

# LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA: MUTAÇÃO NOS GENES FLT3 E NPM1.

André Hideaki Hosaka Nakamura<sup>1</sup>

## RESUMO

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é uma doença hematológica neoplásica, que se caracteriza pela proliferação anormal das células hematopoiética, causando o bloqueio total ou parcial da maturação na produção dessas células. A LMA é um grupo heterogêneo de doenças clonais que acomete a produção de células sanguíneas, o diagnóstico da LMA se dá pela morfologia, citoquímica, imunofenotipagem, citogenética, biologia molecular e pela genética molecular. A citogenética e a biologia molecular diagnóstica as mutações nos genes responsáveis pela proliferação anormal das células sanguíneas, as principais mutações detectadas são nos genes FLT3 e NPM1, a detecção do tipo de mutação estabelece o melhor tratamento a ser realizado é também qual será o prognóstico da doença para o paciente.

Palavras-Chave: Leucemia Mielóide Aguda; neoplasia; citogenética; FLT3; NPM1;

## ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) is a hematological neoplastic disease, which is characterized by abnormal proliferation of hematopoietic cells, causing partial or total blockage of maturation in producing these cells. AML is a heterogeneous group of clonal disease that affects the production of blood cells, the diagnosis of AML is of the morphology, cytochemistry, immunophenotyping, cytogenetics, molecular biology and molecular genetics. The cytogenetic and molecular biology diagnostic mutations in genes responsible for abnormal proliferation of blood cells, the major mutations are detected in FLT3 and NPM1 genes, detection of the type of mutation provides the best treatment to be performed is also what is the prognosis of the disease for the patient.

Keywords: acute myeloid leukemia; neoplasia; cytogenetics, FLT3, NPM1;

## INTRODUÇÃO

A leucemia mielóide aguda (LMA) é um grupo heterogêneo de doenças provocado pela proliferação clonal anormal das células da linhagem mielóide, ela é causada por células neoplásicas malignas ou leucêmicas que se infiltram na medula óssea, e ocorrendo a substituição das células normais por leucêmicas e proliferando células anormais, na maioria dos casos das leucemias há o bloqueio total ou parcial da maturação das células hematológicas. O estágio de maturação das células pode variar e deste modo determinar qual tipo de LMA o paciente tem (QUIXABEIRA, 2008).

Com o acúmulo das células leucêmicas imaturas chamadas de blastos na medula óssea (MO), ocorre o extravasamento dessas células para o sangue periférico, com isso

---

<sup>1</sup> Biomédico, Acadêmico no curso de Pós Graduação "Lato Sensu" em Hematologia e Banco de sangue (Maio de 2016 a Setembro de 2017) da Academia de Ciência e Tecnologia de São Jose do Rio Preto SP.

há o acometimento do fígado, baço, linfonodos e outros órgãos. É com a produção anormal das células da linhagem mielóide pela MO, causam frequentemente anemias, neutropenias e plaquetopenias (SILVA et al, 2006).

A classificação da leucemia mieloide aguda se baseia nos conceitos de duas entidades: Organização Mundial da Saúde (OMS) e o Grupo Franco-Americano Britânico (FAB). Pelos critérios da OMS, a Leucemia Mieloide Aguda é classificada de acordo com: linhagem celular, estágio de desenvolvimento da linhagem e o tipo de alteração cromossômica envolvida na etiologia da doença. A FAB dividiu a Leucemia Mieloide Aguda em nove subtipos, que podem ser diferenciados de acordo com a linhagem mieloide envolvida e o grau de desenvolvimento (BUENO, 2004).

Para o diagnóstico do tipo de LMA existem vários métodos laboratoriais como: mielograma e biopsia de medula com as colorações bioquímicas e citoquímica, imunofenotipagem, biologia molecular e a citogenética (FIGUEIREDO, 2011).

As principais mutações presentes nessa doença ocorrem nos genes FLT3 (FMS-like tyrosina kinase) e a NPM1 (Nucleofosmina 1). O gene FLT3 é uma proteína monomérica de tirosina quinase localizado no cromossomo 13q12, essa mutação acomete o receptor tirosino quinase que fica permanentemente ativado, então acarretando na proliferação descontrolada de células mielóides anormais. Esse gene tem como função normal a regulação da hematopoese responsável pela sobrevivida, proliferação e diferenciação celular (OLIVEIRA, 2008; LICÍNIO, 2010).

O gene NPM1 localizado no cromossomo 5q 35 que tem como função a síntese da fosfoproteína nucleofosmina, proteína responsável pela codificação, transcrição, manutenção, reparo do DNA e entre outras funções. Essas mutações nos genes podem classificar entre prognóstico favorável, intermediário e de mau prognóstico e assim determinar se o paciente terá uma maior ou menor sobrevivida após a realização do tratamento para a regressão da doença (VELLOSO et al, 2011; LICÍNIO, 2010; HELMAN et al, 2011).

A classificação da LMA foi se modificando ao longo dos tempos, no passado era classificada pelas características morfológicas das células, e pela coloração citoquímica que foram muito utilizadas pelo grupo Franco-Americano-Britânico (FAB) para classificação da doença, que nos tempos atuais não são muito usuais, mais serve como base na diferenciação das LMAs. A classificação estabelecida como a melhor para definir cada subtipo da LMA e a da Organização Mundial da Saúde (OMS) de 2008, que utiliza por meio da citogenética classificar as LMAs (LICÍNIO, 2010).

A revisão literária do tema principal tem como alvo diferenciar os tipos de prognóstico e o que os genes mutados acometem na proliferação da hematopoese nas principais mutações dos genes FLT3 e NPM1, que são responsáveis pelo aparecimento de alguns tipos de LMAs.

Esse trabalho teve como base a junção de vários artigos de fontes como scielo, google acadêmico, pubmed e livros, bibliografias utilizados no período de 2000 a 2011. Os termos utilizados para a busca dos materiais foram: leucemia mielóide aguda, principais mutações da leucemia mielóide aguda, mutação no gene FLT3 e NPM1.

## **Leucemia Mielóide Aguda**

As leucemias agudas são doenças raras, com incidência de 3% das neoplasias malignas, essa doença e de rápido agravamento, por isso a baixa sobrevida para pacientes não tratados com essa anomalia (LORAND-METZE, 2003).

A leucemia mielóide aguda (LMA) acomete células precursoras da hematopoese da linhagem mielóide, que são mutadas por umas séries de alterações genéticas, assim originando células leucêmicas que iram infiltrar-se na medula óssea (MO), então essas células multiplicarão e originarão mais células leucêmicas, causando uma proliferação desordenada de células imaturas e anormais, podendo ocorrer o bloqueio parcial ou total da maturação das células. Essas células imaturas são chamadas de Blastos, então a MO liberaram essas células mesmo imaturas e anormais para a corrente sanguínea, assim acometendo o enfartamento do fígado e baço que são responsáveis pela seleção e retirada de células anormais do organismo causando Hepatoesplenomegalia (BUENO, 2004; OLIVEIRA, 2008).

O acúmulo das células leucêmicas na MO inibe a proliferação e a maturação de toda linhagem hematológica, assim ocasionando leucopenias, anemias e plaquetopenias frequentemente (MARTINS, 2000).

O estágio ou a fase da maturação em que as células estão estacionadas é um importante fator para se classificar e determinar os tipos de células acometidas, e também diferenciar a linhagem mielóide da linfóide, a forma e a morfologia das células são úteis para o diagnóstico da doença e classificar em que subgrupo da LMA ela estão (SILVA et al, 2006).

A LMA e uma doença que acomete na sua maioria indivíduos adultos com mais de 60 anos de idade representando cerca de 80% dos casos, e em crianças é de cerca de 15% a 20% dos casos. A proliferação das células leucêmicas está diretamente relacionada ao mecanismo genético de replicação, responsável por regular o ciclo celular, assim a proliferação e a diferenciação das células ficam comprometidas (SILVA et al, 2006).

Segundo FIGUEREIDO (2011) as possíveis causas do surgimento da LMA esta relacionada a vários fatores externos e genéticos como:

- Radiação ionizante (quimioterapias);
- Fatores genéticos e congênitos (síndrome de down e entre outras);
- Algumas substâncias químicas e fármacos (substancias alquilantes);
- O benzeno que tem uma alta afinidade a células sanguíneas;
- Preposição a doenças hematológicas (anemia sideroblástica);
- Tabagismo (substâncias toxicas e benzeno)

## **Sinais e sintomas**

Os sinais e sintomas clínicos do paciente ocorrem quando a o aparecimento de anemias, cansaço, infecções, palidez, febre, hemorragias, sintomas neurológicos, dores ósseas, hipertrofia da gengiva, infiltrações cutâneas, linfadenopatia, hepatomegalia e a esplenomegalia. As células leucêmicas têm uma predileção de fixar-se em tecidos e órgãos que no período embrionário tiveram a função hemoformadoras, por isso, a frequente esplenomegalia e hepatomegalia (LORENZI, 2006).

As células leucêmicas quando atingem o sistema nervoso central estabelece sinais e sintomas parecidos com da meningite é cefaléia como tonturas, náuseas e entre outros. As hemorragias em alguns subgrupos aparecem por uma disfunção nos fatores de coagulação, pelo aumento da fibrinólise e no mau funcionamento dos progenitores das plaquetas (GIGLIO, 2007).

## Diagnóstico Laboratorial

A contagem diferencial das células sanguíneas é realizada a partir do hemograma, mielograma e da biopsia da MO, nos exames são encontrados na maioria das vezes plaquetopenia, níveis baixos de hemoglobina, anemias geralmente normocíticas e normocrômicas e neutropenia, e a presença de células anormais e imaturas (blastos) na circulação periférica e na MO. A morfologia e a contagem dos blastos são realizadas tanto no sangue periférico como no da MO, esses parâmetros servem como uma suspeita clínica da patologia (GIGLIO, 2007; OLIVEIRA, 2007).

Para classificação e diferenciação do subgrupo de LMA, são feito testes laboratoriais como colorações citoquímicas, imunofenotipagem, citogenética e a biologia molecular. A classificação do subgrupo da LMA e a determinação do gene acometido não servem somente como base para o diagnóstico, ela é imprescindível também na determinação do melhor tratamento da LMA e estabelece qual será o prognóstico da doença no paciente (SILVA et al, 2006).

### 1. Coloração citoquímica

A coloração citoquímica é utilizada para diferenciar a linhagem da leucemia mielóide da linfóide, correlacionando-a com outros testes servem como base na classificação das LMA. As colorações foram muito utilizadas na classificação de um grupo de hematologistas franco-americano-britânico (FAB) em 1976 (**Tabela 1**), porém ela sofreu muitas mudanças e modificações ao longo dos tempos, como o acréscimo da imunofenotipagem durante a sua utilização, já nos dias atuais não é muito usual para classificar as LMAs, mas ela é utilizada para o diagnóstico diferencial da doença (BUENO, 2004; FIGUEIREDO, 2011).

**Tabela 1.** Classificação FAB da LMA, características morfológicas e citoquímicas;

<b>Tipo</b>	<b>Nomenclatura FAB</b>	<b>Crítérios para diagnóstico</b>
<b>M0</b>	LMA minimamente diferenciada	≥30%de blastos na MO; blastos (+) para pelo menos um marcados monoclonal mielóide (CD13, CD33, MPO, CD11b ou CD15).
<b>M1</b>	LMA sem maturação	≥30% de blastos na MO; Presença de bastonetes de Auer variável , mieloperoxidase (MPO) e sudan Black B (SBB) (+) em > 3% dos blastos.
<b>M2</b>	LMA com maturação	Blastos indiferenciados e diferenciados até a fase promielócito que contém granações primárias abundantes. Bastonetes de Auer são frequente, MPO e SBB Black (+) em > 3% dos

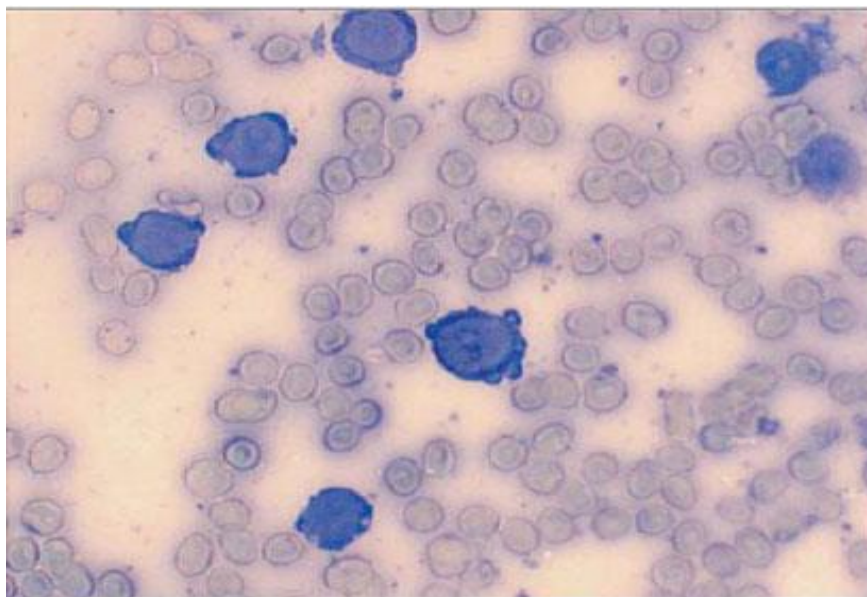
		blastos.
<b>M3</b>	Leucemia promielocítica aguda hipergranular	Alta % de promielocitos hipergranulares, com ou sem bastonetes de Auer. MPO e SBB (+).
<b>M4</b>	Leucemia mielomonocítica aguda	≥30% de blasto na MO; mieloblastos até segmentados neutrófilos de 30 a 79%; somatório de monoblastos, promonócitos e monócitos de 20 a 80%; alfa-naftil acetato esterase (ANAE) (+) nas células monocíticas; MPO e SBB (+).
<b>M5a</b>	Leucemia monocítica aguda sem maturação	Blastos grandes, com citoplasma abundante, levemente basófilo e com projeções citoplasmáticas. SBB e MPO (-); Bastonetes de Auer raros; ANAE (+) nas células monocíticas. > 80% das células monocíticas.
<b>M5b</b>	Leucemia monocítica aguda com maturação	>80% das células do sangue monocítico ou promonócitos. Na medula óssea, as células são mais indiferenciadas. <20% das células são cloroacetato esterase+. Alfa-naftil acetato esterase + nas células monocíticas.
<b>M6</b>	Leucemia eritróide aguda	>30% de blastos mielóides e >50% de blastos da série vermelha (eritroblastos); Frequentemente te >30% de megaloblastos, formas bizarras.
<b>M7</b>	Leucemia megacariocítica aguda	Células indiferenciadas >30%; Pequenas, semelhantes à linfoblastos no sangue. SBB e MPO (-); blastos demonstrados como megacarioblastos por marcadores (CD41 e CD61) por citometria de fluxo.

Adaptado de OLIVEIRA, 2004.

Blastos que apresentam bastões de Auer, ou blastos com alguns grânulos azurófilos e com citotóxica positiva para peroxidase ou sudan Black (**Figura 1**) podem ser classificados como blastos da linhagem mielóide. Os bastões de Auer (**Figura 2**) estão presentes nos subtipos da classificação FAB como M2, M3, M4 e raros na M5a, já em alguns subgrupos só a utilização da citotóxica não basta para classificação ai entram outros métodos como a imunofenotipagem e a citogenética (OLIVEIRA, 2007).

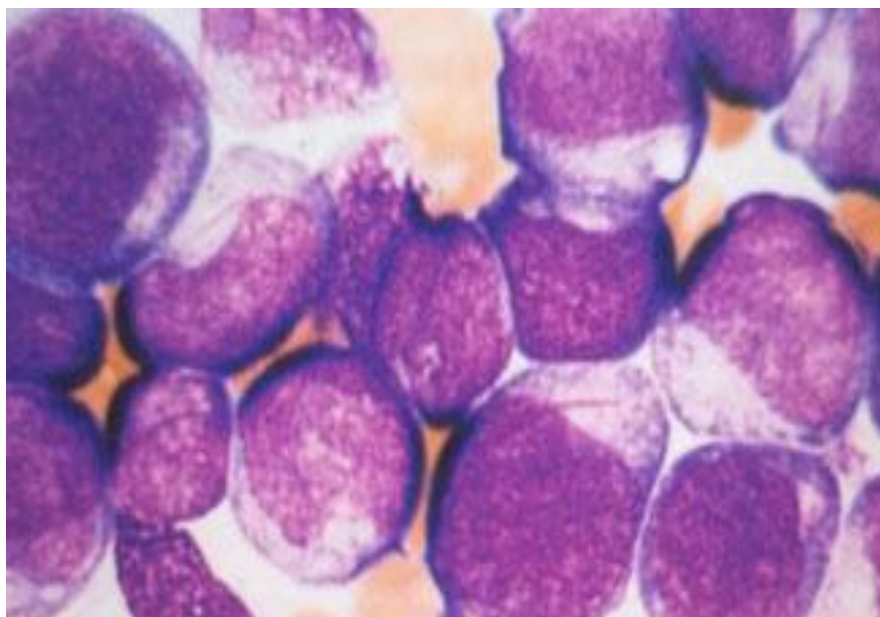
As colorações mais utilizadas para a classificação citotóxica são a mieloperoxidase (MPO); sudan black B (SBB); fosfatase alcalina e ácida; naftol AS-D; cloroacetato esterase (CEA); alfa-naftil acetato esterase (ANAE). A reação positiva nas colorações de MPO e SBB classifica a leucemia como LMA e em 60% dos subtipos da LMA os bastonetes de Auer são corados com esses corantes (SILVA et al, 2006);

**Figura 1.** Coloração Sudan Black B positiva nos megacariócitos.



Fonte: FARIAS, 2007.

**Figura 2.** Mieloblastos com presença de Bastonetes de Auer (corante de mieloperoxidase).



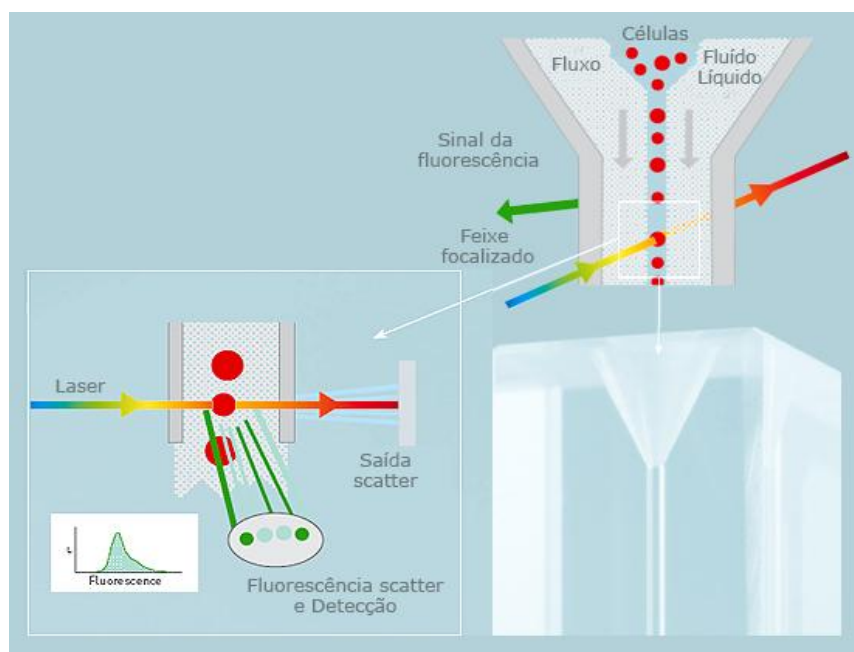
Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/index.php/ciencia/atlas-hematologico/atlas-hematologico-leucemias/>

## 2. Imunofenotipagem

A imunofenotipagem utiliza a técnica de citometria de fluxo (CMF) para diagnosticar, diferenciar a linhagem (mielóide ou linfóide), classificar e monitorar a LMA. A CMF utiliza anticorpos monoclonais marcados com fluorescência que avaliam propriedades celulares, essa técnica analisa um grande número de células em um curto período de tempo, através do

movimento das células numa solução isoeletrolítica, ao passar em um laser que atravessa as células, assim promovendo o desvio de um marcado fluorescente que é medido por um detector (**Figura 3**), assim determina as características fenotípicas das células leucêmicas e assim diferenciar os subtipos da LMA, essa técnica utiliza quase os mesmos mecanismos do aparelho de hemograma, que e a utilização do desvio de luz (SILVA et al, 2006; BERTHO, 2008).

**Figura 3.** O princípio da CMF.



Disponível em: <http://www.relma.com.br/hellma/citometria.html>

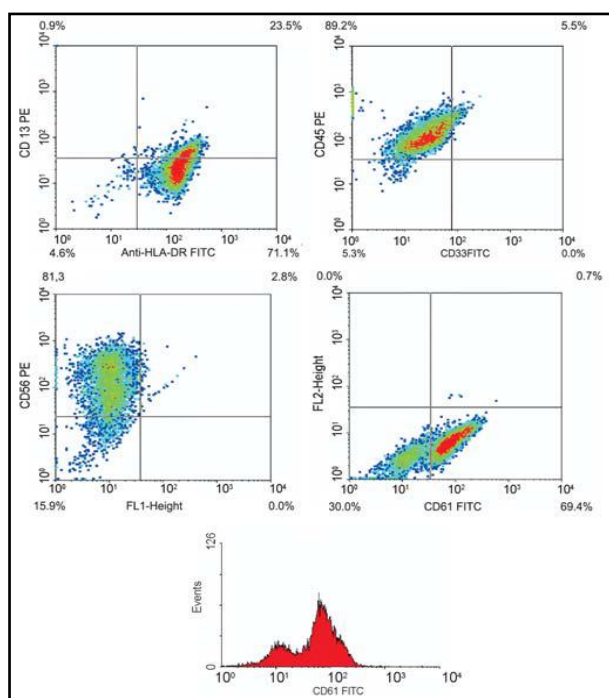
Cada fluorocromo usado para marcação dos anticorpos emite um padrão de emissão de luz. Existem vários tipos de fluorocromos que emitem luz com variados comprimentos de onda, assim determinando parâmetros de fluorescência que são processados por um computador que liberam gráficos e histogramas (**Figura 4**). A detecção de células hematopoéticas leucêmicas e de células normais é determinada por padrões fenotípicos, as células leucêmicas apresentam características imunofenotípicas de células normais, mais bloqueada em algum estágio de maturação (**Tabela 2**) (QUIXABEIRA, 2008).

**Tabela 2.** Marcadores específicos frequentemente expressados pelas células leucêmicas nas LMA:

Células	Marcadores de Antígenos
<b>Imaturidade celular</b>	CD34, CD38, CD117, CD133, HLA-DR
<b>granulocíticos</b>	CD13, CD15, CD16, CD33, CD65, MPOc
<b>monocíticos</b>	CD11c, CD14, CD64, CD4, CD11b, CD36
<b>eritróides</b>	CD235a
<b>megacariocíticos</b>	CD41, CD61, CD42

Adaptado de SILVA et al, 2006.

**Figura 4.** Histograma realizado pela CMF de uma leucemia megacariocítica aguda



Fonte: FARIAS, 2007.

A CMF possibilita a identificação de fenótipos mistos, aberrantes e de doenças com baixa taxa de expressão de anticorpos. A expressão de alguns antígenos, como CD7, CD11b, CD14, CD56 e CD34 podem estar associados a prognósticos adversos, já os que tem fenótipos aberrantes são de pelo menos 75% das LMAs. A imunofenotipagem também mostra características fenotípicas na mutação do gene NPM1 que expressão antigênica de CD13, CD33 e com a correlação das expressões antígenos monocíticos CD14 e CD11b e com a ausência da expressão de CD34 (VELLOSO et al, 2011).

### 3. Citogenética e Biologia molecular

A Citogenética e a Biologia molecular (BM) são utilizadas para a determinação dos genes mutados, com isso determinar o tipo de prognóstico e tratamento do paciente, e também para o acompanhamento evolutivo do tratamento da doença, se não houve uma recidiva. O prognóstico é determinado pelas alterações cromossômicas, como translocações, inversões, deleções e alterações de expressão gênica. Os métodos para a detecção dessas alterações no cromossomo são a reação polimerase em cadeia da transcrição reversa (RT-PCR) e a hibridização por fluorescência in situ (FISH) (PASQUALUCCI et al, 2006; QUIXABEIRA, 2008).

A translocação é o resultado de uma mudança de posição de um determinado gene ou fragmento para outro local do cromossomo, comprometendo assim a função normal do cromossomo. A deleção e inversões de fragmentos de cromossomos também estão relacionadas no aparecimento da LMA. Com o avanço da citogenética e a BM a determinação do gene mutado esta bem mais rápida e fidedigna, e dependendo do gene mutado da para saber se a



doença e de bom prognóstico ou não, e com isso, foi estabelecida uma nova classificação realizada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2008 para as LMAs, que estabeleceu 7 subgrupos e 9 subgrupos de LMA com anormalidades genéticas recorrentes (**Tabela 3**), possibilitando assim, determinar o prognóstico do paciente, com isso determinar o melhor tratamento da doença e monitorar como esta a resposta terapêuticas no paciente, assim podendo obter a remissão completa da doença (VELLOSO et al, 2011).

**Tabela 3.** Classificação das LMAs pela Organização Mundial da Saúde 2008.

Subgrupo	Alterações da LMA
1°	<p><b>LMA com anormalidades genéticas recorrentes:</b></p> <p>LMA com t(8;21)(q22;q22)</p> <p>LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;22)</p> <p>Leucemia promielocítica aguda com t(15;17)(q22;q21)</p> <p>LMA com t(9;11)(p22;q23)</p> <p>LMA com t(6;9)(p23;q34)</p> <p>LMA com inv(3)(q21;q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.3)</p> <p>LMA (megacarioblástica) com t(1;22)(p13;q13)</p> <p>LMA com mutação NPM1- entidade provisória</p> <p>LMA com mutação CEBPA- entidade provisória</p>
2°	LMA com alterações relacionadas à mielodisplasia
3°	Neoplasias mieloides relacionadas à terapêutica
4°	LMA não especificadas
5°	Sarcoma mieloide
6°	Proliferações mieloides relacionadas à síndrome de Down
7°	Neoplasia de célula dendrítica plasmocitoide blástica

Adaptado de VELLOSO, 2011.

Dependendo das alterações da citogenética, podemos dividir a LMA em: pacientes com prognóstico favorável, intermediário e de mau prognóstico. Os pacientes de prognóstico favorável incluem aqueles com t(15;17), t(8;21) e com Inv(16). O de prognóstico intermediário, que corresponde à maioria dos pacientes, inclui aqueles com cariótipo normal com translocação t(9;11). O de mau prognóstico é caracterizado por pacientes que apresentam alterações citogenéticas específicas, como deleção e monossomia dos cromossomos 5 e 7, além de cariótipo complexo (3 ou mais alterações), e de translocação t(6;9) e t (9;22) (VERHAAK et al, 2005; CHEN et al, 2006; HELMAN et al, 2011).

A determinação do cariótipo pela citogenética e um dos fatores mais importantes para a determinação do prognóstico da LMA, e assim atribuir ao paciente o melhor tratamento que devera ser feito (FRÖHLING et al, 2002).

Com os avanços da citogenética descobriu mutações genéticas da LMA com cariótipo normal, como alterações nos genes NPM1 (nucleofosmina), FLT3 (FMS-like tirosina kinase 3), CEPBA (CCAAT/ enhancer binding protein  $\alpha$ ), MLL PTD (mixed-lineage leukemia), NRAS (neuroblastoma RAS), BAALC (brain and acute leukemia gene) e ERG (v-ets erythroblastosis vírus E26 oncogene-like) (HELMAN et al, 2011).

As mutações genéticas são classificadas em dois grupos, mutações de classe I que estão envolvidos nos mecanismos de proliferação celular e as de classe II que são mutações que afetam a transcrição, que prejudicam a diferenciação hematopoiética. Nas mutações cerca de 50% das LMAs são de cariótipo normal, as mutações mais frequentes são as mutações dos genes NPM1 classificado com classe II com cerca de 45 a 55% dos casos e FLT3 classe I com 35 a 45% dos casos de LMAs, as mutações menos frequentes são a: MLL ( leucemia de linhagem mista), NRAS, BAALC, ERG e entre outras (VELLOSO et al, 2011).

### **Mutação no gene NPM1**

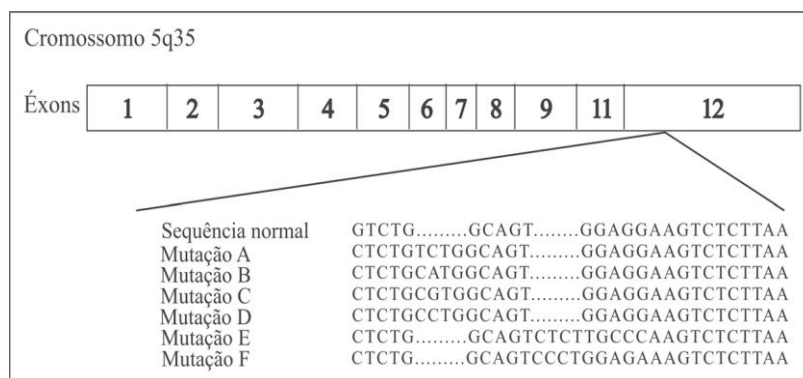
O gene NPM1 é responsável pela síntese da nucleofosmina, conhecida também como B23, numatrina1 e ou NO38, localiza-se no cromossomo 5q35, esse gene contém 12 éxons, ele inclui um domínio N-terminal necessária para a formação de dímeros e hexâmeros NPM, a heterodimerização domínio implicado no direcionamento de outras proteínas, tais como nucleolin, ciclina-dependente e inibidor da quinase, e também um C-terminal de ligação de ácido nucleico domínio essencial, para a associação com o RNA envolvido em processamento ribossomal de RNA (CHEN et al, 2006).

A NPM1 é uma fosfoproteína nucleolar que realiza o transporte entre o núcleo e o citoplasma e tem contato com várias outras proteínas. A mutação mais frequente e a que ocorre a duplicação de quatro pares de bases no éxon 12 ocorre em cerca de 85% dos casos. As alterações no gene como inserções ou deleções de fragmentos, as alterações no gene e classificado de A a F (**Figura 5**), em estudos recentes revelam que cerca de 75 a 80% dos casos das alterações no gene NPM1 são classificadas como tipo A. Mutações NPM1 classificadas com A são de prognóstico favorável e os classificados com não A são de prognóstico desfavorável (SUZUKI et al. 2005; LICÍNIO, 2010; VELLOSO et al, 2011).

Pacientes com mutação NPM1 associada com a FLT3-DIT o seu prognóstico será estabelecida como desfavorável. (OLIVEIRA, 2008).

O gene NPM1 está envolvido também com o processamento de RNA, manutenção genômica, participação nos processos de reparo do DNA e na regulação da transcrição por meio da condensação e descondensação da cromatina. As mutações NPM1 estão presentes em várias células mielóides e são detectadas nas linhagens mielóides, monocíticas, eritróides e megacariócitos (PASQUALUCCI et al, 2006; RAU, 2009).

Além da detecção das alterações no gene pela genética, existe um meio de detectar as alterações pelas características fenotípicas analisando a proteína anormal no gene NPM1. A maioria dos casos das mutações no gene NPM1 é de cariótipo normal e uma minoria de anormal, entre os dois casos não existe diferença na sobrevida dos pacientes, por isso independente do cariótipo elas são consideradas como um só subtipo (LICÍNIO,2010).

**Figura 5.** Classificação da mutação no gene NPM1.

Fonte: LICÍNIO, 2010.

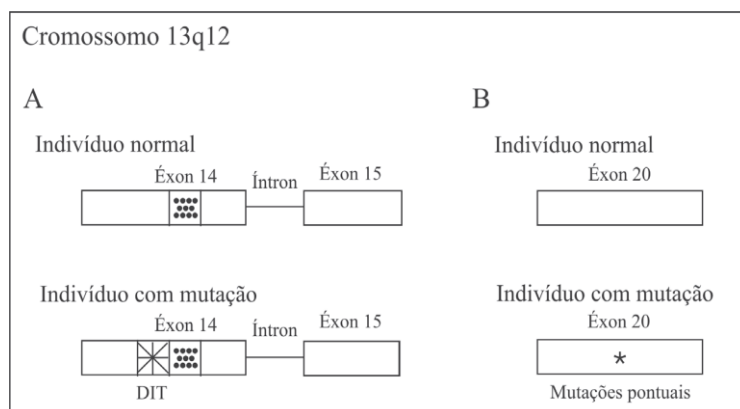
Além da detecção das alterações no gene pela genética, existe um meio de detectar as alterações pelas características fenotípicas analisando a proteína anormal no gene NPM1. A maioria dos casos das mutações no gene NPM1 é de cariótipo normal e uma minoria de anormal, entre os dois casos não existe diferença na sobrevida dos pacientes, por isso independente do cariótipo elas são consideradas como um só subtipo (LICÍNIO,2010).

### Mutação no gene FLT3

O gene FLT3 é um membro da família da tirosina de classe III do receptor de tirosina quinase, responsável pela sobrevida, proliferação e diferenciação das células hematopoiéticas, esse gene localiza-se no cromossomo 13q12. Nessa mutação ocorre uma modificação na estrutura do receptor, assim causando a superexpressão da proteína FLT3, resultando na ativação do receptor tirosina-quinase permanentemente independente de ligante, então acarretando no aumento proliferativo descontrolado, e na inibição da apoptose das células mielóides anormais ou com alterações, aproximadamente 30% dos casos de LMA fazem parte da mutação do gene FLT3 (VELLOSO et al, 2010; WHITMAN et al, 2001; OLIVEIRA,2008).

A mutação é dividida em dois tipos principais de alteração: Duplicação Interna em Tandem (DIT) e mutações pontuais (D835) (**Figura 6**).

O subtipo DIT é uma alteração que ocorre nos éxons 14 ou 15 acometem cerca de 20 a 35% dos casos de LMA é ela é a segunda mutação mais frequente na LMA, a incidência de FLT3-DIT para pessoas de mais de 60 anos e de 30 a 35% dos casos e já em crianças são de 20 a 25% dos casos. A alteração DIT é responsável pela autofosforilação dos receptores FLT3 e assim promovendo a ativação permanente desse receptor, e então aumentando a proliferação e ocorrendo um crescimento aberrante das células. As reações clínicas da alteração nesse gene são a leucocitose e alto percentual de blastos na medula e na circulação sanguínea, essa mutação é determinada como prognóstico desfavorável. Em alguns estudos realizados quando a mutação FLT3-DIT conjunto com outra mutação como na t(15;17) ela é estabelecida como uma mutação de prognóstico favorável, mais já com a t(6;9) e de prognóstico desfavorável (LICÍNIO, 2008).

**Figura 6.** Mutações no gene FLT3, (A) mutação DIT, (B) mutações pontuais.

Fonte: LICÍNIO, 2010.

Mutação pontual D835 ou FLT3-TKD ela ocorre na posição 835 do éxon 20, por isso chamada de D835, acomete cerca de 8 a 12% dos casos de LMA, ela e de um prognóstico desfavorável, em estudos in vitro demonstram que ela e resistentes a terapias convencionais, e só respondem ao tratamento se for especificas para o receptor. A mutação D835 altera a funcionalidade da alça do segundo domínio quinase que esta localizada nos receptores de tirosina-quinase, a função dele e de bloquear o acesso de ATP e do substrato para o domínio quinase, quando o receptor está inativo. A mutação D835 provoca a ativação permanente do receptor quinase provocando uma proliferação descontrolada de blastos na MO (YANADA et al, 2005; OLIVEIRA, 2008; LICÍNIO, 2010).

O prognóstico das mutações da LMAs é muito relativo, pois a estudos que relatam que a presença de mais de uma mutação em pacientes, cujo uma mutação e considerado de prognóstico favorável com a presença de outra desfavorável, essa mutação será considerada de prognóstico desfavorável (Tabela 4) (SUZUKI et al, 2005; OLIVEIRA, 2008).

**Tabela 4.** Classificação da LMA de acordo com o prognóstico pela citogenética e molecular:

Prognóstico	Alteração citogenético e molecular
<b>Favorável</b>	t(15,17)(q22;q21)-PML-RARA t(8;21)(q22;q22)-RUNX1T1-RUNX1 inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.;q22)-CBFβ-MYH11 NPM1 mutado (cariótipo normal)
<b>Intermediário I</b>	CEBPA mutado (cariótipo normal) NPM1 mutado e com FLT3-ITD (cariótipo normal) NPM1 selvagem e com FLT3-ITD (cariótipo normal) NPM1 selvagem e sem FLT3-ITD (cariótipo normal)
<b>Intermediário II</b>	T(9;11)(p22;q23)- MLLT3-MLL Anormalidades citogenéticas não favoráveis ou desfavoráveis
<b>Desfavorável</b>	Inv(3)(q21;q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.3)-RPN1-EVI1

t(6;9)(p23;q34)-DEK-NUP214

t(v;11)(v;q23)-rearranjo MLL

-5/5q-, -7/7q-

Cariótipo complexo

Fonte: VELLOSO, 2011.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

A Leucemia mielóide aguda é considerada um dos grandes problemas de saúde pública, pois ela é uma doença neoplásica que afeta células sanguíneas, provocando assim a proliferação de células imaturas diferenciáveis e indiferenciáveis pela medula óssea, essa doença acomete principalmente pessoas idosas.

Foi possível observar por meio do trabalho que os testes laboratoriais vêm evoluindo cada vez mais com o avanço da tecnologia e com as novas técnicas, fato esse, que proporciona o diagnóstico cada vez mais preciso e rápido da doença.

A melhora, rapidez e eficácia do diagnóstico da leucemia mielóide aguda foi possível pela utilização dos vários métodos laboratoriais, como a utilização do hemograma, mielograma, colorações citoquímicas, imunofenotipagem, citogenética e a biologia molecular favorecendo a descoberta da doença cada vez mais precocemente e com uma melhor exatidão na determinação do tipo de leucemia mielóide aguda, assim, estabelecendo o tratamento adequado ao paciente.

Conclui-se também que com o auxílio da citogenética e da biologia molecular para o diagnóstico da doença, foi possível determinar as duas principais mutações nos genes causadores da leucemia mielóide aguda como a mutação no gene NPM1 e FLT3, assim, com a determinação do gene mutado é de suma importância na determinação do prognóstico e do tratamento adequado da doença, observou-se também que a frequência das mutações no gene NPM1 e de um prognóstico favorável, ou seja, de maior chance de remissão e regressão completa da doença, ao contrário do gene FLT3 que e de um prognóstico desfavorável.

Por intermédio do estudo observou-se também a importância das diversas áreas como a hematologia, citoquímica, imunologia, citogenética e a biologia molecular, juntas, auxiliam no diagnóstico da doença.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BERTHO, Álvaro Luiz. Citometria de fluxo. FIOCRUZ, Rio de Janeiro: 2008. Disponível em: <<http://picf.ioc.fiocruz.br/Apostila.pdf>> Acessado em: 25/08/2017.

BUENO, N.D. et al. O transplante de medula óssea na leucemia mielóide aguda: análise de 80 pacientes transplantados no complexo do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. Rio de Janeiro, v.26, n.2, p.84-92, 2004.

CHEN, Weina et al. Nucleophosmin Gene Mutations in Acute Myeloid Leukemia. Arch Pathol Lab Med, Vol. 130: p.1687-1692, 2006.

FARIAS, Mariela G. et al. Infiltração cutânea na leucemia megacariocítica aguda com expressão de CD56. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, Vol. 29(2): p.185-188, 2007.

FIGUEIREDO, Maria Stella; KERBAUY, José Elias Curi; LOURENÇO, Dayse Maria. *Guia de Hematologia*. – Barueri, SP: Manole, 2011. - (Série Guias de Medicina Ambulatorial e Hospitalar da UNIFESP-EPM / editor Nestor Schor).

FRÖHLING, Stefan et al. Prognostic significance of activating FLT3 mutations in younger adults (16 to 60 years) with acute myeloid leukemia and normal cytogenetics: a study of the AML Study Group Ulm. *Blood journal*, Vol. 100: p.4372-4380, 2002.

GIGLIO, Del Auro; KALIKS, Rafael. *Princípios de hematologia clínica*. – Barueri, SP: Manole, 2007.

HELMAN, Ricardo et al. Leucemia mielóide aguda: atualidade brasileira de diagnóstico e tratamento. *Einstein*, Vol. 9(2 Pt 1): p.179-183, 2011.

<<http://www.ciencianews.com.br/index.php/ciencia/atlas-hematologico/atlas-hematologico-leucemias/>> Acessado em: 25/08/2017.

<<http://www.relma.com.br/hellma/citometria.html>> Acessado em: 20/08/2017.

LICÍNIO, Marley Aparecida; SILVA, Maria Cláudia Santos. Importância da detecção das mutações no gene FLT3 e no gene NPM1 na leucemia mielóide aguda; Classificação da Organização Mundial de Saúde 2008. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, Vol. 32(6): p.476-481, 2010.

LORAND-METZE, Irene. O tratamento da Leucemia Mielóide Aguda no Brasil: o que já progredimos e o que podemos melhorar. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, Vol. 25(1): p.1-2, 2003.

LORENZI, Therezinha Ferreira; NETO, Silvano Wendel. *Hematologia e hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica*. – São Paulo: Editora Atheneu, 2005.

MARTINS, S. L. R., FALCÃO, R. P. A importância da imunofenotipagem na Leucemia Mielóide Aguda. *Revista da Associação Médica Brasileira*, Vol. 46: n.1, São Paulo, 2000.

OLIVEIRA, Raimundo Antônio Gomes; NETO, Adelino Poli. *Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais*. – São Paulo: Roca, 2004.

OLIVEIRA, Raimundo Antônio Gomes. *Hemograma: Como fazer e interpretar*. – São Paulo: Ed. LMP (Livraria Médica Paulista), 2007.

OLIVEIRA, Vanessa Cristina; SOARES, Jerusa Batistele; PAIVA, Sabrina Guimarães; PARDINI, Victor Cavalcanti; FERREIRA, Alessandro Clayton de Souza. Pesquisa Molecular das Mutações ITD e D835 do Gene FLT3: um importante valor prognóstico para pacientes com Leucemia Mielóide Aguda. *NewsLab*, 2008.

PASQUALUCCI, Laura et al. Mutated nucleophosmin detects clonal multilineage involvement in acute myeloid leukemia: impact on WHO classification. *Blood Journal*, Vol. 108: p.4146-4155, 2006.

QUIXABEIRA, Valéria Bernadete Leite; SADDI, Vera Aparecida. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. *RBAC*, Vol. 40(3): p.199-202, 2008.

RAU, Rachel, BROWN, Patrick. Nucleophosmin (NPM1) mutations in adult and childhood acute myeloid leukaemia: towards definition of a new leukaemia entity. *Hematol Oncol*, Vol.27: p.171–181, 2009.

SILVA, Grazielle C. et al. Diagnóstico laboratorial das leucemias mieloides agudas. *Bras Patol Med Lab*, Vol. 42: p77-84, 2006.

SUZUKI, Tatsuya et al. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood journal*, Vol.106: p.2854-2861, 2005.

VELLOSO, Elvira Deolinda Rodrigues Pereira et al. Alterações Citogenética e moleculares em leucemia mielóide aguda: revisão e descrição de casos. *Einstein*, Vol. 9(2 Pt 1): p.184-189, 2011.

VERHAAK, Roel G. W et al. Mutations in nucleophosmin (NPM1) in acute myeloid leukemia (AML): association with other gene abnormalities and previously established gene expression signatures and their favorable prognostic significance. *Blood Journal*, Vol. 106: p. 3747-3754, 2005.

WHITMAN, Susan P. et al. Absence of the Wild-Type Allele Predicts Poor Prognosis in Adult de Novo Acute Myeloid Leukemia with Normal Cytogenetics and the Internal Tandem Duplication of FLT3: A Cancer and Leukemia Group B Study. *Cancer Research*, Vol.61: p.7233-7239, 2001.

YANADA, M. et al. Prognostic significance of FLT3 internal tandem duplication and tyrosine kinase domain mutations for acute myeloid leukemia: a meta-analysis. *npg*, Vol. 19: p.1345–1349, 2005.