

**ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO**

**CARACTERIZAÇÃO DAS LEUCEMIAS BIFENOTÍPICAS AGUDAS**

**SUELLEN SANT'ANA DE CARVALHO**

**CURSO: HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE**

**2011**

# Caracterização das leucemias bifenotípicas agudas

*Suellen Sant' Ana de Carvalho*

## **Resumo**

As leucemias bifenotípicas agudas se caracterizam por apresentar antígenos de superfície, citoplasmáticos ou nucleares tanto das linhagens linfóides como das linhagens mielóides, numa mesma população de células blásticas. Aparecem em cerca de 0,5 a 3% das leucemias agudas e podem acometer tanto adultos como crianças.

Atualmente, a citometria de fluxo tem se consolidado como um ferramenta importante para o diagnóstico das leucemias bifenotípicas aguda, todavia o mesmo continua dependente de informações clínicas, morfologia celular e avaliação genética, principalmente após muitas pesquisas apontarem anormalidades no cromossomo Filadélfia (Ph) associadas ao diagnóstico de leucemia bifenotípica. Recentemente, foi apontada a possibilidade de uma entidade biologicamente única nas leucemias bifenotípicas aguda, o que possibilitaria avanços nas condutas terapêuticas e patogênese.

No entanto, o conhecimento a respeito da origem das leucemias bifenotípicas ainda é muito limitado. Embora não exista um único critério para o tratamento dessa doença, sabe-se que a mesma requer um tratamento mais intensivo para atingir a longo prazo remissões completas. Dessa maneira, é importante que se faça distinção entre as leucemias bifenotípicas aguda e os casos de LLA e LMA com expressão aberrante de marcadores de outras linhagens devido a diferença na conduta terapêutica.

**Palavras chaves:** Leucemia bifenotípica aguda, fenótipo aberrante, co-expressão de marcadores.

## **Abstract**

Biphenotypic acute leukemias are characterized by presence surface antigens, cytoplasmic or nuclear of both lineages, lymphoid and myeloid, in the same population of blast cells. Appear at about 0.5 to 3% of acute leukemias and can affect both, adults and children.

Currently, flow cytometry has been established as an important tool for the diagnosis of biphenotypic acute leukemias, but it remains dependent on clinical data, cell morphology and genetic evaluation, especially after many studies indicate abnormalities in Philadelphia chromosome (Ph) associated with diagnosis of biphenotypic leukemia. It was recently pointed out the possibility of a biologically unique entity in biphenotypic acute leukemias, which would allow advances pathogenesis and therapeutic approaches.

However, knowledge about the origin of biphenotypic leukemia is still very limited. Although there is no single criterion for the treatment of this disease, it is known that it requires a more intensive treatment for former long-term complete remissions. Thus, it is important to make distinction between biphenotypic acute leukemia and the cases ALL and AML with aberrant expression of markers of other lineages because the therapeutic approach is different.

**Key words:** Biphenotypic acute leukemia; aberrant phenotype; co-expression of markers.

---

**Endereço para correspondência:** Rua Dom Avelar Brandão Vilela, 131, Vila Padre Anchieta, Campinas, SP.

**Endereço eletrônico:** [su\\_carvalho87@hotmail.com](mailto:su_carvalho87@hotmail.com)

## Introdução

As células hematopoiéticas podem ser identificadas através da expressão de determinados antígenos, que caracterizam cada estágio do processo de diferenciação e maturação celular. A perda parcial da capacidade de diferenciação e o tipo de linhagem comprometida representam as bases para a classificação das leucemias. As leucemias são caracterizadas pela proliferação neoplásica generalizada ou acúmulo de células hematopoiéticas, com ou sem o envolvimento do sangue periférico. Na maioria dos casos as células leucêmicas extravasam para o sangue periférico, onde podem ser vistas em grande número. (Quixabeira & Saddi, 2008; Silva *et al* 2006).

As leucemias se originam de uma célula precursora doente de qualquer uma das linhagens sanguíneas, mielóide ou linfóide. De acordo com o grau de diferenciação das células neoplásicas envolvidas no processo leucêmico, podemos classificar as leucemias em agudas e crônicas. As leucemias agudas são caracterizadas pela proliferação clonal, acompanhada de bloqueio de maturação variável, onde as células neoplásicas perdem a capacidade de produzir células saudáveis. O termo aguda é utilizado para descrever leucemias com predominância de blastos na medula óssea; em geral, as leucemias agudas são de progressão rápida e podem acometer tanto jovens como adultos. O tratamento deve ser imediato, pois com o acúmulo, as células leucemicas podem migrar para várias partes do corpo. Nas leucemias crônicas, as células predominantes são diferenciadas, mas mesmo assim doentes. A progressão das leucemias crônicas é lenta, podendo variar de meses à anos. Diferente das leucemias agudas, as leucemias crônicas em alguns casos é apenas monitorada por algum tempo antes do tratamento. (Lemos, Jácomo & Santos, 2007; Biondo, 2005; Silva *et al* 2006; Quixabeira & Saddi, 2008).

De acordo com a linhagem comprometida, podemos classificar as leucemias em: leucemia linfóide (acomete a série linfocítica) e leucemia mielóide (acomete as séries granulocíticas, monocíticas, eritrocitárias e megacariocíticas), ambas podendo ser apresentadas na forma aguda ou crônica. Sendo assim temos as leucemias linfóide crônica (LLC), leucemias mielóide crônica (LMC), leucemias linfóide aguda (LLA) e leucemias mielóide aguda (LMA). (Biondo, 2005; Lemos Jácomo & Santos, 2007).

## **Diagnóstico das leucemias**

O diagnóstico das leucemias está baseado, na maioria dos casos, na análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas, porém a dificuldade na classificação de alguns pacientes tem levado a busca de outros parâmetros. Atualmente, a morfologia, ainda tida como de grande importância na classificação das leucemias, foi incorporada em sistemas de classificação atuais, como as técnicas de imunofenotipagem por citometria de fluxo e imuno-histoquímica que são úteis no diagnóstico, classificação, prognóstico, estadiamento, monitoramento, e revelam a presença de células com fenótipo significativamente anormais. Sendo assim, o diagnóstico das leucemias depende da combinação de uma análise de dados clínicos, morfologia (sangue e medula óssea), marcadores fenotípicos (imuno-histoquímica e citometria) e marcadores citogenéticos e moleculares. (Rego & Santos, 2009; Quixabeira & Saddi, 2008; Silva *et al* 2006; Farias & Castro, 2004; Paes *et al* 2001; Metzger, 2009)

### **Leucemia bifenotípica aguda**

As células leucêmicas expressam antígenos de diferenciação mielóide, nos casos das leucemias mielóides e linfóides nos casos das leucemias linfóides, com um padrão e critérios já bem definidos. A grande maioria dos casos de leucemias agudas podem ser identificados como mielóide ou linfóide pela morfologia, citoquímica e marcadores imunológicos de membrana e citoplasma. Entretanto, existem casos mais difíceis de se classificar, devido a presença de ambos os marcadores na mesma célula. Esse fenômeno é conhecido como fenótipo aberrante. Os fenótipos aberrantes estão em geral associados a leucemias com co-expressão de marcadores raramente ou nunca encontrados simultaneamente na diferenciação normal; com super expressão de um marcador específico de linhagem celular; ou com a ausência de um marcador, indicando assincronia de maturação. Cerca de 5% a 10% dos pacientes com leucemia aguda apresentam marcadores morfológicos, citoquímicos e imunofenotípicos desmostrando duas linhagens diferentes, em populações diferentes de blastos. São conhecidas como leucemia de bi-linhagem. No entanto, existe um grupo de leucemias aguda que apresenta na mesma população de blastos, co-expressão de marcados citoplasmáticos ou nucleares, de linhagem linfóide B e mielóides e, menos frequentemente, marcadores linfóides T e mielóides. Além disso, essas células apresentam características morfológicas e citoquímicas de ambas linhagens. São as leucemias bifenotípicas agudas. (Emerenciano *et al*, 2004; Silva *et al* 2006, Martins & Falcão, 2000; Kovacs *et al*, 2008; Nishiuchi *et al*, 2009).

Os primeiros relatos publicados que se referiram as leucemias bifenotípicas datam da década de 80, logo após o aparecimento dos anticorpos monoclonais e seu uso para definição de células leucemicas. Recentemente, as leucemias bifenotípicas agudas foram descritas pela Organização Mundial da Saúde e associadas a outras leucemias agudas não convencionais, como aquelas que mudam sua linhagem durante o tratamento ou que mostram características pouco diferenciadas ou indiferenciadas. ( Bené, 2009; Rubnitz, *et al*, 2009).

As leucemias bifenotípicas aparecem em cerca de 0,5 a 3% das leucemias agudas e parecem ser mais comuns nos pacientes com síndrome mielodisplásica prévia, leucemias secundárias, leucemias associadas a translocação (11:23) e ao cromossomo Filadélfia (Ph). (Emerenciano *et al*,2004; Silva *et al* 2006, Martins & Falcão, 2000; Kovacs *et al*, 2008; Nishiuchi *et al*, 2009).

O imunofenótipo mais comum nas leucemias bifenotípicas aguda é a co-expressão de marcadores mielóide e linfóide B, cerca de 60 a 65%; a co-expressão de marcadores mielóides e linfóide T é menos representativa, de 20 a 25%. A co-expressão dos três marcadores ( linfóide T e B e mielóide) é muito rara, e a presença de marcadores linfóide T e B no mesma células blástica é incomum. (Nishiuchi *et al*, 2009; Matutes *et al*, 1997).

O diagnóstico das leucemias bifenotípicas é, assim como nos outros tipos de leucemia, baseado inicialmente na morfologia e citoquímica e posteriormente, complementado pela imunofenotipagem. Em geral, é utilizada amostras da medula óssea; apenas em alguns casos se utiliza amostras de sangue periférico quando a biópsia da medula não é bem sucedida e o paciente tem uma contagem suficiente de leucócitos. As leucemias bifenotípicas apresentam frequentemente alto número de leucócitos e muitos casos tem uma variação proporcional de blastos circulantes.(Al-Seraihy *et al*, 2009; Matutes *et al*; 1997)

A classificação final das leucemias bifenotípicas aguda é feita baseada na proposta do European Group Immunological Classification of Leukemias (EGIL). Esse sistema é baseado no número e no grau de especificidade de certos marcadores mielóides e linfóides; ele confere *score* (pontos) para marcadores celulares de membrana e citoplasma das linhagens linfóide e mielóide.(Tabela 1.). Uma ferramenta importante nessa classificação é a imunofenotipagem por citometria de fluxo. A citometria é um método rápido e objetivo que permite a análise multiparamétrica das células e a detecção e quantificação de antígenos celulares de superfície, citoplasma e núcleo numa mesma amostra. Nessa técnica são utilizados anticorpos monoclonais, que recebem a designação CD (*cluster of differentiation*). Os antígenos de membrana são comuns a diferentes tipos celulares, já os antígenos citoplasmáticos são específicos, e por isso possibilitam classificar as leucemias. Sendo assim, são consideradas leucemias bifenotípicas aguda os casos onde a soma dos pontos são superiores a dois para marcadores específicos da linhagem mielóide e dois para marcadores específicos da linhagem linfóide. (Al-Seraihy *et al*, 2009; Matutes *et al*; 1997;

Silva *et al*,2004).

Tabela 1. Sistema de *score* proposto pelo European Group Immunological Classification of Leukemias (EGIL)

Score	Linfóide B	Linfóide T	Mielóide
2	CD79 IgM cit CD22 cit	CD3 (sup/ cit) anti- TCR	MPO
1	CD19 CD20 CD10	CD2 CD5 CD8 CD10	CD117 CD13 CD33 CD65
0,5	TdT CD24	TdT CD7 CD1a	CD14 CD15 CD64

### Discussão e Conclusão

As leucemias bifenotípicas aguda foram descritas na literatura como leucemias de linhagem mista ou híbrida e o uso de um amplo painel de anticorpos monoclonais possibilitou o seu reconhecimento por imunofenotipagem. No entanto, o conhecimento a respeito de sua origem ainda é muito limitado, tanto em termos clínicos como biológicos e os mecanismos pelos quais ocorrem os fenótipos aberrantes ainda é incerto. É provável que o grupo de casos referidos como leucemia bifenotípica aguda englobem tanto as verdadeiras leucemias bifenotípicas aguda, como também casos de LMA e LLA com fenótipos aberrantes, já que alguns pacientes com leucemia aguda apresentam marcadores morfológicos, citoquímicos e imunofenotípicos desmostrando duas linhagens diferentes.(Yamamoto, 2000; Emerenciano *et al*,2004; Al-Seraihy *et al*, 2009; Matutes *et al*, 1997).

Como já citado anteriormente, a classificação das leucemias bifenotípicas foi proposta pelo European Group Immunological Classification of Leukemias (EGIL). Entretanto, a literatura aponta que esse método é útil para o diagnóstico da doença, mas não estabelece sua origem e linhagem de

maneira clara. Acredita-se que a leucemia bifenotípica é derivada de células progenitoras hematopoiéticas capazes de expressar antígenos de mais de uma linhagem celular, isso porque a maioria dos casos de leucemia bifenotípica expressam o antígeno CD34, que é um marcador de imaturidade. (Yamamoto, 2000; Emerenciano *et al*,2004; Al-Seraihy *et al*, 2009; Matutes *et al*, 1997; Nishiuchi *et al*, 2009).

Sabe-se que a leucemia bifenotípica aguda pode afetar tanto crianças como adultos, especialmente crianças menores de dois anos. No entanto a incidência exata da doença na infância é desconhecida, pois os casos pediátricos vêm sendo relatado dentro dos casos adultos. (Al-Seraihy *et al*, 2009; Matutes *et al*, 1997).

Dados demonstram que a leucemia bifenotípica aguda tem um pior prognóstico quando comparado com outros tipos de leucemia. Embora não exista um único critério para o tratamento dessa doença, sabe-se que a mesma requer um tratamento mais intensivo para atingir a longo prazo remissões completas. Sendo assim, é importante que se faça distinção entre as leucemias bifenotípicas aguda e os casos de LLA e LMA com expressão aberrante de marcadores de outras linhagens, devido a diferença na conduta terapêutica. Há também em alguns casos a indicação de transplante de medula óssea precoce. Porém, a necessidade de transplante em primeira remissão ainda parece controversa. (Yamamoto, 2000; Emerenciano *et al*,2004; Matutes *et al*, 1997;Al-Seraihy *et al*, 2009).

É importante ressaltar que, mesmo com a imunofenotipagem por citometria de fluxo ter se tornado uma ferramenta importante no diagnóstico das leucemias, o mesmo ainda permanece dependente, na maioria dos casos, de informações clínicas, da morfologia celular no mielograma e biópsia de medula óssea e da avaliação genética. Estudos apontam que grande parte das leucemias possui fatores prognósticos determinados por fatores citogenéticos. Não existe uma única anormalidade cromossômica associada as leucemias bifenotípicas aguda, embora estudos recentes indiquem que alguns casos da doença possam apresentar uma entidade biologicamente única, como por exemplo, anormalidades nos cromossomos 9,22 (Ph) que vem se estabelecendo como um padrão comum dessa doença. Portanto, a citogenética tem sido uma ferramenta fundamental no diagnóstico e no estabelecimento de fatores prognósticos nas leucemias agudas, pois pacientes pós tratamento perdem as características iniciais da doença, tornando difícil a revisão dos achados iniciais. Além disso, o conhecimento mais aprofundado das entidades biologicamente únicas das leucemias bifenotípicas aguda possibilitaria identificar novos mecanismos de patogênese e novos alvos terapêuticos.( Rego & Santos, 2009; Hamerschlak, 2008;Rubnitz *et al*,2009).



## Referências bibliográficas

AL-SERAIHY, A.S., OWAIDAH, T. M, AYAS, M., EL-SOLH, H., AL-MAHR, M., AL-AHMARI, A., BELGUAMI, A.F. Clinical characteristics and outcome of children with biphenotypic acute leukemia. *Haematologica* 2009; 94:1682-1690. doi:10.3324/haematol.2009.009282.

BÉNÉ. M.C. Biphenotypic, bilineal, ambiguous or mixed lineage: strange leukemias! *Haematologica*, 94(7),p891-893, 2009.

BIONDO, A.W. Doenças Mieloproliferativas. Anais do II Simpósio de Patologia Clínica Veterinária da Região Sul do Brasil, pp.36-42, 2005.

EMERENCIANO M., BOSSA, Y., ZANROSSO, C.W., ALENCAR, D.M., CAMPOS, M.M., DOBBIN J., CARRIÇO, K., OLIVEIRA, M.S.P. Frequência de imunofenótipos aberrantes em leucemias agudas. *Revista Brasileira de Cancerologia* 2004; 50(3): 183-189.

FARIA M.G., CASTRO, S.M. Diagnóstico das leucemias linfóides agudas. *J. Bras. Patol. Med. Lab.* Vol 40. nº2, p.91-8.

HAMERSCHKLAK N. Leukemia: genetics and prognostic factors. *J Pediatr (Rio J)*. 2008;84(4 Suppl):S52-57.

KOVACS, M.J., FRANCO, M.H.P., CARVALHO, V.A., LIBERATO, R.P., MACIEIRA, R.C., VEIT, M.T., GOMES, M.J.B., BARROS, L.H.C. Temas em psico-oncologia, Grupo editorial Summus, p. 96, 2008.

LEMO B.A.A.S, JÁCOMO, R.H., SANTOS, G.A.S. LEUCEMIAS: misteriosas e temidas, mas não invencíveis! Departamento de Clínica Médica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo 02.02, 1-3 (2007).

LORAND-METZE I. A importância da integração de dados do diagnóstico das hemopatias. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2009;31(3):189-191

MARTINS, S.L.R., FALCÃO R.P. A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda. *Rev. Assoc. Med. Bras.* Vol.46 n.1, 2000.

MATUTES E., MORILLA R., FARAHAT N, CARBONELL F., SWANBURY J., DYER M., CATOVSKY D. Definition of acute biphenotypic leukemia. *Haematologica* 1997; 82:64-66.

NISHUCHI, T. , OHNISHIO, H. , KAMADA, R., KIKUCHI, F. , SHINTANI, T., WAKI, F., KITANAKA, A., KUBOTA, Y. , TANAKA, T., ISHIDA, T. Acute Leukemia of Ambiguous Lineage, Biphenotype, without CD34, TdT or TCR-rearrangement. *Inter Med* 48: 1437-1441, DOI: 10.2169/internalmedicine.48.2329.

PAES, R.A.P., VASSALO, J., ALVES, A.C., MENEZES, Y., SIQUEIRA, S.A.C, ALDRED, V.L,

SOARES,F., MORAES, J.C. Classificação Mundial da Saúde para as neoplasias de tecidos hematopoiético e linfóide: proposta de padronização terminológica em língua portuguesa do grupo de hematologia da Sociedade Brasileira de Patologia. Vol. 38. nº3,p. 237-239, 2002

REGO,M.E.,SANTOS, G.A.S, Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses. Rev. Bras. Hematol. Hemoterap., 2009.

RUBNITZ, J.E.; ONCIU, M.; POUNDS, S.;SHURTLEFF, S.; CAO, X.; RAIMONDI, S.C.; BEHM, F.G.; CAMPANA, D.;RAZZOUK, B.I.; RIBEIRO, R.C.; DOWNING,J.R.; PUI,C.H. Acute mixed lineage leukemia in children: the experience of St Jude Children's Research Hospital. Blood, 113(21), p.5083-5089, 2009.

SILVA, G.C.; PILGER D. A.; CASTRO S. M.; WAGNER S.C. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. J. Bras. Patol. Med. Lab. Vol.42. nº2, p.77-48,2006.

SILVA, I.Z.; BOM, A.P.Z.P.; PARISE, G.A.; MALVEZZI, M.;WATANABE, F.M.;CARBONI,E.K.;OLANDOSKI, M. Expressão de marcadores mielóides e prognóstico das leucemias linfóides agudas. Pediatria (São Paulo);26(2); p.97-103, 2004.

QUIXABEIRA V. B.L., SADDI, V.A. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura.RBAC, vol. 40(3): 199-202, 2008

YAMAMOTO, M. Imunofenotipagem em leucemias mielóides agudas. Rev. Bras. Hematol.Hemoterap. 2000.22 (suplemento2) : 169-174.