

LEUCEMIA/LINFOMA AGRESSIVO DE CÉLULAS NK/T

Jamira SOUSA, Lourdes CABEZUELO, Sérgio ALMEIDA, Carlos FILIPE, Adélia SIMÃO, Armando Carvalho, J.M. Nascimento Costa

RESUMO

Os Autores apresentam um caso invulgar de um homem de 36 anos que se apresentou com febre, astenia, anorexia e icterícia associados a hepatoesplenomegalia, com uma rápida evolução para falência multi-orgânica, cuja investigação mostrou tratar-se de uma leucemia agressiva de células NK, associada ao vírus de Epstein-Barr (EBV).

O diagnóstico, sugerido pela clínica e pela imunofenotipagem das células da medula óssea, foi confirmado através das características morfológicas e imunohistoquímicas dos fragmentos de biopsia hepática e esplénica, obtidos pós-mortem. As células tumorais mostraram-se positivas para o CD3 e para as moléculas citotóxicas TIA, granzima B e perforina.

Por se tratar de uma doença rara e recentemente reconhecida como uma entidade nosológica, o seu diagnóstico atempado é difícil, pelo que se sublinha a necessidade de perante doentes com quadro clínico idêntico ao descrito, mesmo na ausência de adenomegalias ou de massa tumoral identificável, se dever excluir uma neoplasia de células Natural Killer (NK).

SUMMARY

AGGRESSIVE NK/T CELL LEUKEMIA/LYMPHOMA ASSOCIATED WITH EBV

The authors describe an unusual case of a young man presenting with fever, asthenia, anorexia and jaundice, associated to hepatosplenomegaly, evolving rapidly to multiorgan failure. Final diagnosis revealed an aggressive NK cell leukemia/lymphoma associated to the Epstein-Barr virus (EBV). The diagnosis, suggested clinically and after bone marrow immunophenotyping, was confirmed by morphologic and immunohistochemical findings on the post-mortem hepatic and splenic biopsy. The tumor cells were positive for CD3 and cytotoxic molecules, TIA, granzyme B and perforin.

The herein reported case is a rare clinical entity, only recently recognized and with a difficult early diagnosis. We emphasize the necessity to exclude a Natural Killer cell malignancy in cases with identical characteristics

J.S., L.C., S.A., C.F., A.S., A.C., J.N.C.: Serviço de Medicina Interna. Hospitais da Universidade de Coimbra. Coimbra Portugal

INTRODUÇÃO

As células NK representam 10% dos linfócitos do sangue periférico e formam o maior componente do sistema imunológico inato. Desempenham uma importante actividade citotóxica inespecífica contra células tumorais e células infectadas, quer por bactérias quer por vírus, tendo sido por isso designadas por Natural Killer^{1,2}. Tipicamente exibem a morfologia de grandes linfócitos granulares³.

As neoplasias de células NK são muito raras, sendo responsáveis por menos de 5% de todas as doenças malignas linfóides⁴ e constituem-se como um grupo heterogéneo, com grande variabilidade na apresentação clínica, morfológica e imunofenotípica⁴. A leucemia/linfoma agressivo de células NK representa umas das quatro entidades pertencentes a este grupo, segundo a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS). É definida como uma proliferação sistémica de células neoplásicas, quase sempre associada ao vírus de Epstein-Barr (EBV), com uma evolução clínica rapidamente progressiva e frequentemente complicada por falência multi-orgânica, coagulopatia e síndrome hemofagocítica^{3-5 6}.

O diagnóstico é geralmente difícil, devido à presença de sintomas inespecíficos e o prognóstico é mau na maioria dos casos. O caso que descrevemos, que se apresentou como síndrome febril arrastada com envolvimento hepático e medular, ilustra bem essa dificuldade.

CASO CLÍNICO

Em Maio de 2007 um homem de 36 anos, de raça branca, militar, natural e residente em Ameal, foi internado por febre, hepatoesplenomegalia e pancitopenia.

O quadro clínico tinha tido início dois meses antes, com cefaleias, mialgias generalizadas, febre alta de predomínio vespertino, tosse seca, sudorese nocturna, anorexia e astenia marcada. O exame físico realizado nessa altura era normal, tendo sido encontrada, nessa mesma altura, uma pancitopenia ligeira: hemoglobina 11,4 g/dl, volume corpuscular médio 89 fl, leucócitos $3,4 \times 10^3 \mu\text{l}$, plaquetas $137 \times 10^3/\mu\text{l}$. Os parâmetros bioquímicos eram normais. A radiografia do tórax mostrava um espessamento das paredes brônquicas a nível da base pulmonar direita. Foi medicado, sucessiva e empiricamente, com vários antibióticos, não se tendo verificado qualquer melhoria.

Por agravamento do seu estado clínico foi então referenciado ao Serviço de Urgência dos HUC (Hospitais da Universidade de Coimbra).

Dos antecedentes pessoais destacava-se hemitiroidectomia direita com istmectomia, realizada em Novembro de 2006 por carcinoma papilar da tiróide (T1NxMx). Negava consumo de álcool e hábitos tabágicos, toxicod dependência, promiscuidade sexual. Não havia registo de viagens ao estrangeiro, tinha contacto esporádico com animais (cavalos,

cães e ratos). Os antecedentes familiares eram irrelevantes. À entrada apresentava-se bastante debilitado, febril, icterico, com hepatomegalia ligeira e esplenomegalia (2 cm abaixo do rebordo costal), sem adenomegalias periféricas. Do estudo analítico inicial destacavam-se as alterações da enzimologia hepática, com padrão colestatico: alanina aminotransferase (ALT) 191 U/l, aspartato aminotransferase (AST) 300 U/l, γ -glutamiltanspeptidase (γ -GT) 117 U/l, fosfatase alcalina (FA) 708 U/l, bilirrubina total 15.1 mg/dl, lactato desidrogenase (LDH) 1776 U/L, albumina 2.8 g/dl. O hemograma revelava um agravamento da pancitopenia: Hb 9,0 g/dl, VGM 86.5 fl, leucócitos $2,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ (Neutrófilos 1625, linfócitos 675) e plaquetas $66 \times 10^3 \mu\text{L}$. O estudo da coagulação revelou INR de 1,55. A velocidade de sedimentação era de 33 mm na 1ª hora, a proteína C reactiva de 14,1 mg/dl e a ferritinemia de 11.255 ng/ml. A ecografia abdominal mostrou hepatomegalia, sem nódulos identificáveis e esplenomegalia homogénea (15,7 cm), ausência de ascite e de adenopatias abdominais.

Uma investigação laboratorial foi então levada a cabo. As hemoculturas, uroculturas e exame microbiológico da expectoração foram negativas. As serologias para Leishmania, Leptospira, Listeria, Borrelia, Coxiella, Rickettsia, Clamydia, Micoplasma, Citomegalovirus, Epstein-Barr, Toxoplasma, Hantavirus, Arbovirus, HIV 1 e 2, VHB e VHC foram negativas. Efetuou TAC toracoabdominal que revelou derrame pleural bilateral de moderado volume e algumas áreas de densificação, tipo vidro despolido, no lobo superior do pulmão esquerdo; hepatomegalia homogénea, sem nódulos identificáveis; esplenomegalia homogénea (182 x 145 x 97 mm); vesícula biliar com acentuado espessamento parietal, sendo o lúmen praticamente virtual; ausência de adenomegalias torácicas ou abdominais. O ecocardiograma não mostrou sinais sugestivos de endocardite. O medulograma evidenciou fragmentos hiperclulares, com cerca de 15% de células monocitóides com granulações grosseiras, citoplasma distendido e pseudópodes, com imagens de fagocitose de eritroblastos; não se observaram formas de Leishmania. A biopsia medular óssea revelou uma medula hiperclular com características reactivas, registando-se, em praticamente todos os espaços medulares, a presença de células histiocitárias de citoplasma claro e amplo, com inclusões citoplasmáticas, descritas como sendo compatíveis como microorganismo do tipo Leishmania. Foi realizada a imunofenotipagem da medula por citometria de fluxo, tendo-se detectado 6% de células NK de elevado tamanho, CD3 negativo, CD4 positivo, CD56 positivo fraco, e com fenótipo citotóxico (granzima B e perforina positivos)

O doente mantinha-se febril e assistia-se a uma progressiva deterioração do seu estado clínico e analítico, com agravamento da insuficiência hepática, acentuação da colestase, da anemia e da trombocitopenia. Foram suspensos os antibióticos em curso e colocada a hipótese de doença

linfoproliferativa de células NK, com envolvimento hepatoesplênico; iniciou terapêutica com metilprednisolona, 80mg 8/8 horas. Não foi realizada a biopsia hepática percutânea, pelas alterações da coagulação e a via transjugular não foi possível.

Ao 7º dia de internamento apresentava um quadro de falência multiorgânica com insuficiência renal aguda não oligúrica, hiponatremia, insuficiência hepática, coagulação intravascular disseminada e insuficiência respiratória aguda. Ao exame objectivo eram evidentes petéquias generalizadas, epistaxis e gengivorragias. Nessa altura apresentava hemoglobina de 7,9 g/dl, leucócitos de $10,1 \times 10^3/\mu\text{L}$, plaquetas de $37 \times 10^3/\mu\text{L}$, INR de 2.60, APTT 84,6'' (controlo = 29.5), D-dímeros 13,06 $\mu\text{g/ml}$ (normal: $<0.60 \mu\text{g/ml}$), fibrinogénio 0,6 g/L, albumina 2,1 g/dl, AST 764 U/L, ALT 80 U/L, bilirrubina total 28,4 mg/dl e LDH 15634 U/L. Foram administrados concentrados de eritrócitos, fibrinogénio, plasma fresco, plaquetas e oxigénio em doses elevadas.

Ao 10º dia de internamento foi transferido para o Serviço de Medicina Intensiva (SMI) dada a progressiva deterioração do quadro clínico, com necessidade de ventilação mecânica. Foi submetido a diálise contínua, manteve terapêutica com metilprednisolona continuando a necessitar, diariamente, de hemoderivados. Catorze dias depois, estabilizadas a função renal e respiratória, o doente voltou para o Serviço de Medicina Interna, ainda sem diagnóstico definitivo. Horas depois desenvolveu um quadro compatível com choque séptico, com ARDS, sendo re-internado no SMI, onde veio a falecer 12 dias depois.

A autópsia anatomo-patológica revelou infiltração tumoral, não só a nível hepático e esplênico mas também, a nível da medula óssea

Foi solicitado o apoio do Pathologisches Institut da Universidade de Würzburg-Alemanha para análise dos fragmentos de tecido hepático e esplênico do que resultou a seguinte informação complementar: preservação da arquitectura básica do fígado, enquanto que o parênquima esplênico se mostrava bastante alterado e parcialmente necrótico. Os sinusóides hepáticos e as polpas vermelha e branca esplênicas estavam infiltradas por células atípicas de tamanho médio, com citoplasma condensado e cromatina irregular, por vezes com nucléolos (Figura 1). Na caracterização imunohistoquímica as células mostraram-se positivas para o CD3, moléculas citotóxicas, TIA1, granzima B e perforina, e negativas para o CD2, CD5, CD4, CD8, ALK1, CD30, BF1, CD20 e CD68 (figura 2). A hibridação-EBER foi positiva em todas as células tumorais.

Assim, combinando a clínica com as características morfológicas e imunohistoquímicas acima descritas, concluímos pelo diagnóstico de uma leucemia agressiva de células NK, associada ao EBV.

DISCUSSÃO

A leucemia/linfoma agressivo de células NK é uma forma muito rara de leucemia, descrita primeiramente por Fernandes et al em 1986, que afecta predominantemente os Asiáticos^{7,8}. Os doentes são tipicamente jovens e adultos na terceira década de vida, sendo a incidência igual nos dois sexos^{9,10}. O nosso doente era um homem de 36 anos, de raça branca, portanto fora dos grupos étnicos mais habituais.

Esta doença caracteriza-se pela presença de células neoplásicas no sangue periférico, medula óssea, fígado e baço, embora qualquer órgão possa ser envolvido.

Tal como aconteceu no nosso caso, o EBV é encontrado nas células tumorais da maioria dos doentes, pelo que é considerado o agente etiológico, embora permaneça desconhecido o mecanismo exacto através do qual uma infecção por esse vírus desencadeia uma proliferação clonal de células NK³.

Geralmente os doentes apresentam-se muito debilitados, com febre e sintomas constitucionais⁴. Anemia, neutropenia, trombocitopenia e elevados níveis de LDH são as alterações laboratoriais mais frequentemente encontradas numa fase inicial da doença⁶. Foi o que aconteceu no nosso doente, que tinha valores de LDH e plaquetas de 1776 U/L e $66 \times 10^3 \mu\text{L}$, respectivamente, aquando da admissão. A disfunção hepática também é comum na apresentação, sendo a hepatoesplenomegalia, por vezes acompanhada de adenomegalias, a alteração mais frequente no exame físico. O envolvimento cutâneo, contrariamente ao que acontece nos linfomas de células NK/T extranodais, é muito raro.

A quantidade de células leucémicas em circulação varia desde uma pequena percentagem até mais de 80% do total de leucócitos e são ligeiramente maiores do que os grandes linfócitos granulares normais⁴⁻⁶. Apresentam um citoplasma amplo, pálido, ou ligeiramente basófilo, com grânulos azurófilos finos ou grosseiros. Os núcleos mostram-se aumentados, com uma distribuição irregular e aberta da cromatina, sendo os nucléolos distintos. O envolvimento da medula óssea pelas células neoplásicas pode ser discreto, focal ou intenso e é frequente observarem-se células histiocíticas reactivas com imagens de hemofagocitose⁶⁻¹¹. No exame da medula do nosso doente aquilo que foi descrito como sendo formas de Leishmania, provavelmente, corresponderia a células histiocíticas com restos celulares. Quando são analisados fragmentos de tecido hepático, esplênico, ou outros, a infiltração tumoral mostra-se difusa e destrutiva, sendo as células monótonas, com núcleos redondos ou irregulares, com cromatina condensada e pequenos nucléolos⁶⁻¹¹. Outros achados frequentes são necrose, apoptose, angioinvasão e angiodestruição⁶⁻¹². A caracterização imunohistoquímica das células tumorais constitui um elemento fundamental para o diagnóstico: são, geralmente, CD3-, CD56+, CD16+, CD57- e positivos para as moléculas citotóxicas⁴⁻⁶. No caso descrito o CD3

é negativo nas células NK por citometria de fluxo, sendo este um resultado muito fidedigno. A discrepância em relação ao CD3+ nos cortes histológicos deve-se provavelmente a autofluorescência. Algumas anomalias citogenéticas como a del (6) (q21-q25) e a del (11 q) têm sido descritas em doentes com leucemia/linfoma agressivo de células NK.¹³

A agressividade da doença exige rapidez de diagnóstico, o que é dificultado pela inespecificidade clínica mimetizando os mais diversos quadros, pela ausência de adenopatias, e pela variabilidade das alterações a nível da medula óssea. O nosso doente apresentava-se com síndrome febril arrastada, com envolvimento hepático e medular, que exigiram a exclusão de várias entidades, nomeadamente infeções bacterianas, parasitárias e virais, doenças do tecido conjuntivo, doenças auto-imunes e linfoproliferativas.

A maioria dos doentes, tal como aconteceu no caso que descrevemos, apresenta uma evolução clínica rapidamente progressiva, complicada pelo surgimento de falência multi-orgânica, coagulopatia e síndrome hemofagocítica. A sobrevivência média é inferior a dois meses¹⁰⁻¹³.

Quanto à terapêutica, as estratégias utilizadas têm-se revelado infrutíferas, com resposta à quimioterapia quase nula e recidiva esperada nos doentes em que a remissão ocorre, com ou sem transplante medular⁹.

CONCLUSÃO

A hipótese de neoplasia de células NK deve ser sempre equacionada numa fase precoce de situações semelhantes ao caso que apresentamos, principalmente em doentes jovens, sem adenopatias. A forma de apresentação da doença aqui descrita, com sintomas constitucionais, hepatoesplenomegália, icterícia, trombocitopenia, ou pancitopenia, não é sugestiva de nenhuma entidade em particular, tornando-se o diagnóstico diferencial difícil, exigindo um trabalho exaustivo e sistemático de exclusão de várias patologias. Também as alterações no exame da medula óssea, por serem inespecíficas, não contribuem significativamente para o diagnóstico.

AGRADECIMENTOS

- A H.K. Müller-Hermelink: Pathologisches Institut. Universität Würzburg, Würzburg. Alemanha

- A Lina Carvalho – Serviço de Anatomia Patológica. Hospitais da Universidade de Coimbra.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

REFERÊNCIAS

1. SPITS H, LANIER LL, PHILLIPS JH: Development of human T and natural killer cells. *Blood* 1995;85:2654-70
2. CALIGIURI M: Human natural killer cells. *Blood* 2008;112:461-9
3. OSHIMI K: Progress in understanding and managing natural killer cell-malignancies. *Br J Haematol* 2007;139:532-544
4. G.SEMANZATO, R. ZAMBELL: Natural killer cell disorders. *Hematol Education* 2009;3:294-301
5. LYANG X, GRAAM GK: Natural Killer cell neoplasms. *Cancer* 2008;112:1425-36
6. CHAN J.K.C, JAFFE E.S, RALFKIAE E, KO Y.H: WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and lymphoid Tissues, 4th Edition. 2008;276-277
7. FERNANDEZ LA, POPE B, LEE C, ZAYED E: Aggressive natural killer cell leukaemia in an adult with establishment of an NK line. *Blood* 1986;67:925-30
8. RUSKOVA A, THULA R, CHAN G: Aggressive Natural Killer-Cell Leukaemia: report of five cases and review of the literatures. *Leuk Lymphoma* 2004;45:2427-38
9. SUZUKI R, SUZUMIYA J, NAKAMURA S, AOKI S, OSHIMI K: Aggressive natural killer-cell leukaemia revisited: large granular lymphocyt leukaemia of cytotoxic NK cells. *Leukaemia* 2004;18:763-770
10. SONG SY, KIM WS, KO YH, PARK K: Aggressive natural killer cell leukaemia: clinical features and treatment outcom. *Haematologica* 2002;87:1343-5
11. SIU LLP, CHAN JKC, KWONG YL: Natural Killer cell malignancies: clinicopathologic and molecular features. *Histol Histopathol* 2002; 17:539-554.
12. MORI N, YAMASHITA Y, TSUZUKI T et al: Lymphomatous features of aggressive NK cell leukaemia/lymphoma with massive necrosis, haemophagocytosis and EBV virus infection. *Histopathology* 2000;37:363-71
13. RYDER J, WANG X, BAO L, IRONS RD: Aggressive natural killer cell leukaemia: report of a Chinese series and review of the literature. *Int J Hematol* 2007;85:18-25