



Relato de Caso

Aspectos clínicos e laboratoriais da mielofibrose: relato de caso

Clinical and laboratory aspects of myelofibrosis: a case report

Leane Perim Rodrigues

A Organização Mundial da Saúde (OMS) classifica a Mielofibrose como uma doença mieloproliferativa definida por uma malignidade clonal nas células tronco hematopoiéticas, que por meio da divisão de uma célula precursora hematopoiética totipotente anormal são geradas expansões clonais alteradas. Pacientes portadores da patologia apresentam sintomas clássicos como fibrose da medula óssea, hematopoiese extra medular e possibilidade de transformação leucêmica com taxa de sobrevida bastante reduzida. A descoberta de mutações envolvidas na fisiopatologia da Mielofibrose culminou avanços para o tratamento e melhora da sobrevida desses pacientes. No presente manuscrito são apresentados os aspectos clínicos e laboratoriais para diagnóstico da doença e a relação entre esses aspectos por meio um relato de caso.

Palavras chave: *Mielofibrose, doenças mieloproliferativas, mutação.*

The World Health Organization (WHO) classifies as a myeloproliferative disease Myelofibrosis defined by a malignant clonal hematopoietic stem cells in which division by an abnormal change totipotent hematopoietic precursor cell clonal expansions are generated. Patients with classical symptoms of the disease such as fibrosis of the bone marrow, and extra-medullary hematopoiesis possibility of leukemic transformation with significantly reduced survival rates. The discovery of mutations involved in the pathophysiology of Myelofibrosis culminated advances for the treatment and improvement of patient survival. In this manuscript we present the clinical and laboratory aspects for the diagnosis of disease and the relationship between these aspects through a case report.

Key words: *Myelofibrosis, myeloproliferative neoplasms, mutation.*

Biomédica. Mestranda pelo Programa de Ciências Genômicas e Biotecnologia da Universidade Católica de Brasília (UCB).

Artigo apresentado a Academia de Ciência e Tecnologia de São José do Rio Preto para obtenção do título de especialista em Hematologia e Banco de Sangue

Correspondência: *Leane Perim Rodrigues*
Campus Avançado Asa Norte - SGAN 916 Módulo B Avenida W5
CEP: 70790-160 - Brasília/DF
E-mail: leane18@gmail.com

Introdução:

A Mielofibrose está inserida no grupo das doenças mieloproliferativas. Este grupo apresenta como relação comum a malignidade clonal das células tronco hematopoiéticas, que leva a proliferação aumentada de células da linhagem mielóide, com maturação preservada, culminando à leucocitose no sangue periférico dos pacientes portadores.

Observa-se nesta patologia, como característica principal, a fibrose da medula óssea, consequência de uma variedade de mudanças histológicas apresentadas no microambiente medular (GOWIN; 2013). O desenvolvimento da doença está relacionado a expansão clonal de células-tronco mielóides, expressão anormal de citocinas, hiperplasticidade das linhagens mielóides e também de hematopoiese extramedular (TIBES; 2014).

A Mielofibrose pode apresentar-se na forma primária, não existindo nenhuma doença de base, sendo considerada idiopática e também na forma secundária a uma outra doença mieloproliferativa, como a Policitemia Vera ou a Trombocitemia Essencial. Sua incidência é de 0,5 a 1,5 por 100.000 indivíduos (CHAUFFAILLE; 2010) e os portadores tem sobrevida média de 5.9 anos (TEFFERI; 2014). Estes pacientes geralmente são sintomáticos, apresentando esplenomegalia acentuada e cerca de 38% são dependentes de transfusão (TEFFERI ET AL; 2012), sendo que

atinge em maioria indivíduos acima dos 60 anos de idade.

No ano de 2005 foi descoberta a mutação JAK2V617F. Esta mutação modifica a proteína JAK2, uma tirosina-quinase pertencente a família *Janus quinase* que participa da ativação de diversas vias de sinalização e também está presente nos processos de transdução de sinais. Nos anos seguintes foram descobertas mutações no gene MPL que codifica para a proteína CD110, atuando na ativação da via JAK-STAT e em 2013 foi descrita a mutação no gene que codifica para a proteína calreticulina (CALR). Esta mutação tem apresentado-se como a segunda mais frequente (estando após a JAK2), em pacientes com mieloproliferativas BCR-ABL negativas e também causa a ativação da sinalização JAK/STAT (LAVI; 2014). Identificar a presença dessas mutações mudou o curso das doenças mieloproliferativas, isto porque levou ao desenvolvimento de drogas exibindo atividade inibitória contra proteínas da família JAK, que parecem candidatas ideais para uma nova era de terapias “ao-alvo”.

O Ruxolitinibe (JAKAFI®) foi a primeira droga com atividade inibitória tirosina-quinase aprovada para o uso em pacientes com Mielofibrose. O medicamento é aprovado pela agência reguladora americana *Food and Drug Administration* (FDA) desde 2011 com o nome Jakafi, produzido pela empresa Novartis®. Tem mostrado bom desempenho no tratamento de esplenomegalia, diminuição de citocinas

inflamatórias e demais sintomas em pacientes com Mielofibrose Primária ou Mielofibrose Pós-Policitemia Vera ou Pós-Trombocitemia Essencial. Entretanto, este tratamento é capaz de trazer melhora na qualidade de vida, gerando o aumento da sobrevida do paciente mas não erradica o clone neoplásico, não obtendo a cura da doença.

Aspectos clínicos e laboratoriais da mielofibrose primária:

A mielofibrose foi descrita e caracterizada pela primeira vez quando o médico alemão Gustav Hueck observou em pacientes a presença de hematopoiese extramedular e fibrose na medula óssea (LEVINE and GILLILAND; 2008). Porém, foi com a descoberta do Cromossomo Filadélfia (Ph) no ano de 1960, que teve início uma série de estudos que demonstram que mutações nas células-tronco hematopoiéticas podem ser a base para as Neoplasias Mieloproliferativas.

A Mielofibrose Primária apresenta desordem na proliferação clonal da série megacariocítica. Os megacariócitos produzidos são atípicos, sendo relativamente pequenos e demonstrando a relação núcleo/citoplasma alterada. São os megacariócitos que estão envolvidos na fibrose medular, pois liberam na medula óssea fator de crescimento fibrogênico (CHAUFFAILLE; 2010), que leva a progressão da patologia. A evolução da doença se dá por duas fases: uma fase pré-fibrótica, que apresenta a medula óssea hiperclular. Esta fase é inicial e segue para a fase fibrótica, em que o tecido

hematopoiético é quase totalmente substituído por tecido fibroso.

As características clínicas da MF incluem quadros de anemia, hematopoiese extramedular, estado hipermetabólico, eventos trombóticos e plaquetopenia. Sintomas secundários podem ser considerados. Fraqueza, cansaço, palpitação, dispnéia, tonturas frequentes, saciedade, dor e desconforto abdominal, perda de peso, sudorese, sangramentos, osteoesclerose, hipertensão portal são exemplos. Pacientes em fase de risco da doença podem apresentar queixas de excessivas dores e evoluírem para uma crise blástica, assemelhando-se a uma leucemia aguda.

No hematológico, cerca de 75% dos pacientes apresentam anemia, mantendo hemoglobina abaixo do normal (entre 10 a 8g/dL), 25% são dependentes de transfusão sanguínea e um terço apresentam trombocitopenia (plaqueta inferior a $100 \times 10^9 /L$). A leucopenia é rara, com menos de 10% dos pacientes tendo uma contagem de leucócitos inferior a 10% (VAINCHENKER, 2012).

As causas de óbito mais comum são: transformação leucêmica (em 5% a 10% dos casos), infecção, sangramento, trombose, falência cardíaca, falência hepática, aparecimento de outra neoplasia, falência respiratória, e hipertensão portal.

Bases moleculares e vias de sinalização:

A proliferação celular anormal na Mielofibrose ocorre devido à ativação de vias de

transdução de sinais. A ativação pode ocorrer devido a rearranjos genéticos e mutações que interferem com as proteínas TQ ou outra molécula relacionada (KEERSMAECKER, 2006), tornando as células progenitoras hematopoiéticas independentes ou hipersensíveis as citocinas. Algumas vias foram relacionadas a manutenção da doença, as principais são a via JAK-STAT, TGF- β /FOXO, Hedgehog.

Diagnóstico:

O diagnóstico da MFP pode ser feito em qualquer fase da doença e é baseado em fatores clínicos e hematológicos apresentados pelos pacientes (GOWIN, 2013). Porém, a biopsia de medula óssea é essencial para este seja estabelecido.

Deve-se descartar a presença do cromossomo Philadelphia (de forma a distinguir da LMC) e também examinar a presença de mutações como a JAK2V617F e MPL. A presença de fibrose medular não é patognomônico, podendo não haver fibrose evidente.

Não há sinais e sintomas específicos para a MFP e na grande parte dos casos é investigada devido a esplenomegalia e hemogramas anormais apresentados pelos pacientes.

A *World Health Organization* (WHO) preconiza critérios maiores e menores para o diagnóstico. Os pacientes devem apresentar ao menos 3 critérios maiores e 2 menores para

estabelecer o diagnóstico de MF. Os critérios estão descritos na figura 1.

FIGURA 1: Critérios da WHO para diagnóstico da MF

Critérios maiores:

1. proliferação megacariocítica com atipia, fibrose reticulínica ou colagênica ou, na ausência de fibrose significativa, presença de alterações megacariocíticas com aumento da celularidade da medula à custa de proliferação granulocítica com diminuição da eritropoese (fase pré-fibrótica)
2. ausência de critérios da OMS para PV, LMC BCR/ABL1+, síndrome mielodisplásica ou outra neoplasia
3. mutação JAK2V617F ou outro marcador clonal (MPLW515K/L) ou, na ausência de marcador clonal, nenhuma evidência de que a fibrose medular ou demais alterações sejam secundárias a infecção, inflamação, tricocitoleucemia, neoplasia linfóide, metástase ou mielopatias tóxicas

Critérios menores:

1. leucoeritroblastose
2. aumento de DHL sérico
3. anemia
4. esplenomegalia

Fonte: Chauffaille, 2010

Atualmente há dois *scores* para estratificação de risco e prognóstico dos pacientes: o *International Prognostic Scoring System* (IPSS) e o *Dynamic International Prognostic Scoring System* (DIPSS). Esses sistemas de avaliação compartilham os mesmos fatores de risco, a diferença é que o primeiro avalia o prognóstico do paciente na fase de diagnóstico, enquanto o sistema DIPSS é utilizado para estimar a sobrevida a qualquer momento após o diagnóstico (figura 2).

Os pacientes são classificados em grupos de risco relacionados a doença. Os quatro grupos são: baixo risco, intermediário 1, intermediário 2 e alto risco. Para incluir o paciente em determinado grupo são avaliados oito fatores: idade acima de 65 anos, níveis de hemoglobina abaixo de 10mg/dL, leucócitos acima de $25 \times 10^9/L$, presença de blastos (acima de 1%), sintomas clínicos presentes,

necessidade de transfusão sanguínea, plaquetas abaixo de $100 \times 10^9/L$ e cariótipo infavorável (presença de mutações). Pacientes em fase de alto risco da doença podem apresentar queixas de excessivas dores e evoluírem para uma crise blástica, assemelhando-se a uma leucemia aguda (ZINGARIELLO, 2013).

Figura 2: Score de estratificação de risco

Factors	IPSS	DIPSS	DIPSS Plus
Age >65 years	1	1	1
Constitutional symptoms	1	1	1
Hemoglobin <10 g/dL	1	2	1
Leukocytes $>25 \times 10^9/L$	1	1	1
Blood blasts $\geq 1\%$	1	1	1
Platelet count $<100 \times 10^9/L$			1
Transfusion dependence			1
Unfavorable karyotype			1
Risk stratification	Points		
Low	0	0	0
Intermediate-1	1	1-2	1
Intermediate-2	2	3-4	2-3
High	≥ 3	5-6	≥ 4

Fonte: Gangat et al., JCO 2011 Feb 1; 29(4):392

Somente pacientes inclusos nos grupos intermediário 2 ou alto risco são encaminhados para o transplante. Os demais pacientes recebem terapias-alvo, fatores de crescimento, andrógenos, drogas imunomodulatórias, thalidomide, lenalidomide e pomalidomide. Outros tratamentos incluem a hidroxyurea (mielossupressor) para a esplenomegalia (GOWIN 2013).

O transplante alogênico tem sido a terapia potencialmente curativa para a mielofibrose, no

entanto, apenas um pequeno número de doentes está apto para o procedimento.

Relato de Caso:

Mulher, 43 anos, casada, 3 filhos, procedente de Barreiras (BA) deu entrada no Hospital de Base do Distrito Federal em novembro de 2013 queixando-se de tontura, dispnéia a moderados esforços, taquicardia e cefaléia frequente. Relatou anemia associada a esplenomegalia há 4 anos, porém, sem diagnóstico. Apresentava-se afebril, hidratada, eupinéica com saturação O₂ 98%. Membros edemaciados e bem perfundidos. Foram solicitados hemograma, EFHb (eletroforese de hemoglobina), TAD, provas de hemólise e ultrassonografia para investigar a esplenomegalia.

No mesmo mês houve retorno da paciente que apresentou exames solicitados (figura 2). Foi notado a anemia hiperproliferativa com presença de esplenomegalia. A suspeita clínica foi de anemia hemolítica ou mielofibrose (fase celular). A análise da lâmina de sangue periférico mostrou a presença de dacriócitos (figura 3). Foi solicitado provas de hemólise para avaliação. Caso negativo, deveria ser realizado mielograma e biópsia de medula óssea.

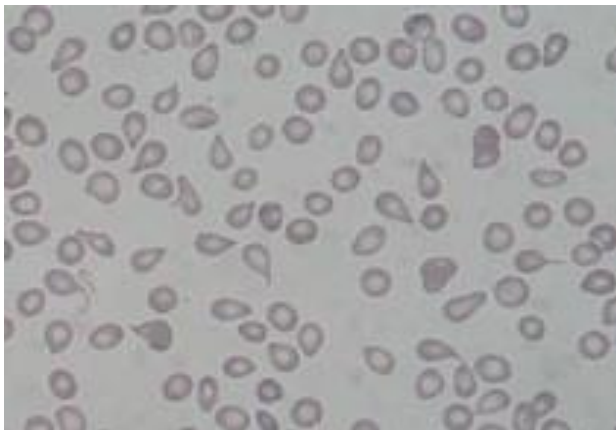
As provas de hemólise apresentaram-se dentro dos padrões de normalidade. Foi então programada biópsia de medula óssea.

Figura 3: Resultados dos exames solicitados para elucidação da anemia crônica apresentada pela paciente.

- # Anemia hiperproliferativa a/e + esplenomegalia
- Lâmina SP: Dacriócitos e eritroblastose
 - Reticulócitos: 186.000 (IRF: 27,10%)
 - FAN: negativo
 - USG de abd.: Esplenomegalia (volume: 15,7 X 9,3cm)
 - HAI Chagas: Reagente 1/1280
 - Curva de fragilidade osmótica - início a 0,65% e término a 0,1%
 - EFHb: A1: 97,3% A2: 2,7% HbF: 0% Hb S: 0% HbC: 0 Variantes: 0
 - Fe: 64 Ferritina: 270,3
 - TSH: 4,05
 - AST/ALT: 21/18 FA: 252 GGT: 25 Cr: 0,77 Ur: 24

Fonte: prontuário clínico

Figura 4: Esfregaço de sangue periférico evidenciando a presença de dacriócitos.

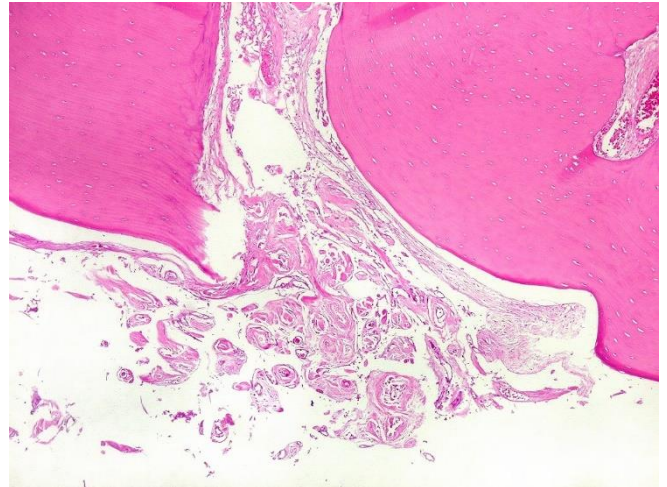


Fonte: <http://biomedquest.blogspot.com.br/2012/06/dacriocitos.html>

Em agosto de 2014 foi realizado a coleta de medula óssea para biópsia. Também foi realizado mielograma e coleta de cariótipo. Não houve intercorrências no procedimento. Para a coleta de medula óssea a paciente apresentou coagulograma normal (TP 100%, TTPA 35,2"). O mielograma foi aspirado seco, lâminas apresentaram-se diluídas. Foi solicitado HPN, dosagem de G-6PD e PK para investigação.

A biópsia de medula óssea exibiu extensa fibrose, grau IV intersticial, com presença de colágeno. Microambiente medular difusamente hipocelular com desvio à esquerda importante da série eritrocítica e maturação da série mielocítica. Há aumento do número de megacariócitos com presença de formas pleomórficas (uni, bi, multilobada) e formas bizarras. A citometria de fluxo foi negativa para HPN e dosagem de G-6PD e PK dentro da normalidade.

Figura 5: Corte histológico de medula óssea representativo de fibrose grau IV



Fonte: <http://anatpat.unicamp.br/xnptmeningioma37a.html>

Com base nestes resultados, para confirmação do diagnóstico de Mielofibrose Primária, foram realizados Jak2 e BCR-ABL. Ambos se apresentaram negativos. A citogenética é 46XX. Descartada a possibilidade de PV, LMC ou outra neoplasia, a paciente apresentava os 3 critérios maiores e 2 menores preconizados pela WHO para Mielofibrose. Foi classificada como IPSS e DIPSS intermediário 1.

Hemogramas de rotina mostraram uma baixa no nível de hemoglobina da paciente, variando entre 8,4 a 8,9g/dL. Foi visto a necessidade transfusional. A primeira transfusão de concentrado de hemácias ocorreu em outubro de 2014.

O último retorno da paciente ocorreu em outubro de 2015. No exame clínico apresentou-se hipocorada, anitérica, FC:96bpm, com baço palpável a 15cm do RCD. Queixas de dores musculares e artralguas. O hemograma relatava hemoglobina de 9,4 e o esfregaço de sangue periférico mostrou dacriócitos com presença de eritroblastose, 2% de blastos. A paciente está sem uso de medicações e está sem transfusão há 4 meses.

Discussão:

Os sintomas clínicos que levaram a paciente a procura do setor de hematologia foi a anemia persistente e aumento do volume do baço sem diagnóstico. Estes são sintomas clássicos da Mielofibrose devido a proliferação clonal de células tronco anormais, que geram o aumento da produção de megacariócitos, que por sua vez geram uma hiperprodução de plaquetas e citocinas que estimulam a produção de tecido fibroso na medula. O tecido hematopoiético é então substituído por tecido fibroso e a produção de células sanguíneas torna-se ineficaz, logo há diminuição do número de eritrócitos e consequente anemia. O aumento do baço é justificado devido a necessidade de se

compensar a produção irregular de células sanguíneas na medula óssea. Devido a hematopoiese extramedular, o baço dos pacientes com mielofibrose pode, em alguns casos, pesar até 10kg e alcançar 36 centímetros de comprimento.

O cansaço a pequenos esforços relatado pela paciente é causado pela anemia que provoca também desânimo e falta de energia. Esse quadro afeta a qualidade de vida dos pacientes devido a sensação de mal-estar e limitação para a realização de atividades diárias. Falta de ar também pode estar relacionado com o aumento do tamanho do baço, que dificulta o movimento respiratório.

O hemograma geralmente apresenta anemia (Hb <10g/dL) normocítica e normocrômica e algumas vezes hipocrômica e microcítica por deficiência de ferro associada. Na morfologia das hemácias podemos observar poiquilocitose, dacriócitos e eritroblastos em circulação. Leucopenia está presente em 1/4 dos casos, enquanto a leucocitose em 1/3. A contagem diferencial de leucócitos pode apresentar desvio para formas mais jovens até blastos e anomalia de pseudo-Pelger-Huet. Tanto trombocitose como trombocitopenia podem ser observados, dependendo do estado de fibrose da medula (CHAUFFAILLE; 2010).

A fibrose é um fenômeno que pode ocorrer em outras doenças mieloproliferativas crônicas, tais como LMC, TE e PV, ou, ainda, outras neoplasias. Algumas condições clínicas também podem apresentar fibrose da medula óssea como eventos secundários nas doenças granulomatosas

crônicas, inflamatórias, lúpus eritematoso sistêmico, hipertensão pulmonar e aquelas relacionadas ao metabolismo do paratormônio. Nessas doenças, os aspectos clínicos e laboratoriais são distintos da MF e devem ser levados em consideração na elucidação diagnóstica.

Referências:

BAROSI G, AMBROSETTI A, FINELLI C, et al. **The Italian Consensus Conference on Diagnostic Criteria for Myelofibrosis with Myeloid Metaplasia.** Br J Haematol. vol. 104 1999; 104:730-737.

CHAUFFAILLE, M.L.L.F. **Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia. vol.32 n.4. São Paulo, 2010.

CHAUFFAILLE, M.L.L.F. **Análise citogenética e FISH no monitoramento da LMC em tratamento com inibidores da tirosinoquinase.** Rev Bras Hemato Hemoter. Vol. 10 n.6. 2008

GOWIN, K. **The new landscape of therapy for myelofibrosis.** Curr Hematol Malig Rep. vol. 4 n.8. 2013.

MESA R. **Navigationg the evolving paradigms in the diagnosis and treatment of myeloproliferative disorders.** Hematology Am Soc Hematol Educ Program. vol.62. n. 355. 2007.

TEFFERI A, PATNAIK MM, PARDANANI A. **Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic.** Br J Haematol. Vol 5. N. 133. 2006.