

Síndrome linfoproliferativa autoimune: relato de caso

Autoimmune lymphoproliferative syndrome: case report

João Lucas Cruz Souza^{1/+}, Isabela de Pádua Barbosa², Bruna Moura Santos², Pedro Monteiro Cabral de Melo², Bethânia de Araújo Silva Amaral³, Terezinha de Jesus Marques-Salles⁴

¹ Acadêmico de Ciências Biológicas da Universidade de Pernambuco (UPE), ² Acadêmico da Faculdade de Medicina de Olinda - FMO, ³ PhD-Professora da FMO, Coordenadora Especialista do Laboratório Genômica, ⁴ MD, PhD-Professora da FMO, Pesquisadora do Centro de Oncoematologia Pediátrica de Pernambuco - CEONHPE /HUOC.

RESUMO: Introdução: A Síndrome Linfoproliferativa Autoimune (ALPS) é doença rara, genética, decorrente de mutações nos genes da via *Fas* e que ocasionam defeitos na apoptose linfocitária, levando a anemia hemolítica autoimune, linfadenomegalia, esplenomegalia, hipergamaglobulinemia, elevação exagerada da vitamina B12 e propensão para transformação linfomatosa. **Relato do caso:** Lactente com 5 meses, gênero feminino, admitida para investigar anemia, esplenomegalia e episódios repetitivos de infecções. Exames laboratoriais mostraram anemia hemolítica autoimune, hipergamaglobulinemia e elevação sérica da vitamina B12. A citometria de fluxo evidenciou população de linfócitos T anormal: TCR- $\alpha\beta$ /CD3+/CD4-/CD8-. O estudo histopatológico do linfonodo revelou hiperplasia paracortical com células T transformadas, CD3+/CD4-/CD8-. A análise citogenética por bandeamento G na medula óssea mostrou cariótipo normal (46,XX) e técnica de FISH em núcleos interfásico afastou a ocorrência da monossomia do cromossomo 7. O sequenciamento do gene *Fas* revelou presença da variante patogênica de substituição em heterozigose, no sítio de *splicing* do íntron 4 (IVS4+1G>A). A paciente foi diagnosticada como ALPS e tratada com corticosteroide, houve regressão significativa da esplenomegalia e estabilização da anemia hemolítica, teste de Coombs negativo. Atualmente está estável, em uso de baixas doses de corticosteroide. **Comentários:** Os autores chamam atenção para necessidade da investigação da ALPS em pacientes pediátricos que cursam com anemia hemolítica, esplenomegalia e infecções de repetição.

Palavras-chave: Síndrome Linfoproliferativa Autoimune. Esplenomegalia. Genes da via FAS

ABSTRACT: Introduction: Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) is a rare, genetic disease caused by mutations in the genes of the *Fas* pathway and that cause defects in lymphocyte apoptosis, leading to autoimmune hemolytic anemia, lymphadenomegaly, splenomegaly, hypergammaglobulinemia, exaggerated elevation of vitamin B12 and propensity for lymphomatous transformation. **Case report:** A 5-month-old female, admitted to investigate anemia, splenomegaly and repetitive infections episodes. Laboratory tests showed anemia autoimmune hemolytic, hypergammaglobulinemia and serum elevation of vitamin B12. Flow cytometry showed a population of lymphocytes T anormal: TCR- $\alpha\beta$ / CD3 + / CD4- / CD8-. The histopathological study of the lymph node revealed hyperplasia paracortical with T-transformed cells, CD3 + / CD4- / CD8-. G-banding cytogenetic analysis in the bone marrow showed a normal karyotype (46, XX) and the FISH technique in the interphase nucleus removed the occurrence of chromosome 7. Sequencing of the *Fas* gene revealed the presence of the pathogenic variant of heterozygosity, at the intron 4 splicing site (IVS4 + 1G> A). The patient was diagnosed as ALPS and treated with corticosteroid; there was a significant regression of splenomegaly and stabilization of hemolytic anemia, Coombs' test negative. She is currently stable, in use of low doses of corticosteroid. **Comments:** The authors draw attention for the need of the ALPS investigation in pediatric patients who have hemolytic anemia, splenomegaly and repeat infections.

Keywords: Autoimmune lymphoproliferative syndrome. Splenomegaly. FAS route genes

INTRODUÇÃO

A síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS) é doença rara causada pela homeostase defeituosa dos linfócitos, associada à ocorrência

de variantes patogênicas germinativas em heterozigose nos genes da via *Fas*, que ocasionam defeitos na apoptose linfocitária¹. É caracterizada pela presença de citopenias autoimunes, esplenomegalia e/ou linfadenomegalias. Existe aumento dos linfócitos

*Correspondência do autor: suzanemsousa@hotmail.com

policlonais no sangue periférico e nos tecidos. Os pacientes com ALPS apresentam maior susceptibilidade à infecções e malignidades linfoides²⁻⁵.

A ALPS deve ser considerada como diagnóstico diferencial de várias doenças devido às manifestações clínicas que se sobrepõem a afecções linfoproliferativas hematológicas e/ou autoimunes⁶. O diagnóstico é realizado através da detecção do aumento do percentual de células T duplo negativas (TCR $\alpha\beta$ + CD4-CD8-), achado comum da doença⁷. A combinação destes achados com dados clínicos-laboratoriais e identificação da variante patogênica em algum dos genes da via *Fas* de apoptose (*FAS*, *FASLG*, *CASP10*) são critérios essenciais de inclusão e confirmação do diagnóstico de ALPS⁸.

Neste relato é discutido o diagnóstico diferencial dos pacientes com ALPS a partir de um caso clínico inédito no estado de Pernambuco. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar HUOC/PROCAPE.

RELATO DE CASO

Paciente LMS, feminino, 5 meses, natural de Cupira-PE, admitida no Centro de Oncologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz (CEONPE/HUOC) para investigar anemia e aumento do volume abdominal. A genitora relatava que observou aumento de volume abdominal na criança desde os quatro meses de idade, assim como episódios frequentes de diarreia e febre. Relatou ainda que teve dificuldade de engravidar e fez vários tratamentos em um período de sete anos,

culminando com o sucesso da inseminação artificial, resultando na gestação da paciente. Não havia história familiar de consanguinidade, câncer e/ou doenças reumatológicas. Ao exame físico, a paciente apresentava abdome protuso, com esplenomegalia gigante que atingia fossa ilíaca esquerda, ocupava todo hemiabdomen e ultrapassava a linha média, adenomegalia de quatro centímetros na região cervical esquerda sem sinais flogísticos. Para investigação da doença foram solicitados os exames laboratoriais: Hemograma evidenciou anemia grave, plaquetopenia, linfocitose com atipia linfocitária e velocidade de eritrossedimentação (VSH) elevada (Hb: 6.6g/dL; Ht: 23.8%; VCM: 75.1; leucócitos: 5.600p/mm³; plaquetas: 91.000/mm³). A exceção da elevação da Vitamina B12 (2000pg/ml), outros exames bioquímicos não mostraram alterações significativas. O coproparasitológico e sumário de urina não mostraram anormalidades. O protidograma mostrou hipergamaglobulinemia com Ig G-3137mg/dL. Pesquisa de crioaglutininas, teste de *Coombs* e FAN negativos. Teste de PPD (mantoux) não reativo. Sorologias negativas para EBV, CMV, HAV, HBV e toxoplasmose. A tomografia computadorizada (TC) do abdômen superior confirmou esplenomegalia homogênea (Figura 1) e a TC do tórax não mostrou anormalidades. A ultrassonografia da região cervical mostrou padrão de linfadenite cervical inespecífica.

A punção aspirativa e biópsia de medula óssea mostraram hiperplasticidade da série mieloide com eosinofilia, discretos sinais de megaloblastose e histiócitos com hemofagocitose. Não havia parasitos ou infiltração

5 - RELATO DE CASO

maligna metastática. A conclusão foi de medula óssea reativa. A imunofenotipagem pela citometria de fluxo do sangue periférico mostrou que 10% de linfócitos expressam eram TCR $\alpha\beta$, CD3+/CD4-/CD8- e 10% das células T eram gama/delta (Figura 2).

O estudo histopatológico do linfonodo cervical esquerdo demonstrou hiperplasia nas

regiões interfolicular e paracortical, com áreas de numerosas células linfoides, transformadas (CD3+), polimorfas e número elevado de figuras de mitose, muitas delas sem expressão de CD4 ou CD8 em cuja análise imunohistoquímica negatividade para CD1a, CD30 e TdT e reatividade das células para CD20, CD3, CD4, CD8, Ki-67 (70%) e S-100 (Figura 3).

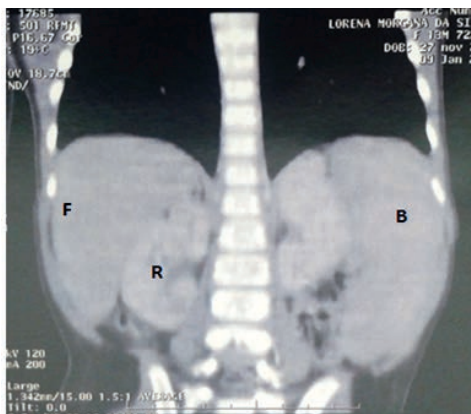


Figura 1. Tomografia de abdome com contraste da paciente L.M.S, mostrando hepatoesplenomegalia: F) fígado; R) rins; B)

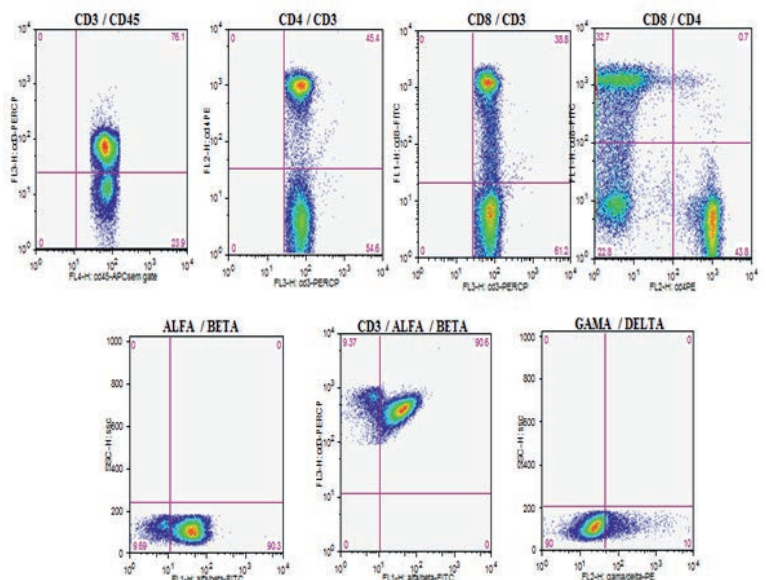


Figura 2. Histogramas da imunofenotipagem de sangue periférico, mostrando população de linfócitos CD3+/CD4-/CD8-. CEONPE/HUOC

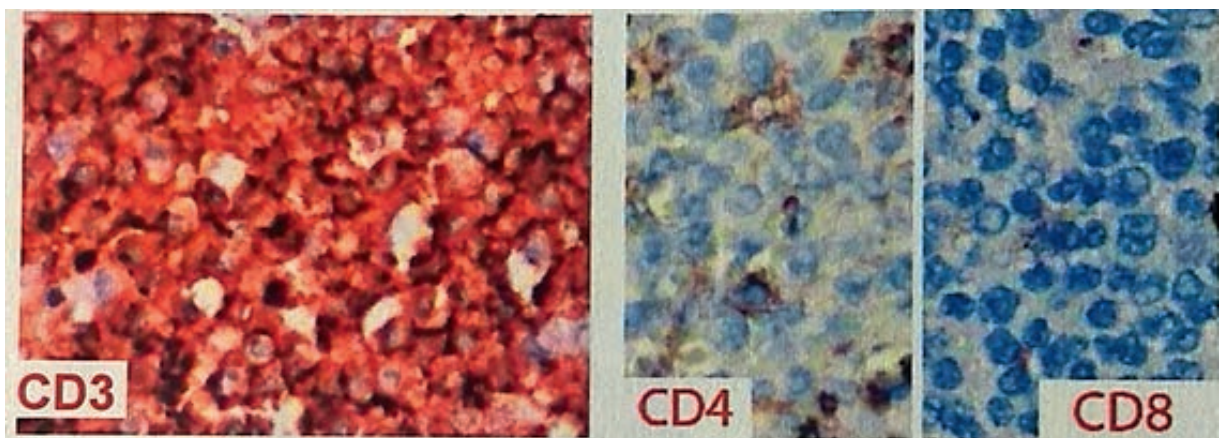


Figura 3. Imunohistoquímica de linfonodo mostrando linfócitos CD3+/CD4-/CD8-. CEONPE/HUOC

Os estudos citogenéticos pelo bandejamento G mostrou cariótipo normal,46,XX e a técnica de FISH não detectou monossomia 7. O sequenciamento do gene *Fas* revelou substituição em heterozigose no sítio de *splicing* do íntron 4. (IVS4+1G>A) Desta forma, a paciente foi diagnosticada como ALPS e iniciou tratamento inicialmente com doses altas de corticosteroide por três meses houve regressão da esplenomegalia e estabilização da anemia, após redução lenta desta medicação e devido à dificuldade da aquisição de outros imu-nossuppressores, a paciente vem sendo tratada com doses baixas (2,5mg) de prednisolona. Atualmente, aos cinco anos, a criança está clinicamente estável com acompanhamento clínico e realizando exames periódicos para monitoramento da doença.

COMENTÁRIOS

A Síndrome Linfoproliferativa Autoimune foi descrita inicialmente em 1967, sendo considerada uma doença da homeostasia linfocitária causada por defeitos na via apoptótica dos genes *Fas/CD95*. Diferentes tipos de mutações genéticas têm sido descritas e que pode ser classificadas nos subtipos Ia e Ia com mutação somática, cuja proteína mutada é a *Fas*, que está envolvida na apoptose, no receptor linfocitário maior; o subtipo Ib que atinge o ligante *Fas*; o tipo II que acomete as caspase-10, caspase-8 e a protease intracelular da cascada apoptótica e o tipo III que cuja proteína ainda é desconhecida⁹.

Os pacientes com ALPS têm linfocitose de células T e B, que pode atingir cinco

vezes o valor normal e caracteristicamente as células T são TCR α/β + CD4- CD8-, normalmente presentes numa proporção inferior a 1% no sangue periférico, tendo nestes variações entre 5 a 40%. Estas células, expressam CD45RA+, CD45RO-, CD57+, assim como HLA-DR¹⁰, achados encontrados em nossa paciente.

Embora a linfoproliferação seja inicialmente benigna, cerca de 10% dos doentes com ALPS do tipo Ia desenvolvem linfoma de células B, sendo o risco de desenvolver linfoma de Hodgkin e não Hodgkin de cerca de 50 vezes. Assim é prudente acompanhar estes pacientes ao longo de toda vida, justificando a importância de um seguimento ambulatorial constante. A evolução de um doente com ALPS é variável, mas frequentemente melhora ao longo dos anos, com média de vida se sobrepondo a da população normal. A recorrência dos episódios autoimunes e a sua gravidade reduzem com a idade e adequada resposta à terapêutica pode sugerir boa evolução.

A doença é pouco conhecida com cerca de 300 casos relatados na literatura⁹, sendo um importante diagnóstico diferencial com outros distúrbios de imunodeficiência que são caracterizados ou complicados por linfoproliferação, doença autoimune e linfoma, devido a seus fenótipos heterogêneos, que se sobrepõem clinicamente a outras doenças^{6,8}. Essa síndrome surge na infância nos primeiros anos de vida, sem predominância por sexo ou raça^{9,10}. A paciente descrita neste caso um lactente com 5 meses, que teve os achados clínicos e laboratoriais compatíveis com a

ALPS, tais como, anemia hemolítica autoimune, linfadenomegalia, esplenomegalia, hipergamaglobulinemia, elevação exagerada da vit B12 ao lado de uma população de anormal de células T TCR $\alpha\beta$ +, CD3+/CD4-/CD8-. Devido a manifestações similares a outras doenças pediátricas como, distúrbios linfoproliferativos, LMMJ / Monossomia do 7, distúrbios autoimunes, doenças de depósito e doenças infecciosas como leishmaniose visceral (calazar), foram necessários realização de exames laboratoriais específicos, bioquímicos, hematológicos e estudos genéticos.

A ALPS deverá ser investigada em pacientes e familiares com um quadro de linfoproliferação não maligna, através dos exames laboratoriais para anemia autoimune, dosagem da gamaglobulina, vit B12, imunofenotipagem pela citometria de fluxo para pesquisar a expansão de células DNT (> 1%) e pesquisa das mutações do gene *Faz*.

REFERÊNCIAS

1. Lev A, et al. Characterizing T cells in SCID patients presenting with reactive or residual T lymphocytes. *Clin Dev Immunol*. 2012; 2012:261470.
2. Minemura H, Tanino Y, Ikeda K. Possible Association of Multicentric Castleman's Disease with Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome. *Biores Open Access* . 2018; 7(1): 47–51.
3. Rensing-Ehl A, Warnatz K, Fuchs S, Schlesier M, Salzer U.. Clinical and immunological overlap between autoimmune lymphoproliferative syndrome and common variable immunodeficiency. *Clin Immunol*. 2010; 137(3): 357-65.
4. Bleesing JJ, Bleesing JJ, Brown MR, Novicio C, Guarraia D, Dale JK, Straus SE. A composite picture of TcR alpha/beta(+) CD4(+)CD8(+) T Cells (alpha/beta-DNTCs) in humans with autoimmune lymphoproliferative syndrome. *Clin Immunol*. 2002; 104(1):21-30.
5. Teachey DT, Seif AE, Grupp SA. Advances in the management and understanding of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). *Br J Haematol*. 2010 Jan; 148(2):205-16.
6. Rudman Spergel A, Walkovich K, Price S, Niemela JE, Wright D, Fleisher TA. Autoimmune lymphoproliferative syndrome misdiagnosed as hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatrics*. 2013 Nov; 132(5):1440-4.
7. Kianifar HR, Khalesi M, Farid R, Badiie Z, Rastin M, Ahanchian H. Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS) in a Boy with Massive Lymphadenopathy. *Iran J Allergy Asthma Immunol*. 2010; 9(3):181-63.
8. Teachey DT. New Advances in the Diagnosis and Treatment of Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome (ALPS). *Curr Opin Pediatr*. 2012; 24(1):1-8.
9. Rodrigues V, Conde M, Figueiredo A, Vasoncelos J, Dias A. Síndrome linfoproliferativa autoimune, *Acta Med Port*. 2011; 24(5):833-36.
10. Oliveira JB, Bleesing JJ, Diazani U, Fleisher TA, Jaffe ES, Lenardo MJ. Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from the 2009 NIH International Workshop. *Blood*. 2010-7; 116(14):35-40.