

PROTEINOSE ALVEOLAR CONGÊNITA

SUSANA PISSARRA, GUSTAVO ROCHA, INÊS AZEVEDO, HERCÍLIA GUIMARÃES.
Serviços de Neonatologia e de Pediatria, Departamento de Pediatria. H. S. João. Porto.

RESUMO

A Proteinose Alveolar, entidade clínico-patológica rara, caracteriza-se pela acumulação, nos espaços alveolares, de fluído proteináceo, rico em lípidos, corado pelo *periodic acid Schiff* (PAS positivo) e resistente à diastase. Na sua etiopatogenia, ainda por esclarecer, poderão estar implicados o défice de proteína B do surfactante (SP-B) e alterações no receptor celular do factor de estimulação de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF).

Do ponto de vista clínico, na idade pediátrica, estão descritas duas formas, adquirida e congénita. Esta última, muito rara, apresenta-se no período neonatal com quadro de insuficiência respiratória rapidamente progressiva, que se instala nas primeiras horas de vida e é refractária à intervenção terapêutica. O diagnóstico definitivo baseia-se no exame histológico e imuno-histoquímico de tecido pulmonar obtido por biópsia. Os autores descrevem um caso de Proteinose Alveolar Congénita não associada a deficiência de SP-B.

Palavras Chave: proteinose alveolar congénita, proteína B surfactante, insuficiência respiratória neonatal

SUMMARY

CONGENITAL PULMONARY ALVEOLAR PROTEINOSIS. A case report.

Pulmonary Alveolar Proteinosis (PAP) is a rare entity characterized by the intra-alveolar accumulation of proteinaceous PAS positive and diastase resistant material. Its pathogenesis remains unclear, although a surfactant protein B deficiency and changes in the granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) receptor have been proposed as involved mechanisms.

Clinically two forms of PAP occur in the pediatric age group: acquired and congenital. The congenital form, very rare, presents in the neonatal period with respiratory insufficiency that starts in the first hours of life and is rapidly progressive, despite therapeutic measures. A definitive diagnosis is based on characteristic histological and immunohistochemical findings of pulmonary samples obtained by lung biopsy. The authors report on a case of Congenital Pulmonary Alveolar Proteinosis that is not associated with SP-B deficiency.

Key Words: congenital pulmonary alveolar proteinosis; surfactant protein B; neonatal respiratory insufficiency

INTRODUÇÃO

A Proteinose Alveolar é uma entidade clinico-patológica rara, descrita pela primeira vez por Rosen e colaboradores em 1958, e caracterizada pela acumulação, nos espaços alveolares, de fluido proteináceo, rico em lípidos, que cora com o *periodic acid Schiff* (PAS positivo) e é resistente à diastase¹⁻⁷. A sua etiopatogenia permanece por esclarecer, tendo o déficite de proteína B do surfactante (SP-B) e alterações no receptor celular do factor de estimulação de colónias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) nela sido envolvidos⁸.

Do ponto de vista clínico, estão descritas duas formas na idade pediátrica⁵. Na forma adquirida, semelhante à descrita em adultos, há instalação progressiva de um quadro de insuficiência respiratória com padrão restritivo preponderante, traduzindo-se em hipoxemia grave e alcalose respiratória^{2,7}. O atingimento respiratório, responsável pela morte na generalidade dos casos, é habitualmente precedido por atraso de crescimento, vômitos, diarreia e infecções piogénicas^{2,3}. Esta forma, mais frequente no sexo masculino, na razão de 3/1, pode ser primária ou idiopática, ou secundária a agressões múltiplas, nomeadamente por pó, agentes químicos, infecções (sobretudo em imunodeprimidos) ou doenças hematológicas⁹. Nas formas primárias há geralmente atingimento difuso do parênquima pulmonar enquanto, nas formas secundárias, este é frequentemente focal.

A forma congénita, muito rara, apresenta-se no período neonatal com quadro de insuficiência respiratória rapidamente progressiva e refractária à intervenção terapêutica^{3,10-12}. A sua apresentação clínica e radiológica é indistinguível da de outras patologias cárdio-respiratórias, colocando-se o diagnóstico diferencial com pneumonia neonatal, septicemia, hipertensão pulmonar persistente, síndrome de aspiração de mecónio, doença das membranas hialinas, displasia capilar-alveolar e cardiopatia congénita, nomeadamente retorno venoso pulmonar anómalo. Habitualmente, o quadro de insuficiência respiratória grave, com necessidade de oxigenoterapia suplementar e suporte ventilatório, instala-se nas primeiras horas de vida^{3,8}. Radiologicamente, verifica-se a existência de infiltrados pulmonares homogêneos, difusos e bilaterais, por vezes com envolvimento parenquimatoso^{2,8,10,11}. O diagnóstico definitivo baseia-se no estudo histológico e imuno-histoquímico de tecido pulmonar obtido por biópsia. Os autores descrevem um caso de Proteinose

Alveolar Congénita não associada a deficiência de proteína B do surfactante (SP-B).

CASO CLÍNICO

Doente do sexo feminino, primeira filha de pais jovens, aparentemente saudáveis, não consanguíneos e sem história familiar conhecida de doenças heredo-familiares. Nascida por parto eutócico, sem incidentes, após gestação de 41 semanas, vigiada e sem intercorrências, tendo apresentado uma antropometria adequada à idade gestacional e um índice de APGAR de 7/9/9, respectivamente ao primeiro, quinto e décimo minutos de vida. Às três horas de vida, instala-se quadro de dificuldade respiratória grave e rapidamente progressiva, que se vem a acompanhar de instabilidade hemodinâmica, motivo pelo qual é transferida para a Unidade de Cuidados Intensivos Neonatais do nosso hospital. É de imediato iniciado suporte ventilatório com parâmetros ventilatórios agressivos (frequência respiratória de 60 ciclos/minuto, pressão inspiratória de 37 mmHg) e necessidade de oxigenoterapia, com FiO₂ de 100%. A radiografia de tórax revelou a presença de imagens micronodulares difusas (figura 1).



Fig. 1 - Radiografia de tórax.

A avaliação por ecocardiografia bidimensional, modo M e Doppler, excluiu a existência de cardiopatia estrutural. Apesar do rastreio séptico negativo na admissão, face à gravidade da situação clínica da recém-nascida, foi iniciada antibioticoterapia empírica, com ampicilina e cefotaxima. A situação clínica manteve-se instável, com agravamento progressivo do ponto de vista respiratório. É tentada terapêutica com surfactante exógeno, que resulta em melhoria clínica significativa mas transitória do quadro respiratório após cada ministração, que vem a efectuar num total de nove

vezes, ao longo de vários dias. Do ponto de vista radiológico, assiste-se a um agravamento progressivo dos achados, com padrão intersticial difuso e evidência de destruição progressiva do parênquima pulmonar. Ao vigésimo primeiro dia de vida, perante a ausência de melhoria clínica apesar do suporte ventilatório agressivo, é iniciada ventilação de alta frequência, com aporte de O₂ de 100%, que se mantém com parâmetros progressivamente mais agressivos e progressão para insuficiência respiratória terminal. Como complicação deste suporte ventilatório agressivo resulta um pneumotórax à esquerda, drenado em D57 de vida. É tentado um curso de corticoterapia sistémica, sem qualquer melhoria clínica. Foram efectuados rastreios infecciosos múltiplos que se revelaram negativos, bem como lavados broncoalveolares, cujos exames microbiológicos (culturais e por PCR) foram igualmente negativos (incluindo pesquisa de Citomegalovírus, Pneumocistis carinii, micobactérias atípicas) e cujo estudo anatomo-patológico revelou apenas evidência de processo inflamatório inespecífico. Ao 34º dia de vida é submetida a biópsia pulmonar percutânea por mini-toracotomia, na sequência da qual se evidencia, no exame histológico, a presença de material grumoso, eosinofílico, PAS positivo e resistente à diastase, a preencher os espaços alveolares (rodeado de células macrofágicas) e no interior dos pneumócitos, permitindo estabelecer o diagnóstico de Proteinose Alveolar Congénita (figuras 2-4). O estudo imuno-histoquímico (estreptavidina-biotina, peroxidase indirecta, DAB) deste material grumoso permitiu detectar a presença de proteína A e B do surfactante no tecido pulmonar (figura 5). O agravamento progressivo da situação clínica veio a terminar no óbito aos 71 dias de vida.

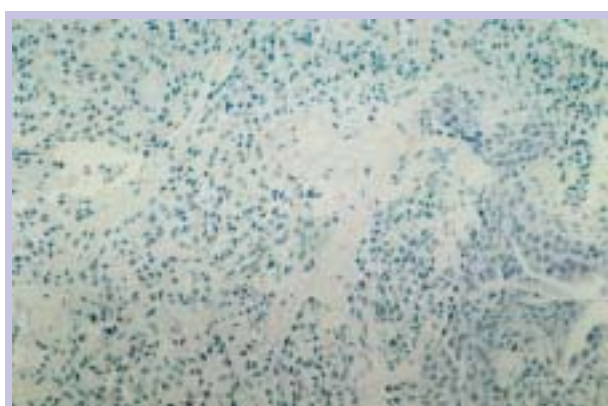


Fig. 2 - Coloração hematoxilina-eosina. Parênquima pulmonar com lesões de broncodisplasia. Espaços alveolares com presença de material grumoso, eosinofílico.

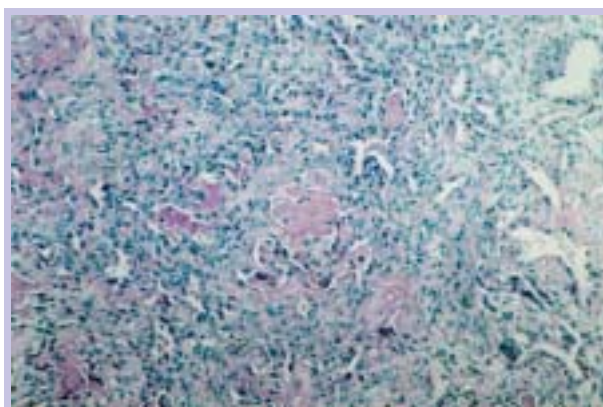


Fig. 3 - Coloração PAS.

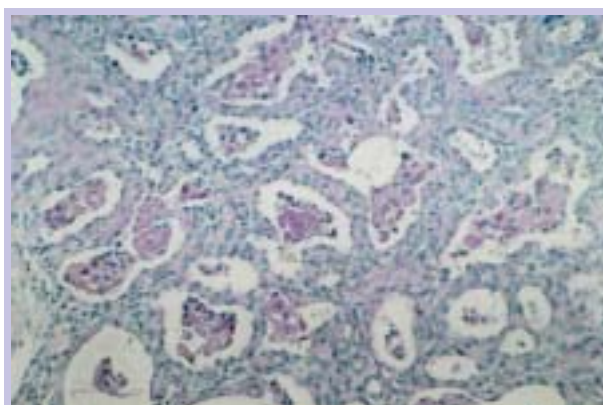


Fig. 4 - Digestão pela diastase. Material intra-alveolar diastase resistente, rodeado por macrófagos.



Fig. 5 - Estudo imuno-histoquímico. Detecção de SP-B com anticorpos anti-SP-B.

DISCUSSÃO

O caso que descrevemos é em tudo elucidativo do que vem sendo descrito na literatura acerca desta patologia, rara no período neonatal, da qual, tanto quanto é do nosso conhecimento, este é o primeiro relato na literatura portuguesa. A apresentação clínica, de

insuficiência respiratória com instalação nas primeiras horas de vida e rapidamente progressiva, apesar das medidas terapêuticas instituídas, vindo a terminar na morte precoce da paciente, é a regra nos escassos relatos desta patologia publicados^{3,8,10,11}. Tal como classicamente descrito, assistiu-se a um agravamento clínico e radiológico, com progressão de um padrão granular difuso para destruição enfisematosa pulmonar, na ausência de etiologia infecciosa documentada^{3,8,10,12,13}. Este agravamento clínico e radiológico ocorreu apesar de ventilação mecânica, inicialmente convencional e mais tarde com oscilação de alta frequência, com parâmetros extremamente agressivos e necessidades de oxigenoterapia suplementar a 100%^{8,10}. Os achados histológicos em tecido pulmonar obtido por biópsia foram característicos desta entidade e permitiram o diagnóstico definitivo da doença¹⁰. Foi ainda possível verificar a existência de alterações iatrogênicas secundárias à ventilação mecânica e oxigenoterapia agressivas, achado mencionado nos casos previamente descritos⁸. Pelo contrário, a análise anatomo-patológica das secreções respiratórias obtidas por lavagem bronco-alveolar não foram sugestivas do diagnóstico, tal como tem sido mencionado na literatura¹⁰. Caracteristicamente, a lavagem bronco-alveolar resulta na saída de líquido leitoso, cujo exame anatomo-patológico permite a identificação de uma substância extra-celular PAS positiva e conteúdo escasso em elementos nucleados, que são geralmente macrófagos com citoplasma vacuolizado^{9,13,14}.

A etiopatogenia da Proteínose Alveolar Congénita tem sido atribuída, nalguns casos, à deficiência de proteína B do surfactante (SP-B), no tecido pulmonar, detectada pela ausência de coloração imunohistoquímica quando o tecido pulmonar afectado é exposto a anticorpos específicos contra aquela proteína⁸. A SP-B é uma proteína hidrofóbica do surfactante, cuja importância foi confirmada pela observação de que anticorpos contra ela dirigidos induzem *in vivo*, no modelo animal, um quadro de dificuldade respiratória e inactivam na totalidade os surfactantes exógenos^{15,16}. Parece ter um papel importante na função e metabolismo do surfactante, mas os mecanismos exactos pelos quais a sua ausência condiciona Proteínose Alveolar, estão mal esclarecidos^{8,9,17}. A sua deficiência parece estar associada, de forma consistente, com o aumento de uma forma aberrante de proteína C do surfactante^{4,8,11,17-19}.

Em alguns doentes a proteínose alveolar congénita

ta apresenta-se como doença autossómica recessiva com deficiência de SP-B⁸. Cerca de 60% destes doentes são homozigóticos para uma inserção de um par de bases no codão 121 do gene da SP-B, localizado no cromossoma 2, cuja prevalência na população geral se estima em 1 para 1000 a 3000 indivíduos, baseada em estudos na população americana²⁰. Esta alteração ocasiona uma mutação de tipo *frameshift* que origina um codão de paragem precoce de leitura, o que justifica a ausência ou diminuição de RNA mensageiro para a SP-B previamente descritas na literatura^{4,8,11,17}. Têm igualmente sido descritos na literatura casos de doentes homozigóticos e compostos heterozigóticos para várias outras mutações, algumas das quais resultando em déficite parcial de SP-B e apresentando expressão fenotípica diferente, pelo que se presume que existam outras mutações do gene da SP-B, ainda por identificar^{4,11,18,19,21,22}. No caso que apresentamos, foi possível demonstrar, por imunohistoquímica, a presença de SP-B em quantidades normais no material alveolar proteináceo, o que afasta a deficiência daquela proteína como causa possível da doença. A presença de SP-B não exclui, contudo, a possibilidade de se tratar de um defeito qualitativo da proteína, tal como foi já descrito na literatura¹².

Na ausência de deficiência de proteína B do surfactante, outros mecanismos, nomeadamente os envolvidos na limpeza alveolar, parecem estar implicados na patogénese da doença^{4-7,13}. A maior parte da informação a este respeito provém de estudos em ratos, nos quais se induziu a alteração da interacção entre o GM-CSF e os seus receptores, vindo aqueles a apresentar um quadro histológico de proteínose alveolar²³. Em doentes e, em particular, em pacientes com proteínose alveolar congénita, foi já descrita a expressão aberrante de uma das subunidades (subunidade beta) comum ao receptor do GM-CSF, IL-3 e IL-5⁶. O papel da cadeia bc na patogénese da proteínose alveolar, nestes doentes, permanece por esclarecer⁶. O diagnóstico desta forma de proteínose alveolar baseia-se no estudo da expressão do receptor e ligando do GM-CSF, em sangue periférico e medula óssea, após estimulação clonal dos precursores monocito-macrofágicos⁹. Esta hipótese fisiopatológica dá suporte à possível indicação, no futuro, para terapêutica curativa por transplante de medula óssea, em casos seleccionados de proteínose alveolar. Em adultos, encontra-se já em fase de ensaio clínico o uso de GM-CSF recombinante, em alguns casos de proteínose alveolar adquirida^{13,24}. Por dificuldades de índole téc-

nica este estudo não foi efectuado na nossa doente. Contudo, a expressão do receptor do GM-CSF veio a ser estudada em irmão assintomático, nascido cerca de um ano após a morte da nossa doente, sendo, neste, normal.

Apesar dos avanços no esclarecimento da fisiopatologia da doença, numa importante percentagem dos casos de proteinose alveolar congénita ela fica por esclarecer, tal como ocorreu na nossa doente. Este facto adquire particular importância tanto quanto impede a realização de um diagnóstico pré-natal em futuras gestações. Nos casos em que uma deficiência em SP-B é identificada, o diagnóstico pré-natal poderá ser possível pela determinação de SP-B no líquido amniótico, bem como pela caracterização molecular do gene da SP-B²⁵.

As alternativas terapêuticas no período neonatal são escassas e, de uma maneira geral, decepcionantes. A ventilação mecânica convencional, bem como a ventilação de alta frequência, são insuficientes para prevenir a evolução inexoravelmente fatal da doença. O uso de corticoterapia sistémica não resulta em melhoria do quadro, tal como constatamos na nossa doente, muito embora seja conhecido o efeito estimulante dos corticoesteróides na produção de SP-B, em culturas de tecido pulmonar^{8,11,25}. Da mesma forma, o uso de surfactante exógeno tem sido associado a melhoria muito transitória da dificuldade respiratória, embora, a médio prazo, não altere a progressão para falência respiratória terminal, como verificamos^{8,11,12,21,25}. As técnicas de suporte de vida extracorporeal têm-se revelado igualmente ineficazes para evitar a progressão da doença, pelo que só poderão ser encaradas como ponte para o transplante pulmonar^{8,10,11,21,25}. As lavagens alveolares, largamente usadas com algum sucesso na criança e no adulto, revelam-se ineficazes e de exequibilidade limitada no grupo etário neonatal, onde a única possibilidade terapêutica eficaz é o transplante pulmonar^{4,5,9,14,26}. Esta terapêutica está limitada pela escassez de órgãos disponíveis e de centros com experiência em transplante em idades precoces²⁶.

Neste contexto, a expectativa assenta na possibilidade futura de terapêutica génica, no momento actual apenas do domínio especulativo^{20,26}. Em crianças com deficiência de SP-B, a sua administração sob a forma de proteína aerossolizada poderá vir a constituir uma alternativa terapêutica⁸.

Nas circunstâncias actuais do conhecimento científico, e na nossa realidade, a proteinose alveolar congénita é uma patologia cuja evolução termina, inexora-

velmente, na morte. De momento, o transplante pulmonar é a única terapêutica eficaz para prevenir tal evolução.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Jorge Casanova (Centro de Cirurgia Cardio-torácica do H. S. João) que colaborou na realização da biópsia pulmonar; Conceição Souto-Moura (Serviço de Anatomia Patológica do H. S. João), pela sua preciosa colaboração no exame histológico do tecido pulmonar; Frederique Capron (Anatomie et Cytologie Pathologiques Hôpital Antoine Béchère, Paris), que gentilmente aceitou a efectuar o estudo imuno-histoquímico do tecido pulmonar.

BIBLIOGRAFIA

1. ROSEN SH, CASTELMAN B, LIEBOW AA: Pulmonary Alveolar Proteinosis. *N Eng J Med.* 1958; 258: 1123
2. WILKINSON RH, BLANC WA, HAGSTROM JWC: Pulmonary Alveolar Proteinosis in Three Infants. *Pediatr.* 1968; 41 (2): 510-5
3. SCHUMACHER RE, MARROGI AJ, HEIDELBERG KP: Pulmonary Alveolar Proteinosis in a Newborn. *Pediatr Pulmonol* 1989; 7: 178-82
4. DE MELLO DE, NOGEE LM, HEYMAN S *et al*: Molecular and Phenotypic Variability in the Congenital Alveolar Proteinosis Syndrome Associated with Inherited Surfactant Protein B Deficiency. *J Pediatr* 1994; 125: 43-50
5. MAHUT B, DELACOURT C, SCHEINMANN P *et al*: Pulmonary Alveolar Proteinosis : Experience with Eight Pediatric Cases and a Review. *Pediatrics* 1996; 97: 117-22
6. DIRKSEN U, NISHINAKAMURA R, GRONECK P *et al*: Human Pulmonary Alveolar Proteinosis Associated with a Defect in GM-CSF / IL-3 / IL-5 Receptor Common b Chain Expression. *J Clin Invest* 1997; 100 (9): 2211-7
7. SAKAI Y, YOSHIMURA H, SANO H, KUROKI Y, SATOH M, KAIMORI M: Pulmonary Alveolar Proteinosis in Infants. *Eur J Pediatr* 1999; 158:424-6
8. NOGEE LM, DE MELLO DE, DEHNER LP, COLTEN HR: Deficiency of Pulmonary Surfactant Protein B in Congenital Alveolar Proteinosis. *N Engl J Med* 1993; 328 (6): 406-10
9. SHAH PL, HANSELL D, LAWSON PR, REID KBM, MORGAN C: Pulmonary Alveolar Proteinosis: Clinical Aspects and Current Concepts on Pathogenesis. *Thorax* 2000; 55: 67-77
10. MOULTON SL, KROUS HF, MERRITT TA, ODELL RM, GANGITANO E, CORNISH JD: Congenital Pulmonary Alveolar Proteinosis: Failure of Treatment with Extracorporeal Life Support. *J Pediatr* 1992; 120: 297-302
11. BALLARD PL, NOGEE LM, BEERS MF *et al*: Partial Deficiency of Surfactant Protein B in an Infant with Chronic Lung Disease. *Pediatrics* 1995; 96: 1046-52
12. MILDENBERGER E, DE MELLO DE, LIN Z, KÖSSEL H, HOEHN T, VERSMOLD HT: Focal Congenital Alveolar Proteinosis Associated with Abnormal Surfactant Protein B

- Messenger RNA. *Chest* 2001;119: 645-7
13. SEYMOUR JF, PRESNEILL JJ: Pulmonary Alveolar Proteinosis. Progress in the First 44 Years. *Am J Respir Crit Care Med* 2002; 166: 215-35
 14. MAHUT B, DE BLIC J, LE BOURGEOIS M, BERINGER A, CHEVALIER JY, SCHEINMANN P: Partial and Massive Lung Lavages in an Infant with Severe Pulmonary Alveolar Proteinosis. *Pediatr Pulmonol* 1992; 13: 50-3
 15. ROBERTSON B, KOBAYASHI T, GANZUKA M, *et al*: Experimental Neonatal Respiratory Failure Induced by a Monoclonal Antibody to the Hydrophobic Surfactant-Associated Protein SP-B. *Pediatr Res* 1991; 30: 239-43
 16. KOBAYASHI T, ROBERTSON B, GROSSMAN G, *et al*: Exogenous Porcine Surfactant (Curosurf) is Inactivated by Monoclonal Antibody to the Surfactant - Associated Hydrophobic Protein SP-B. *Acta Pediatr* 1992; 81: 665-71
 17. BEERS MF, HAMVAS A, MOXLEY MA *et al*: Pulmonary Surfactant Metabolism in Infants Lacking Surfactant Protein B. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2000; 22(3): 380-91
 18. KLEIN JM, THOMPSON MW, SNYDER JM *et al*: Transient Surfactant Protein B Deficiency in a Term Infant with Severe Respiratory Failure. *J Pediatr* 1998; 132: 244-8
 19. DUNBAR III AE, WERT SE, IKEGAMI M *et al*: Prolonged Survival in Hereditary Surfactant Protein B (SP-B) Deficiency Associated with a Novel Splicing Mutation. *Pediatr Res* 2000; 48: 275-82
 20. COLE FS, HAMVAS A, RUBINSTEIN P *et al*: Population Based Estimates of Surfactant Protein B Deficiency. *Pediatrics* 2000; 105 (3): 538-41
 21. WALLOT M, WAGENVOORT C, DE MELLO D, MÜLLER KM, FLOROS J, ROLL C: Congenital Alveolar Proteinosis Caused by a Novel Mutation of the Surfactant Protein B Gene and Misalignment of Lung Vessels in Consanguineous Kindred Infants. *Eur J Pediatr* 1999; 158: 513-8
 22. NOGEE LM, WERT SE, PROFFIT SA, HULL WM, WHITSETT JA: Allelic Heterogeneity in Hereditary Surfactant Protein B Deficiency. *Am J Crit Care Med* 2000; 161: 973-81
 23. NISHINAKAMURA R, NAKAYAMA N, HIRABAYASHI Y *et al*: Mice Deficient for the IL-3 / GM-CSF / IL-5 Beta c Receptor Exhibit Lung Pathology and Impaired Immune Response, While Beta IL-3 Receptor-Deficient Mice are Normal. *Immunity* 1995; 2: 211-22
 24. SEYMOUR JF, DUNN AR, VINCENT JM *et al*: Efficacy of Granulocyte-Macrophage Colony Stimulating Factor in Acquired Alveolar Proteinosis. *N Eng J Med* 1996; 335: 1924-5
 25. HAMVAS A, COLE FS, DE MELLO DE *et al*: Surfactant Protein B Deficiency: Antenatal Diagnosis and Prospective Treatment with Surfactant Replacement. *J Pediatr* 1994; 125: 356-61
 26. HAMVAS A, NOGEE LM, MALLORY GB *et al*: Lung Transplantation for Treatment of Infants with Surfactant Protein B Deficiency. *J Pediatr* 1997; 130: 231-9