

SÍNDROME LINFOPROLIFERATIVA AUTOIMUNE: RELATO DE CASO

AUTOIMUNE 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, 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 Onco-hematologia Pediátrica de Pernambuco - CEONHPE /HUOC.

RESUMO

Introdução: A síndrome linfoproliferativa autoimune (ALPS) é uma doença rara, genética, decorrente de mutações nos genes da via FAS 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 cinco 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- $\alpha\beta$ /C3+/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 a técnica de FISH em núcleos interfásicos 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; o teste de Coombs deu negativo. Atualmente, a paciente está estável, usando doses baixas de corticosteroide. **Comentários:** Mostra-se necessária a 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 acitometry showed a population of lymphocytes T anormal: TCR- $\alpha\beta$ / C3 + / 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 heterozygosis, 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 uma 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. A ALPS é caracterizada pela presença de citopenias autoimunes, esplenomegalia e/ou linfadenomegalias e, devido a ela, ocorre um aumento dos linfócitos policlonais no sangue periférico e nos tecidos. Os pacientes com ALPS apresentam maior suscetibilidade a infecções e malignidades linfoides²⁻⁵.

A ALPS deve ser considerada como diagnóstico diferencial de várias doenças em virtude das manifestações clínicas que se sobrepõem a afecções linfoproliferativas hematológicas e/ou autoimunes⁶. O diagnóstico é realizado pela detecção do aumento do percentual de células T duplo negativas (TCR $\alpha\beta$ + CD4-CD8-), achado comum da doença⁷. A combinação desses resultados com dados clínicos-laboratoriais e identificação da variante patogênica em algum dos genes da via FAS de apoptose (FAS, FASLG, CASP10) é critério essencial 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, Brasil. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Complexo Hospitalar HUOC/PROCAPE.

RELATO DE CASO

Paciente LMS, feminino, cinco meses de idade, natural de Cupira, em Pernambuco, admitida no Centro de Oncologia Pediátrica do Hospital Universitário Oswaldo Cruz para investigar anemia e aumento do volume abdominal. Sua genitora referiu que percebeu um 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 na gestação após procedimento de inseminação artificial bem-sucedido. Não havia histórico 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 hemiabdomene e ultrapassava a linha média, e adenomegalia de 4 cm na região cervical esquerda sem sinais flogísticos. Para investigação da doença, foram solicitados exames laboratoriais. O hemograma evidenciou anemia grave, plaquetopenia, linfocitose com atipia linfocitária e velocidade de eritrossedimentação elevada (Hb: 6,6 g/dL; Ht: 23,8%; VCM: 75,1; leucócitos: 5.600 p/mm³; plaquetas: 91.000/mm³). À exceção da elevação da vitamina B12 (2.000 pg/ml), outros exames bioquímicos não mostraram alterações significativas. O coproparasitológico e sumário de urina não apresentaram anormalidades. O protidograma mostrou hipergamaglobulinemia com Ig G-3137 mg/dl. Pesquisa de crioaglutininas, teste de *Coombs* e FAN deram negativos. O teste de PPD (mantoux) foi não reativo. Obtiveram-se sorologias negativas para EBV, CMV, HAV, HBV e toxoplasmose. A tomografia computadorizada do abdome superior confirmou esplenomegalia homogênea (Figura 1) e a do tórax não mostrou anormalidades. A ultrassonografia da região cervical tinha padrão de linfadenite cervical inespecífica.

A punção aspirativa e a biópsia de medula óssea apontaram hiperplasia da série mieloide com eosinofilia, discretos sinais de megaloblastose e histiócitos com hemofagocitose. Não havia parasitos ou infiltração maligna metastática. A conclusão foi de medula óssea reativa. A imunofenotipagem pela citometria de fluxo do sangue periférico mostrou que 10% de linfócitos 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+), polimorfos e número elevado de figuras de mitose. Muitas delas não tinham expressão de CD4 ou CD8, cuja análise imunohistoquímica apresentou 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 LMS mostrando hepatoesplenomegalia: F) fígado; R) rins; B) baço.

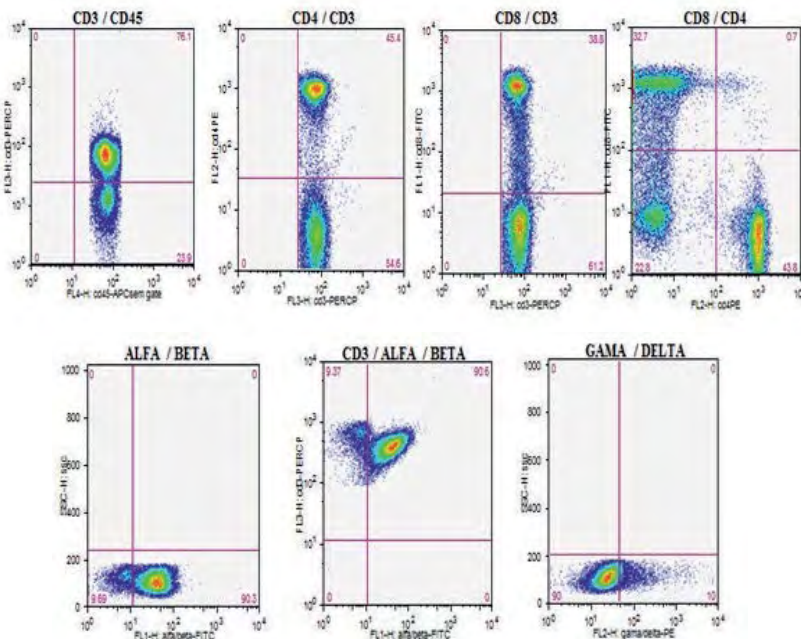


Figura 2. Histogramas da imunofenotipagem de sangue periférico, mostrando população de linfócitos CD3+/CD4-/CD8-.

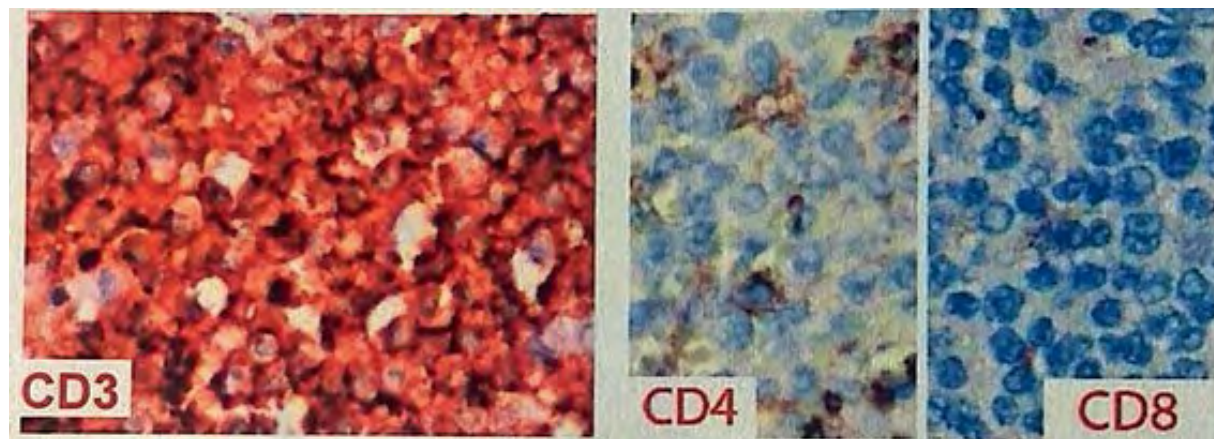


Figura 3. Imunohistoquímica de linfonodo mostrando linfócitos CD3+/CD4-/CD8-.

Os estudos citogenéticos pelo bandeamento G mostraram cariótipo normal, 46,XX, e a técnica de FISH não detectou monossomia⁷. 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 com ALPS e iniciou tratamento com doses altas de corticosteroide por três meses. Houve regressão da esplenomegalia e estabilização da anemia e, depois, redução lenta da medicação. Devido à dificuldade da aquisição de outros imunossupressores, a paciente vem sendo tratada com doses baixas (2,5 mg) de prednisolona. Hoje, a criança está com cinco anos de idade, clinicamente estável com acompanhamento clínico e realizando exames periódicos para monitoramento da doença.

COMENTÁRIOS

A ALPS foi descrita inicialmente em 1967 e considerada uma doença da homeostasia linfocitária causada por defeitos na via apoptótica dos genes FAS/CD95. Diferentes tipos de mutações genéticas têm sido descritos e podem ser classificados nos subtipos Ia e Ib com mutação somática, cuja proteína mutada é a FAS, a qual está envolvida na apoptose, no receptor linfocitário maior. O subtipo Ib atinge o ligante FAS; o tipo II acomete a caspase-10, caspase-8 e a protease intracelular da cascata apoptótica. A proteína do tipo III ainda é desconhecida⁹.

Os pacientes com ALPS têm linfocitose de células T e B, que pode atingir cinco vezes o valor normal. Tipicamente, há um aumento das células

T (TCR α/β + CD4- CD8-), que no geral são uma proporção inferior a 1% no sangue periférico, mas, nesses pacientes, podem variar de 5% a 40%. Essas células expressam CD45RA+, CD45RO- e CD57+, assim como HLA-DR10, achados encontrados em nossa paciente.

Embora a linfoproliferação seja inicialmente benigna, cerca de 10% dos pacientes com ALPS do tipo Ia desenvolvem linfoma de células B. Nesses casos, o risco de linfoma de Hodgkin e não Hodgkin é de aproximadamente 50 vezes maior. Assim, justifica-se a importância de um seguimento ambulatorial constante para acompanhar esses pacientes ao longo de toda a vida. O progresso de um doente com ALPS varia, mas frequentemente melhora ao longo dos anos, com média de vida se sobrepondo à da população normal. A recorrência dos episódios autoimunes e a sua gravidade reduzem com a idade e uma resposta adequada à terapêutica pode sugerir boa evolução.

A ALPS é pouco conhecida, com cerca de 300 casos relatados na literatura⁹, no entanto é um diagnóstico importante. Ela se diferencia de outros distúrbios de imunodeficiência 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 de sexo ou raça^{9,10}. A paciente descrita neste caso, uma lactente com cinco meses, teve os achados clínicos e laboratoriais compatíveis com a ALPS, tais como anemia hemolítica autoimune, linfadenomegalia, esplenomegalia, hipergamaglobulinemia, elevação exagerada da vitamina B12 e uma população anormal de células T TCR $\alpha\beta$ +, CD3+/CD4-/CD8-. Em virtude de manifestações similares a outras doenças pediátricas, como distúrbios linfoproliferativos, Leucemia Mielomonocítica Juvenil/Monossomia do 7, distúrbios autoimunes, doenças de depósito e doenças infecciosas como leishmaniose visceral (calazar), foi necessária a 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, por meio de exames laboratoriais para anemia autoimune, dosagem da gamaglobulina, vitamina B12, imunofenotipagem pela citometria de fluxo para pesquisar a expansão de células DNT (> 1%) e

pesquisa das mutações do gene FAS.

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, Badiee 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.