with morphologic features of Castleman's disease. Pathological findings in 15 patients. *Am J Surg Pathol* 1983; 7:211–231.
26. Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, et al. European consensus on grading bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005; 90:1128–1132.
27. Bower M. How I treat HIV-associated multicentric Castleman disease. *Blood* 2010; 16:4415–4421.
28. Uldrick TS, Wang V, O'Mahony D, et al. An interleukin-6-related systemic inflammatory syndrome in patients co-infected with Kaposi sarcoma-associated herpesvirus and HIV but without Multicentric Castleman disease. *Clin Infect Dis* 2010; 51:350–358.
29. Kojima M, Nakamura N, Tsukamoto N, et al. Clinical implications of idiopathic multicentric castleman disease among. *Int J Surg Pathol* 2008; 16:391–398.
30. Oksenhendler E, Boulanger E, Galicier L, et al. High incidence of Kaposi sarcoma-associated herpesvirus-related non-Hodgkin lymphoma in patients with HIV infection and multicentric Castleman disease. *Blood* 2002; 99:2331–2336.
31. Ishibashi T, Kimura H, Shikama Y, et al. Interleukin-6 is a potent thrombopoietic factor in vivo in mice. *Blood* 1989; 74:1241–1244.
32. Ishibashi T, Kimura H, Uchida T, Kariyone S, Friese P, Burstein SA. Human interleukin 6 is a direct promoter of maturation of megakaryocytes in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 5953–5957.
33. Eddahri F, Denanglaire S, Bureau F, et al. Interleukin-6/STAT3 signaling regulates the ability of naive T cells to acquire B-cell help capacities. *Blood* 2009; 113:2426–2433.
34. Diehl SA, Schmidlin H, Nagasawa M, Blom B, Spits H. IL-6 triggers IL-21 production by human CD41 T cells to drive STAT3-dependent plasma cell differentiation in B cells. *Immunol Cell Biol* 2012; 90:802–811.
35. Venkataraman G, Uldrick TS, Aleman K, et al. Bone marrow findings in HIV-positive patients with Kaposi sarcoma herpesvirus-associated multicentric Castleman disease. *Am J Clin Pathol* 2013; 139:651–661.
36. Kreft A, Weber A, Springer E, et al. Bone marrow findings in multicentric Castleman disease in HIV-negative patients. *Am J Surg Pathol* 2007; 31:398–402.
37. Dao LN, Hanson CA, Dispenzieri A, et al. Bone marrow histopathology in POEMS syndrome: a distinctive combination of plasma cell, lymphoid, and myeloid findings in 87 patients. *Blood* 2011; 117:6438–6444.

