Academia de Ciências e Tecnologia
Rua: Bonfá Natalino, 1860 – Bairro: Santos Dumont
São José do Rio Preto – SP
Cep.: 15.020-130

Coordenadores:
Hematologia Laboratorial: **Prof. Dr. Paulo César Naoum**
Hemologia Clínica: **Prof. Dr. Flávio Augusto Naoum**
Banco de Sangue: **Drª. Roberta Maria Fachini**

Artigo de: **Maria José Perri Dorado**
Aluna da ***2ª Turma de Hematologia e Banco de Sangue***

I - Alterações Citogenéticas em Leucemia Mielóide Aguda

II - Introdução

A Leucemia Mieloide Aguda (LMA), como todas as leucemias, é um transtorno clonal, sendo que todas as células leucêmicas se desenvolvem a partir de um único precursor.

O estudo citogenético em leucemia mieloide aguda (LMA) permitiu que se desenvolvesse amplamente o conhecimento dos mecanismos envolvidos na leucemogênese. A citogenética é o ramo da genética que estuda a estrutura, a patologia, a função e o comportamento dos cromossomos. A descrição de diversas alterações cromossômicas recorrentes sustenta a hipótese de que a leucemia é uma doença genética.

III - Objetivo

O estudo das alterações cromossômicas das células neoplásticas é importante por auxiliar no diagnóstico, classificação, prognóstico, acompanhamento evolutivo, orientação e monitoração terapêuticas, monitoração e transplante de MO, além de permitir saber quais as oncogenes envolvidas e entender a biologia da doença.

IV - Material e Método

Classificação do LMA

A leucemia mielóide aguda é classificada, em termos gerais, de acordo com a morfologia celular, mas também segundo marcadores de superfície celular e pela citogenética.

A LMA costuma ser classificada de acordo com o sistema Francês, Americano, Britânico (FAB), que a dividem em oito subtipos, segundo a morfologia e a histoquímica (tabela).

Tabela **Classificação da Leucemia Mielóide Aguda (LMA)**

		Histoquímica				
Subtipo	**Morfologia**	**Mielope-roxidase**	**Esterase Inespecífica**	**PAS**	**Reatividade Monoclonal**	**Anormalidades Citogenéticas**
M0 – Leucemia indiferenciada aguda	Uniforme, bastante indiferenciada	–	–	–	Para os subtipos M0-M5b, aproximadamente de 90% dos casos reagem com pelo menos um dos seguintes anticorpos antimielóides: anti-CD13, anti-CD14, anti-CD33, anti-CD34	Várias
M1 – LMA com diferenciação mínima	Bastante indiferenciada, poucos grânulos azurófilos	+/-	+/-	–		Várias
M2 – LMA com diferenciação	Predominância de blastos granulares; podem ser observados bastonetes de Auer	+++	+/-	+		Várias t(15;17)
M3 – Leucemia pro-mielocítica aguda	Predominância de promielócitos hipergranulares	+++	+	+		
M4 – Leucemia mie-lomonocítica aguda	Presença de monoblastos e mieloblastos	++	+++	++		Várias Inv/del(16)
M4a	Como a M4, mas com eosinófilos					
M5 – Leucemia mo-nocítica aguda	Predominância de monoblastos	+/-	+++	++		Várias, incluindo t (9;11)
M5a	Tipo a > 80% de monoblastos					
M5b	Tipo b > 20% de promonócitos					
M6 – Eritroleucemia aguda	São observados eritroblastos e precursores megaloblásticos de glóbulos vermelhos	–	–	++	Antiglicoforina, antispectrina	Várias
M7 – Leucemia me-gacariocítica aguda	Blastos indiferenciados	–	+/-	+	Antiplaqueta GpIIb/IIIa	Várias

A LMA também pode ser caracterizada pela anormalidade cromossômica clonal observada em cada caso. A classificação da OMS identifica um grupo de LMA com alteração dita recorrentes, a seguir descrita:

t(8;21) (q22;q22)

Comum em LMA com maturação na linhagem neutrofilica. É observada em 5,7% a 6,8% dos casos.

Esta translocação ocorre predominantemente em pacientes jovens, com idade média de 30 anos e é indicativa de bom prognóstico, pois tais pacientes respondem à quimioterapia habitual com alta taxa de remissão completa e sobrevida mediana relativamente longa. Alguns pacientes podem apresentar manifestação tumoral na forma de sarcoma granulocítico, ao diagnóstico. Raros apresentam porcentagem de blastos inferior a 20%, e mesmo assim são encarados como LMA, pois se postula que a baixa porcentagem de blastos é apenas uma visão momentânea da medula óssea numa fase precoce da expansão blástica.

Nesta transformação estão envolvidos os genes ETO e AMLL. O gene AMLL é um regulador da hematopoese normal, pois funciona como ativador transcricional para a expressão de genes teciduais específicos para a produção sanguínea.

inv(16)(p13;q22) ou t(16;16)(p32;q22)

Ocorre em LMA com diferenciação granulocítica e monocítica. Há, não raro, elevada leucocítose no sangue periférico. A deleção do cromossomo 16 associada à eosinofilia medular foi pela primeira vez descrita por Arthur e Bloom field (1983). Subsequentemente houve a caracterização do inv(16)(p13;q22) como uma entidade distinta, pois os pacientes com essa alteração quase sempre apresentam a LMA mielomonocitica com eosinófilos anormais (FAB M4 Eo).

Essa categoria responde por 6% das LMA e por 20% das monocíticas é indv, não só a inversão, mas a t(16;16)(p13;q22) e a del(16)(q22).

A medula óssea, além de hiperplasia e da presença de blastos da série monocítica, apresenta, geralmente, número variável de eosinófilos em todos os estágios de maturação.

A anomalia mais notada são os granulos evidentes nos estágios de cosinófilo promielocítico e mielocítico. Esses grânulos são maiores do que aqueles normalmente vistos nos cosinófilos imaturos, de cor violeta-purpúrica, sendo, em algumas células, tão densos que impedem a visualização da morfologia celular. Os cosinófilos maduros podem, ocasionalmente, apresentar hiposegmentação. A série granutocítica na MO é escassa com pequeno número de neutrófilos maduros, e alguns blastos com bastão de Auer podem raramente ser observados.

Por meio de citogenética convencional, a inv (16) é uma anomalia sutil podendo passar despercebida, sendo então necessário métodos como FISH ou RT-PCR para a sua identificação.

A inv (16) (p32;q22) e a t(16; 16) (p13;q22) resultam da fusão do fator de ligação nuclear beta (CBFβ), no 16q22, ao gene de cadeia pesada da miosina do músculo liso (MYH11), no 16p13.

O resultado dessa fusão é o seqüestro de grande quantidade de proteína CBFβ no citoplasma, excluindo-a efetivamente do núcleo e, consequentemente, inativando-a funcionalmente.

O imunofenotipo demonstra positividade para marcadores como CD14, CD15, CD4, CD11b e CD11c, além de CD13, CD33 e, raramente, co-expressão de CD2.

Pacientes com LMA mielomonocítica com cosinofilia e inv (16) ou t (16; 16) em geral alcançam altas taxas de remissão completa.

t(15;17) (q22;q21)

É invariavelmente observada em leucemia promielocítica aguda (LPA). Corresponde cerca de 17% a 21% das LMA. Predomina em adultos jovens.

A LPA é reconhecida por sua característica morfológica peculiar, embora em alguns casos, chamados de variante hipogranular, haja diferença exuberante tanto o tamanho do núcleo do blasto como sua forma são irregulares e variáveis. O citoplasma é ocupado por grânulos grandes, de tonalidade rosa-clara ou avermelhados (MGG). Os bastões de Auer na LPA são freqüentes. A mieloperoxidase é fortemente positiva em todos os blastos.

Alguns casos, no entanto, tem a mesma t(15;17), mas características morfológicas distintas que não preenchem os critérios de FAB M3 e tem sido denominadas de M3 variante ou micro-granular. Caracterizam-se, morfologicamente pela ausência ou escassez de grânulos e forma nuclear bilobada, por vezes, confundidas com leucemia monocítica.

Essa leucemia se caracteriza pela associação dos marcadores linfóides, CD2 e CD19à negatividade para HLA-Dr e CD34. O CD33 é homogeneamente positivo à citometria de fluxo, enquanto a expressão de CD13 é heterogênea.

A LPA foi a primeira leucemia humana a ser tratada com sucesso com um agente diferenciador, o acido trans-retinóico (ATRA) embora para a cura seja necessária a administração concomitante de quimioterapia.

11q23-LMA

Com alterações envolvendo esta região estão associadas à LMA monocítica e são consideradas de prognóstico desfavorável. Anomalias do 11q23 são encontradas em 5% a 6% dos casos de LMA e podem ocorre em qualquer idade, mas são mais freqüentes em crianças.

As translocações podem dar-se com vários cromossomos, tendo-se observado mais de 40 loci participantes deste fenômeno e sendo os mais freqüentes 6q27, 9p22, 10p12,17q21 e 19p13.

Tais alterações, ainda que possam ser observadas em qualquer subtipo FAB, predominam na M5a ou leucemia monocítica.

Morfológicamente, nas alterções 11q23 há predomínio de monoblastos (células grandes com citoplasma abundante, moderada a intensamente basofílico), ou promonócitos (células com núcleo irregular, citoplasma menos basofílico, mais granular e com vacúlos) Geralmente apresentam positividade forte à reação de esterase inespecífica e negatividade á mieloperoxidase.

À imunofenotipagem não há expressão específica, mas observa-se positividade para marcadores monocíticos como: CD14, CD4, CD11b, CD11c, CD64, CD36 e lisozima.

Diversas outras alterações cromossômicas foram descritas em LMA e estão distribuídas dentre os diferentes grupos definidos pela OMS. Assim, um outro grupo de LMA bem definido pela classificação da OMS é aquele denominado LMA com características relacionadas à síndrome mielodisplasica (SMD).

Essa entidade pode ocorrer tanto de novo como secundária à SMD e, portanto, é tipicamente observada em indivíduos idosos, ainda que não exclusivamente. Correlaciona-se a deleções ou a perdas cromossômicas, embora translocações também possam ser mais raramente observadas. São mais freqüentes:

Translocação envolvendo 3q21 ou 3q26: t(1;3), inv (3) ou t (3;3)

As LMA que apresentam alterções envolvendo 3q21 ou 3q26 caracterizam-se por apresentar evidente displasia megacariocítica com micromegacarióticos ou displasia das três linhagens.

Deleção do braço curto do cromossomo 17: del (17p)

A del 17p caracteriza-se por disgranulopoese combinada com anomalia de pseudo-Pelger-Huët e a presença de neutrofilos vacuolizados.

Um terceiro grupo da OMS que merece destaque é aquele que engloba LMA ou SMD relacionada á terapia.

Há duas categorias muito bem reconhecidas:

1) **As relacionadas a agentes alquilantes e radioterapia.**
As anormalidades cromossômicas adquiridas incluem 5q- e -7/q7- em 65% a 70% dos casos. Há um intervalo médio de 5 a 6 anos entre a exposição e o aparecimento da doença e o risco de ocorrência está relacionado ao total de dose cumulativa recebida e á idade do paciente.

A morfologia desta leucemia se caracteriza por alterações displásicas com hipolobulação nuclear, hipogranulação nos neutrofilos, diseritropoese, presença de sideroblastos em anel e dismegacariopoese.

2) **As secundárias a inibidores da topoisomerase II**
Podem ser observadas em qualquer faixa etária, mas que receberam tratamento prévio com epipodofilotoxinas, tais como etoposida e teniposida. O período de latência é de cerca de 2 anos. Há, caracteristicamente, aspecto morfológico com componente monocítico. As anomalias cromossômicas envolvem predominantemente 11q23, gene MLL, como t(9; 11), t(11; 19) e t(6;11).

Por fim, restam algumas leucemias com outras alterações cromossômicas e classificadas pela OMS como LMA não categorizada. Neste grupo encontram-se apartadas as LMA que não preenchem critérios para serem encaixadas nos grupos anteriores. As bases para discriminação neste grupo são as características morfológicas, as citoquimicas e o grau de maturação das células leucêmicas, a exemplo do que era feito na classificação FAB, mas acrescentando-se a biopsia de medula óssea para avaliação da celularidade medular.

Na verdade nesse grupo encontram-se diversas alterações cromossômicas cuja freqüência é menor, mas nem por isso, menos importante, como trissomias do 8, do4 e do 134, monossomias do 7 e do5, t(3;3), inv(3), t(1;22), i(12p) e t(9;22), dentre outras.

CLASSIFICAÇÃO FUTURA

As classificações existentes não se baseiam na avaliação da função das vias normais de diferenciação, pois, se assim o fosse, mostrariam que o tipo de LMA ou de bloqueio de diferenciação seria determinado pelo mecanismo ou estágio no qual a diferenciação normal foi interrompida. Diante do conhecimento atual considera-se que tais aspectos quiçá devessem ser adicionados á classificação.

A hipótese atual é que as vias de fatores de transcrição estão rompidas, se não em todas, pelo menos na grande maioria da LMA. Entretanto, diversos mecanismos alternativos podem ser aventados e essas difererenças, devem ser associadas aos vários fonótipos de LMA.

Tais mecanismos incluem mutação, repressão da expressão e inibição funcional por outros oncogenes.

As mutações em fatores de transcrição associadas á LMA seriam detectadas em pacientes sem translocações cromossômicas.

O esquema classificatório separaria as LMAs em três categorias:

1) **Favorável**: que teriam t(15;17), inv(16) e t(8;21) ou mutação do CIEBPα, porem sem mutação do flt3 com duplicação interna em tandem.

2) **Intermediária**: aquelas com diversas translocações cromossômicas, mas com mutação CIEBPα com flt3 com duplicação interna em tandem ou todas as demais.

3) **Desfavorável**: as com -5/5q-, 3q e cariótipo complexo.

Não está claro se esse método terá significado biológico adicional, uma vez que as LMA tidas como favoráveis, sabidamente, já o são. No espectro oposto, as desfavoráveis incluem casos de LMA

relacionados á terapia que podem ter diversas anomalias genéticas, entretanto, para a miscelânea de casos hoje considerados de prognóstico intermediário, não deixa de ser uma abordagem diferente que, certamente, trará nova luz ao diagnóstico e ao tratamento das LMA.

V – Resumo

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é um transtorno clonal, e a descrição de diversas alterações cromossômicas recorrentes, sustenta a hipótese de que a leucemia é uma doença genética.
Com o rápido avanço da citogenética, a classificação da LMA está mudando, de acordo com as diversas anomalias genéticas.
O estudo dessas alterações cromossômicas está auxiliando no melhor diagnóstico, prognóstico e monitoração de transplante de M.O.

VI - Conclusão:

Ao longo das duas ultimas décadas, um rápido avanço no conhecimento da história natural das leucemias e das características especifica de seus estágios, resultou de pesquisas nos níveis biológicos, celular e molecular.
Esses novos conhecimentos, através da citogenética, estão auxiliando no melhor diagnóstico das leucemias, na avaliação precisa do prognóstico, na orientação terapêutica mais adequada e melhor monitoração do transplante de medula óssea.

VII – Referência Bibliográfica

- Manual de Oncologia Clínica da UICC (União Internacional Contra o Câncer) - 8ª edição – São Paulo: Fundação Oncologia de São Paulo, 2006.

- Atlas de Hematologia: clinica hematológica ilustrada / Therezinha Ferreira Lorenzi, coordenadora – RJ: Guanabara Koogan, 2006