

LEUCEMIA MIELÓIDE CRÔNICA

Autor: *Keila Rejane Guimarães Vilela*

Resumo:

A leucemia mielóide crônica é uma doença mieloproliferativa que se origina a partir de uma célula mãe hematopoiética anormal resultando em proliferação clonal de células progenitoras mielóide malignas e número excessivo de células mielóides em todos os estágios de maturação. Esta produção anormal altera a produção de leucócitos na medula óssea. A LMC progride por meio de três fases da doença, caracterizadas por fase crônica, fase acelerada e fase blástica ou final. O tratamento é feito com quimioterapia utilizando de preferência o Interferon Alfa, mas chances de cura se dá com o Transplante de Medula Óssea.

Palavras Chaves: Leucemia Mielóide Crônica, Cromossomo Philadelphia, Células Blásticas.

INTRODUÇÃO

A leucemia mielóide crônica (LMC) é uma doença mieloproliferativa do Sistema Hematopoiético, caracterizada pela expansão clonal de uma célula tronco primitiva e pluripotente denominada “stem cell” ou célula tronco que tem a capacidade de se diferenciar em células mielóides, monocíticas, megacariocíticas e células B e T.

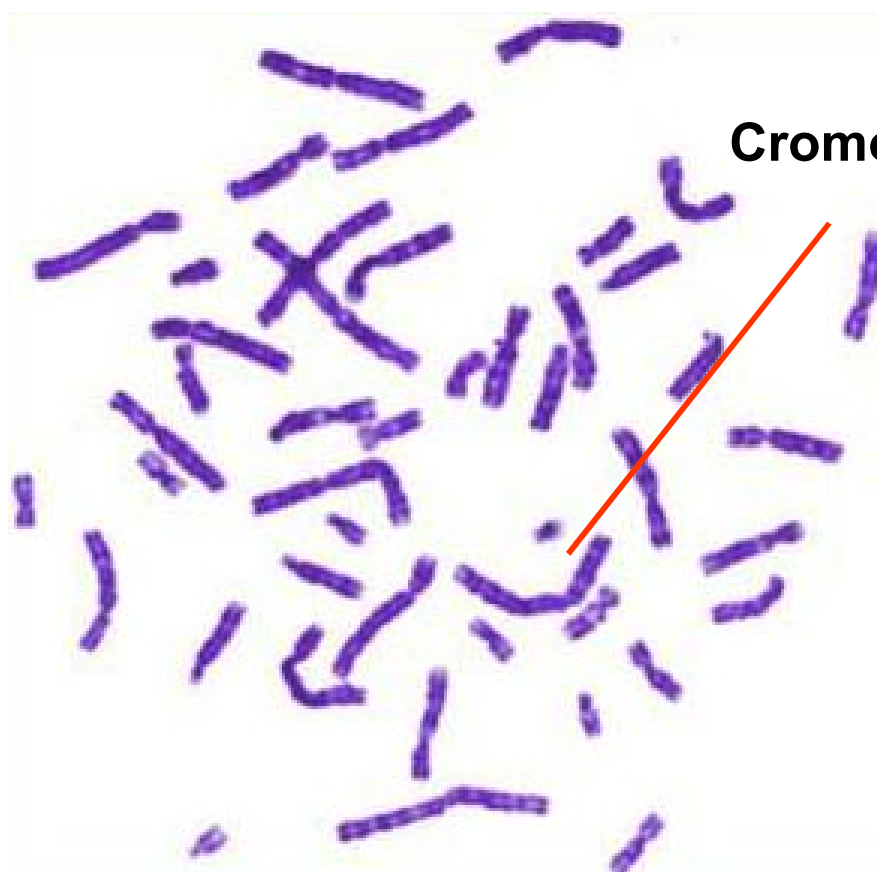
Sabe-se que todos os seres humanos possuem 46 cromossomos dispostos em 22 pares que são numerados de 1 a 22, além do par de cromossomos sexuais (XY no homem e XX na mulher). O cromossomo Philadelphia é uma anormalidade envolvendo os cromossomos de número 9 e 22 que se quebram e trocam partes entre si, formando um gene quimérico BCR/ABL, que está relacionado à LMC. Trata-se, portanto, de uma anormalidade genética adquirida, não hereditária; sendo que as causas que levam a essa alteração são geralmente desconhecidas.

**Artigo de conclusão do curso de
pós-graduação em Hematologia
Laboratorial (maio de 2006 a julho de**

2007). Endereço para correspondência: AC&T. Rua Bonfá Natale, 1860. CEP: 15020-130. São José do Rio Preto. SP. e-mail: a.c.t.@terra.com.

O cromossomo Philadelphia (Ph) foi assim chamado por ter sido descoberto na Universidade da Pensilvânia. Apesar deste “cariótipo marcador” ser encontrado em 90% dos pacientes com LMC, o cromossomo Ph também pode ser encontrado em Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA).

Cromossomo Filadélfia – t(9;22)(q34;q11)



Cromossomo Filadélfia

A Leucemia Mielóide Crônica também chamada de Leucemia Granulocítica Crônica, é uma enfermidade insidiosa, lenta, que compromete freqüentemente pessoas já adultas de idade média ou avançada.

Na LMC, o termo "crônica" significa que a doença age vagarosamente e que tem progressão lenta. O termo "mielóide" significa que o tipo de células anormais que está sendo produzido em grande escala, é proveniente da medula óssea.

SINAIS E SINTOMAS

O estabelecimento da leucemia mielóide crônica é associado a sintomas que geralmente se desenvolvem gradualmente. A maioria dos pacientes apresenta:

1. Cansaço sem explicação,
2. Mal-estar súbito que passa a ser freqüente, podem notar falta de fôlego durante as atividades físicas,
3. Dores pelo corpo, nos ossos e articulações, e até um estado febril,
4. Podem apresentar palidez devido à anemia,
5. Desconforto no lado esquerdo do abdome devido ao aumento do tamanho do baço,
6. Suor excessivo,
7. Perda de peso,
8. Intolerância a temperaturas mais altas,
9. Manchas na pele (como hematomas).

EVOLUÇÃO DA DOENÇA

A evolução da LMC ocorre em três fases: fase crônica, fase acelerada e fase blástica ou final.

A fase crônica pode durar de 5 a 6 anos, com sinais e sintomas relativamente leves. caracteriza-se por um aumento de precursores mielóides e células maduras na medula óssea, sangue periférico e células extra-medulares. A partir do momento que a doença avança para a fase acelerada, aumenta o número de células blásticas na corrente sanguínea e a sintomatologia se tornam mais pronunciadas; pode durar de 4 a 6 meses. Logo após, poderá vir a fase final, a fase blástica, onde os sintomas podem ser graves,

comprometendo a sobrevivência dos pacientes. Dura poucos meses e se caracteriza por rápida expansão das células blásticas mielóides ou linfóides diferenciadas.

A tabela abaixo auxilia na definição da fase em que o paciente se encontra, bastando a presença de um dos critérios:

	Fase Crônica	Fase Acelerada	Crise Blástica
Blastos	< 10%	10-19% (SP ou MO)	> 20% (SP ou MO) ou proliferação extramedular
Baço		Aumento de tamanho sem resposta a terapia	
Basófilos SP		> 20%	
Plaquetas		< 100.000/mm ³ ou > 100.000/mm ³	
Cariótipo	t (9,22)	Evolução clonal i(17q), + 8, + 21, + 19, + Ph, etc.	
Biópsia de medula óssea			Focos ou agrupamentos de blastos
Infiltração			Infiltração extra-medular

ESTATÍSTICA

No Brasil e em outros países, a Leucemia representa numericamente cerca de 2% de todos os tipos de câncer, sendo uma das poucas neoplasias que atingem não só adultos e idosos, mas também menores de 14 anos. É responsável por quinze por cento das leucemias em adultos e menos de cinco por cento dos casos de leucemia infantil.

Segundo as estatísticas, a incidência da leucemia mielóide crônica no mundo varia de um a dois casos/ano a cada 100 mil habitantes.

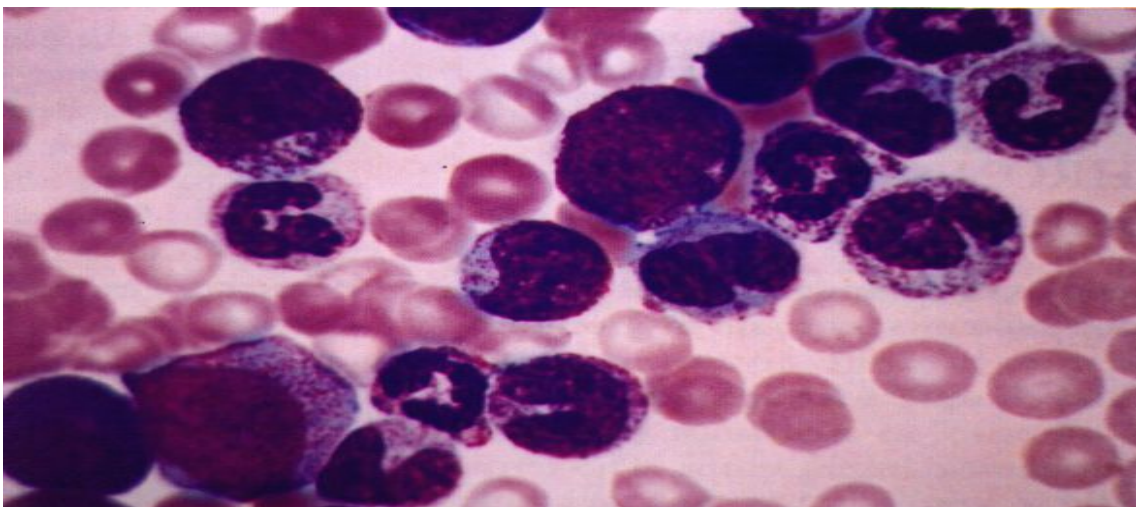
A vida média dos pacientes após o diagnóstico é em torno de 5 a 8 anos, sendo que cerca de 3% dos pacientes vivem mais de 15 anos.

DIAGNÓSTICO

Para descobrir a causa dos sintomas, o médico faz perguntas sobre o histórico e realiza o exame físico, além de testes de sangue. Os exames laboratoriais são hemograma completo, aspiração e biópsia da medula óssea, pesquisa do cromossomo Philadelphia. Para o diagnóstico genético os testes atualmente disponíveis são: citogenética padrão, hibridização in situ por fluorescência (FISH), reação de cadeia de polimerase (PCR) e através de análise por Northern e Southern blot. A análise citogenética é considerada padrão ouro, teste fundamental para estabelecer o diagnóstico de LMC, podendo revelar a presença do cromossomo Philadelphia em 90% dos pacientes.

1. *Hemograma:*

A fórmula leucocitária é, em geral, característica, notando-se intenso aumento de granulócitos em circulação, que pode oscilar entre 50.000 a 1.000.000 por microlitro, com a presença de todos os elementos representativos deste setor, desde o mieloblasto até o neutrófilo segmentado, predominando formas intermediárias (mielócitos e metamielócitos) e maduras (bastonetes e segmentados). Há, freqüentemente, aumento do número de basófilos e de eosinófilos, atingindo valores de até 15 a 20%. A série vermelha é variável, geralmente com anemia e presença de eritroblastos. As plaquetas geralmente encontram-se elevadas.

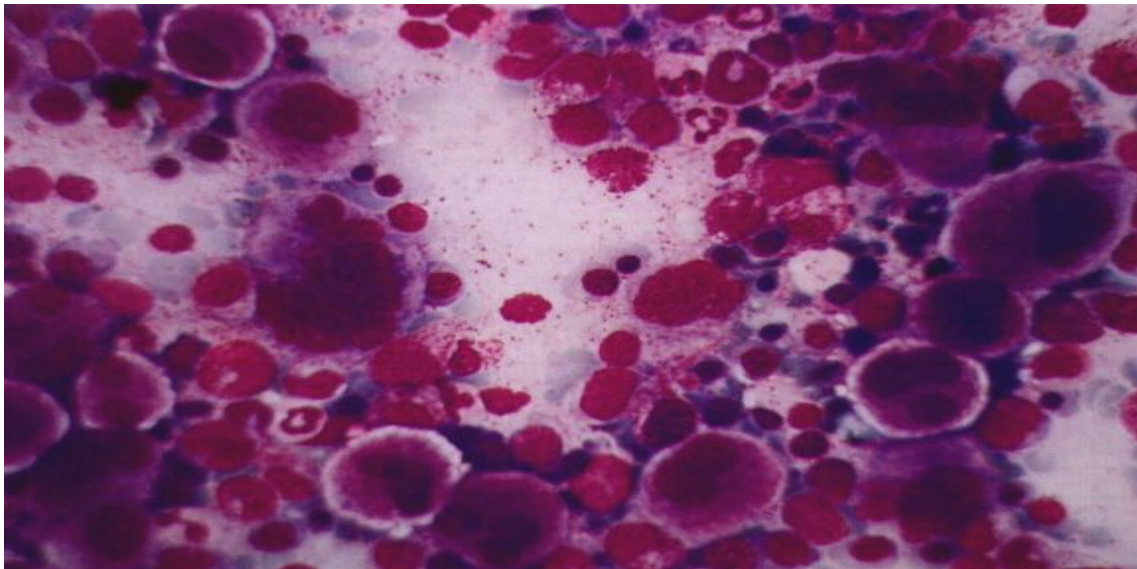


Esfregaço de sangue periférico na LMC

2. Mielograma:

É um exame de grande importância para o diagnóstico, através da análise da morfologia das células e com o uso de provas citoquímicas. O mielograma é usado também para a avaliação da resposta ao tratamento, indicando se morfologicamente, as células leucêmicas foram erradicadas da medula óssea (remissão completa medular). Este exame é feito sob anestesia local e consiste na aspiração da medula óssea seguida da confecção de esfregaços em lâmina de vidro, para exame ao microscópio. Os locais preferidos para a aspiração são o esterno (parte superior do peito) e a parte posterior do osso ilíaco (bacia). Durante o tratamento são feitos vários mielogramas.

O aspirado de medula óssea é hipercelular às custas de aumento marcante de neutrófilos e precursores o que leva a relação leuco-eritroblástica para 20:1. A seqüência de diferenciação é mantida, mas com predomínio de células mais jovens como promielócitos e mielócitos. O número de megacariócitos também pode estar aumentado. Observam-se ainda macrófagos contendo pigmentos azulados ou por vezes assemelhando-se a células de Gaucher.



Medula óssea na LMC mostrando hipercelularidade de leucócitos e muitos megacariócitos.

3. Biópsia de medula óssea

Também mostra a hiper celularidade intensa com aumento de granulócitos e de megacariócitos. Pode demonstrar fibrose reticulínica detectada já na coloração de hematoxilina & Eosina habitual, mas com evidente aumento de fibras de reticulina nos cortes corados especificamente para tal.

4. Análise Citogenética:

O cromossomo Philadelphia é uma falha que ocorre nos cromossomos 9 e 22, que se quebram e trocam partes entre si, fenômeno este conhecido com translocação.

Na translocação t(9:22), o gene c-ABL se associa a uma porção de um gene do cromossomo 22, denominado BCR (breakpoint cluster region).

O ponto de quebra do gene BCR do cromossomo 22 está localizado em uma região de 5.8 kb, chamada de "major breakpoint cluster region" M-bcr, que possui 5 exons (b1 a b5) correspondendo aos exons 12 a 16 do gene BCR (Groffen [4] et al. 1991)

Geralmente a quebra no M-bcr ocorre dentro de introns localizados entre os exons b2 (e 13) e b3 (e 14) ou exons b3 (e 14) e b4 (e 15), que se juntam ao axon a2 do ABL formando o gene quimérico b2a2 ou b3a2, sendo 75 pares de bases diferentes um do outro.

Enquanto parte da extremidade 5' do BCR permanece no cromossomo Ph, formando a seqüência 5' do novo gene híbrido, a seqüência do BCR localizada a 3' do ponto de quebra, vai para o cromossomo 9q+ gerando um gene híbrido ABL/BCR que é expresso na maioria dos pacientes com LMC Ph+ ou LLA Ph+. A proteína produzida quanto o ponto de quebra se encontra no M-bcr, p210, é característica da LMC, mas pode ser encontrada em LLA Ph+, M-bcr+ em menor porcentagem.

Durante mais de uma década, análises citogenéticas têm sido utilizadas com o método de monitoramento do tratamento quimioterápico em pacientes com LMC. Entretanto, esse procedimento necessita de aspiração da medula, o que é invasivo ao paciente e freqüentemente doloroso, além de incluir uma taxa de falhas na obtenção de metáfases analisáveis. Com o método de Reverse Polimerase Chain Reaction (RT-PCR) é observada uma correlação com resultados citogenéticos superior aos outros métodos e uma sensibilidade de detecção do rearranjo também superior ($1:10 \times 10^6$), tornando-se um método padrão altamente sensível de detecção do rearranjo BCR/ABL em pacientes com leucemia mielóide crônica e muito útil na detecção de células leucêmicas residuais após quimioterapias ou transplante de medula óssea, bem como na confirmação de diagnósticos citogenéticos iniciais falhos.

Vários grupos se dedicam a estudar correlações entre a expressão do gene quimérico BCR/ABL e a progressão da doença para a fase aguda, como também as modificações clínicas de cada estágio, sendo essas algumas das questões mais debatidas em LMC.

5. Métodos Moleculares:

Os métodos moleculares para detecção do rearranjo BCR/ABL mais freqüente usados são a hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) e a reação em cadeia da polimerase (PCR) após a conversão do mRNA extraído das células leucêmicas em DNA complementar ou cDNA. Para etapa inicial utiliza-se uma enzima conhecida como transcriptase reversa (RT), daí o nome do método:

RT-PCR

Ainda mais recentemente, uma variante do método de RT-PCR, com potencial de oferecer resultados quantificáveis para o transcrito BCR/ABL, vem se mostrando útil no seguimento desses doentes. Trata-se do PCR em tempo-real ou *real-time PCR*. Como conseqüência da utilização de detecção com química fluorescente, o método é mais

sensível, mais rápido, oferece maiores controles de qualidade, permitindo auditar-se o processo de amplificação e elimina a contaminação no laboratório. Este último ponto é crítico e motivo de grande preocupação para laboratórios que empregam métodos como PCR e a pouca chance de contaminação com *real-time PCR* se dá porque o tubo de reação não precisa ser aberto ao seu final (já que a detecção ocorre *on-line*, durante os ciclos de amplificação).

Com essas características, o *real-time PCR* permite o acompanhamento dos pacientes portadores de LMC ao longo de intervenções que promovam remissão duradoura da doença. Os diferentes níveis do transcrito BCR/ABL encontrados ao longo do tratamento da LMC e o seu valor prognóstico ainda precisam ser estabelecidos.

O FISH e o RT-PCR, ao diagnóstico, têm sido reservados para casos em que o cariótipo não apresenta alterações, mas a suspeita de LMC persiste, ou em situações de fibrose medular, onde não há material disponível para análise citogenética. No entanto, métodos moleculares não permitem observação de alterações concomitantes. Em 5% dos casos de LMC são identificados translocações complexas (Ph variantes) envolvendo os cromossomos 9, 22 e pelo menos mais um cromossomo. A utilização de sondas de FISH tem revelado dados muito importantes a respeito da LMC (Chauffaille et al, 2001).

A primeira geração de sondas foi produzida de modo a se ter um sinal de uma cor hibridizando com o gene ABL (por exemplo, vermelho), um sinal de outra cor para o gene BCR (por exemplo, verde). Assim, em uma célula normal são visualizados 4 sinais isolados, dois de cada cor, enquanto que na célula portadora de translocação t(9;22) são observados um sinal de cada cor isolado além de um sinal de mistura das duas cores (amarelo) correspondendo à fusão dos genes BCR/ABL.

No entanto, como há a possibilidade de mera justaposição geográfica na célula de dois sinais imitando uma falsa fusão, tem-se que estabelecer para cada laboratório um padrão de normalidade através da análise de células de indivíduos controle saudáveis. Este valor de referência varia desde 3 a 15% conforme a habilidade e capacidade técnica de cada serviço (Gozzetti & LeBeau, 2000).

A segunda geração de sondas surgiu com o propósito de sobrepujar este inconveniente, diminuir a taxa de falso positivo e ganhar maior sensibilidade. Foi moldada de tal forma que a seqüência que hibridiza ao ABL é maior que a anterior e, conseqüentemente, liga-se à porção restante do ABL no cromossomo 9 emitindo um sinal extra da mesma cor (vermelho). Assim, em célula com Ph são observados um sinal de fusão (amarelo), dois sinais sendo um de cada cor (um vermelho e um verde) indicando

os homólogos normais, além de um sinal extra menor (vermelho) correspondente ao resto do gene ABL que permaneceu no cromossomo 9. Com isto, só é computada como tendo a translocação a célula que apresentar este sinal extra. Desta forma, o nível de detecção aumenta e a taxa de normalidade, ou seja, a presença de falsos rearranjos em indivíduos normais, cai para menos de 1%.

A terceira geração de sondas, chamada de dupla fusão, é construída com seqüência maior não só para o ABL, mas também para o BCR, de tal sorte que serão marcadas as fusões BCR/ABL no cromossomo 22, mas também a inversa ABL/BCR no 9, traduzidas por dois sinais de cores fundidas. Conseqüentemente a taxa de falso positivo é reduzida ao extremo e permitindo boa quantificação de doença residual à semelhança de RT-PCR (Dewald et al, 1998).

Porém, graças ao emprego destas sondas foi possível perceber que alguns pacientes podem apresentar deleção da região proximal dos genes ABL ou BCR onde estas sondas maiores emitem sinais extras ou de dupla fusão. Assim fenômenos adicionais à translocação puderam ser detectados e logo evidenciou-se que talvez estivessem associados a pior prognóstico (Sinclair et al, 2000). Diversos trabalhos estão em curso para tentar esclarecer o papel e a importância destes eventos adicionais.

1. Exames Bioquímicos:

O ácido úrico sérico encontra-se freqüentemente aumentado, mesmo antes do tratamento, particularmente nos pacientes que apresentam grande leucocitose ou deficiência de função renal, fato de importante implicação terapêutica.

Outros exames gerais devem ser feitos como função hepática, renal, Na, K, Ca, DHL, sorologias para hepatite A, B, C, HIV, citomegalovírus, tipagem HLA, parasitológico de fezes.

Exames de imagem também são necessários como a radiografia de tórax, além de avaliação da função cardíaca através de ECG.

TRATAMENTO

É difícil falar em prognóstico deste ou aquele tipo de tratamento em razão de que vários fatores devem ser levados em consideração como o estágio da doença, o tempo de diagnóstico, a presença de comprometimentos de outros órgãos, inclusive cérebro, os recursos médicos e financeiros disponíveis e a existência ou não de outras doenças

concomitantes quase sempre presentes nesta faixa etária, como cardiopatias, pneumopatias, doenças renais, etc.

O objetivo inicial do tratamento é diminuir a contagem de glóbulos brancos e reduzir o tamanho do baço. Isto é obtida por meio da administração de medicamentos via oral. Estes medicamentos, bem como o agente biológico “Interferon Alfa” podem ser utilizados para retardar o avanço da doença.

Se o baço não voltar ao seu tamanho normal com administração de quimioterapia ou radiação, a remoção cirúrgica do órgão pode ser recomendada.

A quimioterapia consiste no uso de medicamentos para eliminar células cancerosas. A quimioterapia pode ser tomada por via oral, ou pode ser administrada no corpo por via intravenosa ou muscular. No caso do tratamento sistêmico, o medicamento é introduzido na corrente sanguínea e viaja através do corpo, podendo eliminar células cancerosas por todo organismo. A quimioterapia às vezes pode ser injetada no líquido que rodeia o cérebro e a medula espinhal (quimioterapia intratecal).

A radioterapia consiste no uso de raios X ou outros raios de alta energia para eliminar células cancerosas e reduzir possíveis tumores.

Se as células leucêmicas migrarem para o cérebro, o paciente receberá também radioterapia cerebral e/ou quimioterapia intratecal.

Ainda que a quimioterapia e o Interferon Alfa retardem o avanço da LMC, a melhor esperança de cura é o transplante de medula óssea. As maiores taxas de cura ocorrem quando o paciente é transplantado durante a fase crônica, com medula extraída de um gêmeo idêntico, um membro da família compatível, ou mesmo um doador não aparentado, mas que seja compatível.

O Transplante de Medula Óssea (TMO) é conhecido como transplante de células tronco. Esse tipo de terapia envolve dois passos:

1. Primeiro, uma dose elevada de medicamento é dada para atingir a maioria das células na medula óssea (tanto as células com câncer quanto as células saudáveis).
2. O segundo passo é substituir todas as células tronco que foram destruídas somente por células saudáveis.

O TMO é o único tratamento potencial para curar pacientes com LMC, mas infelizmente, nem todos os pacientes portadores de LMC são elegíveis a este

procedimento (seja pela idade avançada, que é um fator de risco, seja pela falta de doador compatível).

Referências bibliográficas:

1. Manual Fleury de Diagnóstico em Hematologia – 2005
2. Prática Hospitalar – 2002
3. Drauzio Varella – Entrevista
4. Leucemia Mielóide Crônica – Wikipédia – 2007
5. Análise dos Transcritos da Translocação (9;22) em leucemia mielóide crônica – 2000
6. Teste molecular pela RT-PCR para o Cromossomo Philadelphia (bcr/abl)
7. Simpósio sobre transplante de medula óssea na leucemia mielóide crônica - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – 2000
8. Fundação Oncocentro de São Paulo – 2006
9. CD sobre série vermelha cedido no curso de Hematologia Laboratorial / Prof. Paulo César Naoum – julho/06