

# *Linfo-histiocitose hemofagocítica: tratamento com plasmaferese e gamaglobulina endovenosa*

## *Haemophagocytic lymphohistiocytosis: treatment with plasmapheresis and intravenous immunoglobulin*

Mariana Jobim<sup>1</sup>, Eliana Trotta<sup>2</sup>, Otávio Pilcher<sup>3</sup>, Flavo Beno Fernandes<sup>4</sup>, Liane Daut<sup>5</sup>, Luiz Fernando Jobim<sup>6</sup>

### RESUMO

O presente relato de caso tem como finalidade chamar a atenção de doença grave que frequentemente é confundida com septicemia, no entanto o mecanismo etiológico é decorrente de defeitos genéticos ou associados à resposta imunológica exagerada, decorrente de ação citotóxica de linfócitos T CD8 e histiócitos, acarretando proliferação clonal e ativação de células "natural killer" (NK). Uma tempestade de linfocinas acontece e como consequência é iniciada uma incontrolável hemofagocitose de todos os elementos sanguíneos, terminando pela infecção secundária do organismo por ausência de destruição de patógenos. A maioria dos casos termina pela morte do paciente; no entanto, relatamos nesse caso a possibilidade de incluirmos a plasmaferese como forma de retirar as linfocinas circulantes, razão do estímulo à destruição celular. O tratamento concomitante com alta dose de imunoglobulina endovenosa também foi realizado.

UNITERMOS: Citocinas, Linfocinas, Linfo-Histiocitose Hemofagocítica, Plasmaferese, Perforina.

### ABSTRACT

*The purpose of the present case report is to call attention to a serious disease that is often mistaken with septicemia, although its etiological mechanism results from genetic defects or is associated with an immune over-reaction, resulting from cytotoxic action of CD8 T lymphocytes and histiocytes, causing clonal proliferation and activation of "natural killer" (NK) cells. There occurs a storm of lymphokines and, as a consequence, an uncontrollable hemophagocytosis of all blood elements, which leads to secondary infection of the organism because of absence of pathogens destruction. Although most of the cases end up in death, in this case we report the possibility of including plasmapheresis as a way to remove the circulating lymphokines, the reason for stimulation of cell destruction. Co-treatment with high dose of intravenous immunoglobulin was performed too.*

KEYWORDS: *Cytokines, Hemophagocytic Lymphohistiocytosis, Lymphohistiocytosis, Plasmapheresis, Perforin.*

### INTRODUÇÃO

A linfo-histiocitose hemofagocítica (HLH) é uma doença grave e frequentemente confundida com septicemia, devendo ser considerada em casos de disfunção de múltiplos órgãos, quando existir esplenomegalia, citopenia, hepatoesplenomegalia e hemofagocitose. A mortalidade chega a 50% e a incidência é de um caso em 50.000 nascimentos, sem predominância de sexo (1).

A "HLH primária" está relacionada com defeitos genéticos subjacentes e a "HLH secundária" associada com doen-

ças virais, autoimunes ou neoplasias. Entretanto, mutações genéticas podem estar presentes em ambas as situações e com a mesma apresentação clínica (2, 3).

A hemofagocitose é um achado importante, existindo macrófagos engolfando eritrócitos, leucócitos, plaquetas e precursores. Diversos órgãos são acometidos, além da medula óssea. A Sociedade de Histiocitose (SH) sugere que pelo menos cinco dos oito itens existam no diagnóstico (4, 5):

- Febre
- Esplenomegalia

<sup>1</sup> Mestre em Clínica Médica pela UFRGS. Médica do Serviço de Imunologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>2</sup> Mestre em Pediatria. Profa. Adjunta de Pediatria da Faculdade de Medicina da UFRGS, Chefe da UTI Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>3</sup> Doutor em Otorrinolaringologia. Médico do Serviço de Otorrinolaringologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>4</sup> Especialista em Hematologia e Patologia Clínica. Médico do Serviço de Patologia Clínica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>5</sup> Doutora em Pediatria pela UFRGS. Chefe do Serviço de Hematologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

<sup>6</sup> Doutor. Professor Associado de Medicina Interna da Faculdade de Medicina da UFRGS, Chefe do Serviço de Imunologia do HCPA, Prof. do Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Fundação Universitária de Cardiologia.

- Bicitopenia
- Aumento de triglicérides e/ou hipofibrinogenemia
- Hemofagocitose
- Atividade das células NK ausente ou diminuída
- Hiperferritinemia (>500 ug/l)
- Aumento de níveis de CD25 solúvel (> 2.400 U/ml)

## REVISÃO DA LITERATURA

A forma primária tem herança autossômica ou ligada ao X, podendo ser familiar (FHLH), onde a síndrome HLH é a única manifestação (6); ou associada com imunodeficiências, como as síndromes de Chédiak-Higashi, Gricelli e linfoproliferativa ligada ao X. Essas se apresentam de forma distinta, mas com frequente desenvolvimento de HLH. A FHLH acontece no primeiro ano de idade em 70-80% dos casos, entretanto casos são diagnosticados até a idade adulta (7).

A HLH secundária pode ser encontrada em qualquer faixa etária (2), associada a infecções virais, fúngicas, bacterianas e parasitárias (7, 8, 9).

Entre as doenças autoimunes a HLH foi encontrada no lúpus eritematoso sistêmico (LES), artrite reumatoide, poliarterite nodosa, síndrome de Sjogren, esclerose sistêmica e doença de Kawasaki (10, 11).

Entre os tumores, encontramos a HLH, particularmente nos linfomas de células T, de células B e Hodgkin em adultos. Interessantes são os casos japoneses, onde o genoma do vírus EBV está presente em 80% dos linfomas de célula T/NK e não nos linfomas B (11).

## Mecanismos imunopatológicos

A HLH acontece por uma incontável ação de resposta TH1 ativada por agente infeccioso, paralelamente à função citotóxica defeituosa. Tudo inicia com a ativação incontável de linfócitos T CD8+ e histiócitos com estímulo à proliferação clonal e ativação das células NK, com grande produção de citocinas ativadoras, o que autores elegantemente denominaram de “tempestade de citocinas” (12). Entre elas encontramos:

- Fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ )
- Interferon gama (IFN- $\gamma$ )
- Interleucinas (IL) IL-1 $\beta$ , 6, 10, 12, 16 e 18
- Receptor solúvel da IL-2 (CD25)

O TNF- $\alpha$  e o IFN- $\gamma$  contribuem para ativação de macrófagos, resultando em hemofagocitose. A febre é causada pela infecção e produção de TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ . A citopenia é resultado da hemofagocitose e da depressão da hematopoiese pelo IFN- $\gamma$ , TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ . A TNF- $\alpha$  inibe a lipase de lipoproteínas, com consequente aumento de triglicérides.

Os macrófagos ativados secretam ferritina e também o ativador de plasminogênio, resultando em aumento da plasmina e hiperfibrinólise (7). Os linfócitos ativados são responsáveis pelas cadeias  $\alpha$  do receptor solúvel da IL-2 ou CD25. A IL-6 também contribui para febre e insuficiência renal, enquanto a IL-12 produzida pelos macrófagos estimula às células NK, retroalimentando o sistema, num ciclo vicioso que sem intervenção leva à morte. A coagulação intravascular disseminada pode ocorrer devido a concentrações elevadas de TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ .

A atividade das células NK pode normalizar após remissão. Crianças abaixo de dois anos com HLH e deficiência ou diminuição das células NK apresentam acometimento do sistema nervoso central, necessitando de transplante de medula óssea (TMO) (12).

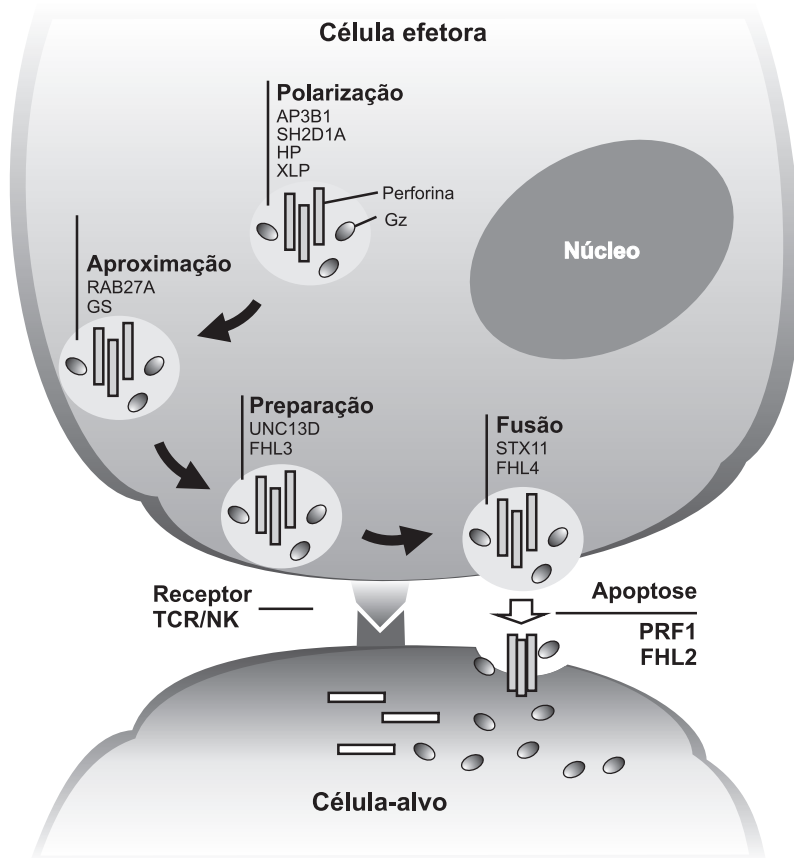
A HLH está também relacionada com diminuição ou falta de liberação de grânulos de perforinas e granzimas (proteínas formadoras de poros) pelas células NK e linfócitos T, repercutindo na defesa por citotoxicidade. A origem é genética, entretanto a capacidade de produção de linfocinas continua sem alteração. Dessa maneira, identificamos o estímulo na produção de linfocinas e a paradoxal falta de citotoxicidade. A SH indica os sinais clínicos mais importantes: febre (91%), esplenomegalia (84%), sintomas neurológicos (47%), manifestações cutâneas (43%), linfadenopatia (42%). Informa que devemos valorizar a alta concentração de ferritina, pois níveis maiores de 500 ug/litro são dificilmente encontrados fora da HLH (5).

## Defeitos genéticos no processo citolítico

O citólise por parte de linfócitos T e células NK envolvem a ativação dessas células, finalizando pela movimentação intracelular dos grânulos líticos que se aproximam da sinapse imunológica, fusionam-se com a membrana celular das células-alvo, liberam perforinas e granzimas, ocasionando a morte celular (Figura 1).

A HLH está associada à falta de liberação de grânulos citolíticos, sendo que a HLH familiar está associada a defeitos em genes de importância na citólise, incluindo os FHL1, 2, 3 e 4 (9q21, 10q22, 17q25 e 6q24). Três desses foram clonados como o *PRF1* (FHL2), que codifica a perforina, ou proteína formadora de poros dos grânulos líticos dos linfócitos T e células NK; o *UNC13D* (FHL3) e o *STX11* (FHL4), os quais codificam as proteínas MUNC13-4 e sintaxina 11. O *UNC13D* que codifica Munc13-4 é provavelmente responsável pela embalagem, conexão e fusão dos grânulos com a membrana, devendo-se ligar à *rab27a* para permitir a fusão com a membrana plasmática. Suspeita-se que a dificuldade citolítica das células NK e linfócitos T sejam o ponto central do desenvolvimento da doença.

Na síndrome de Gricelli (GS), os grânulos polarizam, mas não alcançam a membrana plasmática, resultado de



**FIGURA 1** – Citólise de células-alvo por linfócitos T e células NK – A ativação das células efetoras em situações normais permite a morte das células-alvo pela liberação de perforinas e granzimas. Na HLH existem defeitos nesse processo, permitindo que as células efetoras continuem sendo estimuladas, produzindo linfocinas, ao mesmo tempo que são impedidas de destruir as células-alvo infectadas. Esse processo termina por um estímulo exagerado que estimula a hemofagocitose com suas consequências.

mutação no gene *rab27a*, responsável pela proteína que controla a secreção dos grânulos.

Os grânulos nos casos que alcançam a membrana fundem-se com essa antes de liberação na sinapse lítica. Esse processo está defeituoso em pacientes com FHL3 e FHL4, respectivamente. Na FHL2, as células T e NK não apresentam perforinas efetivas e não destroem as células-alvo, embora apresentem o mecanismo de exocitose funcionando (13). Na FHL4, detectou-se que a syntaxina 11, um membro da N-etilmaleimida, fator importante na fixação dos receptores da proteína presentes na membrana-alvo são expressos nas células T e NK, mas falham na degranulação quando expostas às células-alvo (14).

### Tratamento

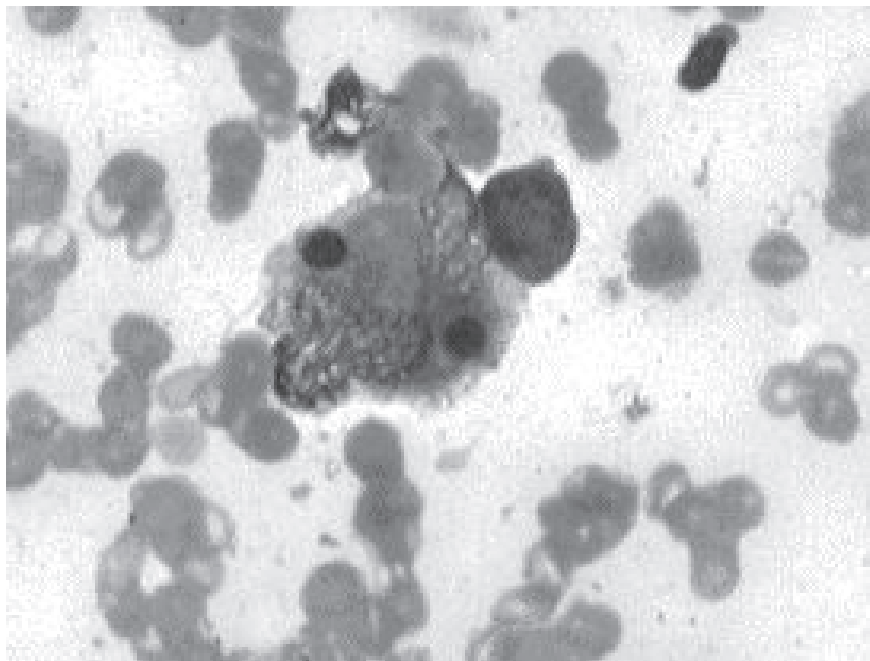
No passado, menos de 10% dos pacientes sobreviviam. O protocolo HLH-94 da SH inclui a indução com dexametasona e etoposídeo, seguido de ciclosporina e pulsos de dexametasona e etoposídeo. Pacientes com manifestações neurológicas devem também receber metrotrexate intratecal. Os pacientes com doença resistente ou recorrente ou FHLH devem ser preparados para transplante de medula óssea (TMO). A sobrevida foi estimada em 55% para três anos.

Em 2004, o protocolo recebeu modificações, como o início imediato de ciclosporina, a adição de corticosteroides na terapia intratecal em pacientes com sintomas neurológicos e de etoposídeo no condicionamento de pacientes submetidos ao TMO (5).

### APRESENTAÇÃO DE CASO CLÍNICO

Um menino caucasóide de cinco anos foi admitido na UTI pediátrica de nosso hospital com febre alta, dor abdominal e diarreia. O hemograma revelou 3.700 leucócitos/ $\mu$ l, com 87% de linfócitos. Seguiu-se quadro de enterorragia grave, icterícia, hepato-esplenomegalia, anemia e leucopenia (340 leucócitos/ $\mu$ l de sangue). A biópsia de medula revelou plasmocitose, presença de megacariócitos, histiócitos, hemosiderose e hemofagocitose (Figura 2). A colonoscopia revelou ileíte terminal e colite ulcerada inespecífica. Epstein-Barr foi fracamente positiva (PCR). No mês anterior tinha sido operado de apendicite aguda e se recuperado de amigdalite.

A tomografia dos seios da face revelou pansinusite. Foi iniciado esquema antimicrobiano amplo, incluindo cobertura para fungos e citomegalovírus. Iniciado corticosteroide, pela hipótese de doença inflamatória intestinal. Endos-



**FIGURA 2** – Hemofagocitose – O estímulo exagerado de linfocinas culmina com a fagocitose de outras células sanguíneas, como eritrócitos, plaquetas e leucócitos.

copia nasossinusal com biópsia e cultura revelou aspergilose invasiva. Foi ampliada cobertura antifúngica e realizado debridamento cirúrgico endonasal extenso. Após uma semana, sorologia positiva para Epstein-Barr (IgM), ferritina >2.000 ug/L, triglicéridos de 400 mg/dL, plaquetas 40.000/uL, beta-2 microglobulina de 7.000 ng/ml, GGT de 751 U/L.

Iniciou-se ciclosporina, em doses baixas, por seis dias e filgastrima. Após cinco dias de quadro febril, foram trocados os antimicrobianos e acrescentado ao esquema um terceiro antifúngico, assim como nebulizações com anfotericina. As hemoculturas coletadas nessa época foram negativas. Vinte dias após a tomografia de crânio, ocorreu piora da infiltração fúngica, com comprometimento também da face e vestíbulo nasal à esquerda, removidos em bloco com cultura negativa, inclusive para fungos (Figura 3). Três semanas após a internação o quadro era dramático, tendo sido suspensa a imunossupressão e iniciada plasmaferese de duas volemias com infusão de imunoglobulinas em alta dose (um grama/kg/semana). Foram usados em fases diferentes: anfotericina lipossomal, voriconazol, caspofungina, itraconazol.

O paciente evoluiu favoravelmente, sem necessidade de novas cirurgias. Os medicamentos antifúngicos foram suspensos, ficando itraconazol por dois meses. Recebeu alta e está assintomático há quatro anos.

## DISCUSSÃO

A plasmaferese é usada para eliminar da circulação elementos indesejáveis, como autoanticorpos ou anticorpos anti-HLA em receptores de transplante renal.

Um caso de sucesso aconteceu no tratamento de paniculite histiocítica citofágica, que é uma forma HLH relacionada ao linfoma de células T. O paciente apresentava pancreatite aguda, sendo que a plasmaferese diminuiu dramaticamente os triglicérides e a HLH (15). Outro caso semelhante foi descrito em adulto com HLH secundária ao EBV, tendo sido internado com febre alta, disfunção renal e hepática, além de trombocitopenia e coagulação intravascular disseminada. Foi tratado com pulsoterapia com esteroides e plasmaferese (dupla filtração), obtendo sucesso (16).

Nossa experiência permite a convicção de que a plasmaferese foi fundamental na recuperação, embora não faça parte das condutas terapêuticas habituais.

## COMENTÁRIOS FINAIS

A HLH é doença pouco diagnosticada, devendo ser questionada em septicemias com febre alta, citopenia e esplenomegalia. Desejamos chamar a atenção para o tratamento com plasmaferese, que já se mostrou efetivo em outros relatos. Nesse caso foi o que aconteceu com a retirada das citocinas circulantes, introdução de plasma fresco e uso de imunoglobulina endovenosa em alta concentração.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Henter JI, Elinder G, Pende D, Moretta L. Incidence in Suecia and clinical features of familial hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Acta Paediatr Scand.* 1991; 80:428-435.



**FIGURA 3** – Sinusite fúngica por aspergilose invasiva – Resultado de cirurgia de remoção de tecidos e ossos necrosados previamente ao uso de plasmaferese e imunoglobulina endovenosa.

2. Risdall RJ, Mackenna RW, Nesbit ME. Virus associated hemophagocytic syndrome: a benign histiocytic proliferation distinct from malignant histiocytosis. *Cancer*. 1979; 44:993-1002.
3. Gauvin F, Toledano B, Champagne J, Lacroix. Reactive hemophagocytic syndrome presenting as a component of multiple organ dysfunction syndrome. *J. Crit Care Med*. 2000; 28:3341-3345.
4. Henter JI, Elinder G, ost A. Diagnostic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. The FHL study group of the Histiocytic Society. *Semin Oncol*. 1991; 18:29-33.
5. Henter JI, Horne A, Arico M. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*. 2007; 48:124-131.
6. Allen M, Fusco C, Legrand F. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Haematologica*. 2001; 86:499-503.
7. Janka G. Hemofagocytic syndromes. *Blood Reviews* 2007; 21:245-253.
8. Chuang HC, Lay JD, Hsieh WC, Su IJ. Pathogenesis and mechanism of disease progression from hemophagocytic lymphohistiocytosis to Epstein-Barr virus-associated T-cell lymphoma: nuclear factor-kappa B pathway as a potential therapeutic target. *Cancer Sci* 2007; 98: 1281-1287.
9. Danish EH, Dahlms BB; Kumar ML. Cytomegalovirus-associated hemophagocytic syndrome. 1985; *Pediatrics* 75:280-283.
10. Arlet JB, Le TH, Marinho A, Amoura Z, Weschler B, Papo T. Reactive haemophagocytic syndrome in adult-onset Still's disease: a report of six patients and a review of the literature. *Ann Rheum Dis. J Pediatr* 2006; 148(5): 683-686.
11. Allen CA, MacClain K. Hemophagocytic lymphohistiocytosis. 2008. *Symposium: Oncology; Paediatrics and Child Health*, 18:3-8.
12. Créput C, Galicier L, Buyse S, Azoulay E. Understanding organ dysfunction in hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Intensive Care Med*. 2008; 34:1177-87.
13. Filipovich A H. Hemophagocytic lymphohistiocytosis and other hemophagocytic disorders. *Immunol Allergy Clin N Am*. 2008; 28:293-313.
14. Bryceson Y, Rudd E, Edner CJ, Ma D, Wood D, Bechensteen AG, Boelens JJ, Celkan T, Farah, Hultenby K, Ljunggren HG. Defective cytotoxic lymphocyte degranulation in syntaxin-11-deficient familial hemophagocytic lymphohistiocytosis 4 (FHL4) patients. 2007; *Blood*. 110:1906-1915
15. Coman T, Dalloz MA, Coolen N, Heshmati F, Pene F, Cariou A, Claessens YE. Plasmapheresis for the treatment of acute pancreatitis induced by hemophagocytic syndrome related to hypertriglyceridemia. *J. Clin Apher*. 2003, 18 (3):129-131.
16. Kodama K, Kuno H, Koide M, Matsuo T. Virus-associated haemophagocytic syndrome responsive to steroid pulse therapy and double filtration plasmapheresis. *Clinical and laboratory haematology*. 2000; 22:(3)179-181.

✉ Endereço para correspondência:

**Mariana Jobim**  
 Rua Ramiro Barcelos, 2350  
 90035-903 – Porto Alegre, RS – Brasil  
 ☎ (51) 3359-8308  
 ✉ mjobim@hcpa.ufrgs.br

Recebido: 3/5/2009 – Aprovado: 21/5/2009