

Leucemia Mielóide Aguda

Drielly Fernandes da Silva

2º Turma de Hematologia Avançada

Março /2012

Resumo

A leucemia Mielóide Aguda (LMA) é caracterizada por um grupo heterogêneo de doenças clonais do tecido hematopoiético, que acomete freqüentemente idosos acima de 60 anos de idade apresentando mais de 50% dos casos, sendo mais comum no sexo masculino do que no feminino, representando cerca de 15% a 20% das leucemias agudas na infância e 80% nos adultos. As manifestações clínicas estão correlacionados com a diminuição dos elementos figurados do sangue periférico e são representadas por cansaço fácil, fraqueza, febre e manifestações hemorrágicas caracterizadas por equimoses e petéquias, epistaxes, gengivorragia e metrorragias, além de importante comprometimento do estado geral. A LMA apresenta oito subtipos distintos morfológicamente nominados de M0 a M7. Os métodos diagnósticos para identificação da LMA e classificação dos subtipos são baseados em critérios morfológicos, citoquímicos e de imunofenotipagem, acrescidos de análise genética. O objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre LMA, dando ênfase aos métodos laboratoriais utilizados para a sua identificação e diferenciação.

Introdução

A leucemia mielóide aguda (LMA) é uma doença caracterizada pela expansão clonal, heterogênea e progressiva do tecido hematopoiético, causada pela alteração da célula-tronco, que provoca proliferação anormal de células progenitoras da linhagem mielóide, associada à perda da capacidade de diferenciação, ocasionando produção insuficiente de células sanguíneas maduras normais, com consequente substituição do tecido normal. Desse modo ocorre o predomínio de células imaturas na medula óssea (mieloblastos) podendo apresentar de formas indiferenciadas ou parcialmente diferenciadas, podendo invadir ou não a circulação periférica. Devido a essa proliferação intensa das células leucêmicas na medula óssea o tecido hematopoiético normal remanescente passa a ser substituído por várias células leucêmicas, pode surgir em qualquer estágio do desenvolvimento celular, ou seja, em qualquer fase da hematopoesie. A LMA é uma neoplasia fatal quando não tratada é a morte geralmente é consequência da pancitopenia (anemia, sangramento ou infecção decorrente de resposta imune eficaz), resultante da substituição da medula óssea por mieloblastos.

Estima-se que a incidência de leucemias agudas aproxima-se de 4/100.000 casos por ano, onde a LMA corresponde cerca de 80% das leucemias agudas, onde cerca de 20% ocorre na infância e 80% em adultos. A incidência de LMA começa a aumentar apartir dos 30 anos de idade atingindo seu pico por volta dos 64 anos de idade, sendo esta considerada doença de indivíduos adultos e apresenta prognóstico pobre, especialmente em pacientes idosos.

Assim como a maioria das leucemias a causa da LMA, ainda é desconhecida. Entretanto podemos associar com alguns fatores que contribui para o desenvolvimento das leucemias como radiação ionizante, quimioterapia prévia, exposição ao benzeno, vírus oncogênicos (human T-lymphotropic virus type I [HTLV-I] causando leucemia das células T do adulto) e doenças genéticas (síndrome de Down, anemia de Fanconi e síndrome de Bloom).

O presente estudo tem por objetivo mostrar os diferentes métodos laboratoriais utilizados na identificação e diferenciação das LMA.

Classificação

As leucemias são classificadas de acordo com o tipo celular envolvido e no estado de maturação das células leucêmicas. Onde a classificação das leucemias foi de grande importância para que as tomadas terapêuticas pelos médicos fossem mais precisa e individualizadas para cada paciente, em benefício do seu diagnóstico.

Para a classificação e diagnóstico das leucemias devemos considerar como pontos primordiais fundamentais e obrigatórios, as análises citológicas do sangue periférico e do mielograma. Deste modo em 1976 o grupo de estudo franco-americano-britânico (FAB) elaborou uma classificação para leucemia mielóide aguda baseando-se na análise da morfológica celular, e quando necessário no estudo citoquímico. Para a classificação dos subtipos de LMA, o Grupo Franco-American-Britânico (FAB), considera como leucemia a presença de no mínimo ($\geq 30\%$) de blastos na medula óssea e reconhece oito subtipos nominados de M0 a M7 ainda amplamente utilizada na atualidade para confirmar o diagnóstico.

Para se ter uma classificação morfológica com precisão é necessário a identificação adequada dos mieloblastos, que citologicamente podem ser divididos em 3 tipos:

- Mieloblastos tipo I: apresentam citoplasma sem evidências de maturação, com granulação ausente.
- Mieloblastos tipo II: semelhantes ao do tipo I, mas apresentam pouca diferenciação citoplasmática caracterizada pela presença de poucos grânulos (comumente em número inferior a 20).
- Mieloblastos do tipo III: possuem citoplasma granular (mais de 20 grânulos), com núcleo central e sem zona de golgi evidente.

Tabela 1. Critérios morfológicos do grupo FAB para LMA.

SUBTIPO FAB

M0 (3%): LMA com diferenciação mínima

- $\geq 30\%$ de mieloblastos (tipo I)
- *Morfologia:* Os blastos são pequenos, com cromatina frouxa e nucléolo evidente, apresentando citoplasma agranular, sem bastonete de Auer.

M1 (15-20%): LMA sem maturação

- $\geq 30\%$ de mieloblastos (tipo I e II) e $< 10\%$ de granulócitos
- *Morfologia:* Blastos sem maturação, com poucos grânulos e presença de bastão de Auer.

M2 (25-30%): LMA com maturação

- $\geq 30\%$ de mieloblastos com $> 10\%$ de granulócitos
- *Morfologia:* Caracteriza-se por apresentar blastos grandes com abundante citoplasma basofílico, freqüentemente contendo numerosos grânulos azurofílicos. Em alguns casos os blastos podem apresentar grânulos grandes. Os bastonetes de Auer são freqüentes. Promielócitos, mielócitos e granulócitos maduros com variados graus de displasia são vistos na medula óssea

M3 (5-10%): Leucemia promielocítica aguda

- Predomínio de promielócitos anômalos
- *Morfologia:* Os blastos apresentam núcleo excêntrico e citoplasma com abundante granulação, alguns com numerosos bastonetes de Auer. Em alguns casos, os grânulos citoplasmáticos são tão numerosos e grandes que tornam difícil distinguir o núcleo do citoplasma. Na forma variante hipogranular os blastos têm núcleo volumoso e convoluto. O citoplasma é basofílico com granulação escassa.

M4 (20%): Leucemia mielomonocítica aguda

- $\geq 30\%$ de mieloblastos e linhagem monocítica de 20-80%
- LMA M4 com eosinofilia (Eo)
- *Morfologia:* Alguns blastos podem ocasionalmente conter bastonete de Auer, no entanto, os achados morfológicos típicos são a presença de eosinofilia em variados estágios de maturação. Os grânulos eosinofílicos são maiores que os normalmente observados em precursores eosinófilos normais, têm coloração roxo-violeta, e, em algumas células, são tão densos que podem obscurecer o núcleo. Os eosinófilos maduros ocasionalmente podem apresentar hiposegmentação nuclear.

M5 (2-9%) Leucemia monocítica aguda

- $\geq 30\%$ de blastos e $> 80\%$ de linhagem monocítica (dentre as células não-eritróides)
- M5a- predomínio de monolastos
- M5b- predomínio de monócitos e promonócitos
Monócitos maduros
- *Morfologia:* Os monoblastos são células grandes com citoplasma abundante e basofilia acentuada. Finos grânulos azurofílicos e vacúolos podem estar presentes. Freqüentemente o núcleo é redondo com cromatina frouxa e presença de um ou mais nucléolos proeminentes. A presença de bastonete de Auer é incomum. Os promonócitos têm núcleo convoluto e irregular. O citoplasma é menos basofílico e algumas vezes tem grânulos e vacúolos mais evidentes.

M6 (3-5%): Eritroleucemia

- $\geq 30\%$ mieloblastos (dentre as células não-eritróides)
- $> 50\%$ das células da MO são linhagem eritróide
- *Morfologia:* Caracteriza pela presença expressiva no sangue periférico de grande quantidade de eritroblastos em todas as fases de evolução.

M7 (3-12%): Leucemia megacariocítica aguda

- $\geq 30\%$ blastos
- Megacarioblastos identificados por imunofenotipagem ou atividade de peroxidase plaquetária por microscopia eletrônica

- *Morfologia:* Os blastos são de tamanhos variáveis, com citoplasma geralmente agranular, podendo apresentar protusões.

Fonte: [Revista da Associação Médica Brasileira](#)

A Organização Mundial de Saúde (OMS) elaborou uma nova classificação para leucemias agudas, assim pela nova classificação a presença de no mínimo 20% de mieloblastos estabelece o diagnóstico de LMA. Esta nova classificação reconhece 19 subtipos diferentes de LMA que incorpora não somente características citológicas e citoquímicas, mas também imunofenotípicas e alterações citogenéticas.

Tabela 2. Classificação proposta pela OMS para leucemia mielóide aguda

LMA com alterações citogenéticas recorrentes

- LMA com t(8;21)
- LMA com t(15; 17)
- LMA com eosinófilos anormais na MO e inv (16)
- LMA com anormalidade 11q23

LMA com displasia multilinhagem

- Com antecedente de síndrome mielodisplásica
- Sem antecedente de síndrome mielodisplásica

LMA e SMD associadas a terapia

- Associada a uso de agentes alquilantes
- Associadas a epipodofilotoxina
- Outros tipos

LMA não especificada em outros grupos

- LMA minimamente diferenciada; LMA sem maturação; LMA com maturação; LMA com diferenciação monocítica; Eritroleucemia; Leucemia megacarioblástica; Leucemia basofílica aguda; Panmielose aguda com mielofibrose.

Fonte: Hematologia Laboratorial-Leucócitos.

Com a inclusão da citogenética, observou-se que alguns subtipos de LMA apresentavam frequentemente alterações do cariótipo e essas alterações atribuíram ao paciente um bom prognóstico e melhor resposta terapêutica em relação aos outros.

Tabela 3. Tipos de LMA e suas alterações citogenéticas associadas a prognóstico favorável.

Subtipo FAB	Alteração citogenética associada a prognóstico favorável
• LMA-M2	Translocação entre os cromossomos 8 e 21: t(8;21) (q22;q11-12)
• LMA-M3	Translocação entre os cromossomos 15 e 17: t(15; 17) (q22; q21)
• LMA-M4 Eo	Inversão do cromossomo 16: inv (16) (p13q22)
• LMA-M4/M5	Rearranjo genético 11q23

Fonte: Hematologia Laboratorial- Leucócitos.

A imunofenotipagem também tem uma importante participação na distinção entre LMA minimamente diferenciada e leucemia linfóide aguda (LLA), além de fornecer detalhes dos diferentes fenótipos das LMAs, permitindo uma classificação mais precisa e não somente a morfologia. Além da imunofenotipagem ser uma metodologia ágil, o que a torna atrativa para ser incorporada na prática médica de rotina, o estudo das características imunofenotípicas das LMAs possui também interesse de investigação clínica. Entre estes podemos destacar:

- determinar a sensibilidade diagnóstica do imunofenótipo e sua relação com os subtipos FAB;
- examinar a relação entre expressão de antígenos, subtipos FAB, anormalidades cromossômicas e características clínicas;
- avaliar o significado prognóstico dos diferentes achados imunofenotípicos e comparar com outros fatores prognósticos, especialmente a morfologia e a citogenética;
- detectar a doença residual mínima.

As demais classificações imunofenotípica têm importância diagnóstica e prognóstica em alguns subtipos FAB. Assim, ela é essencial para o diagnóstico das LMA-M0 e LMA-M7, sendo auxiliar no diagnóstico das LMA-M3, LMA-M2, LMA-M4 Eo e LMA-M5.

Provavelmente a classificação sugerida pela OMS que destaca as características biológicas da doença ao invés da morfologia, será mais aceitada por médicos e pesquisadores que buscarem uma melhoria nas medidas preventivas, como alternativas de novas terapias para esses pacientes.

Quadro Clínico

Com a diminuição no processo de produção de novas células normais na medula óssea, juntamente com a redução dessas células circulantes no sangue periférico, tem desencadeado vários sintomas nos pacientes como: Diminuição na produção de glóbulos vermelhos, provocando palidez, cansaço fácil e sonolência; Redução na produção de plaquetas, causando manchas roxas em locais não relacionados a traumas; também podem aparecer pequenos pontos vermelhos sob a pele (*petéquias*) ou sangramentos prolongados resultantes de pequenos ferimentos e diminuição na produção de glóbulos brancos, aumentando o risco de infecção. As células leucêmicas também podem se alojar no líquido cefalorraquiano, causando dores de cabeça e vômitos.

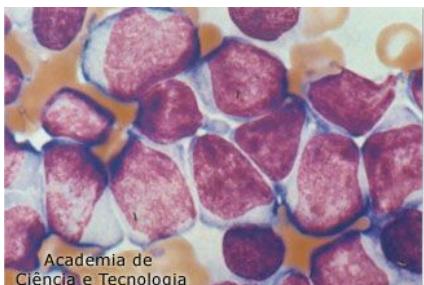
Alguns quadros clínicos são mais comuns em certos tipos de LMA. Podemos citar como exemplo a infiltração do sistema nervoso central e de tecidos moles (que pode causar hipertrofia gengival e lesões nodulares na pele) são observadas com maior freqüência nas LMA com envolvimento da linhagem monocítica (LMA M4 e M5). A manifestação clínica que mais se caracteriza na leucemia promielocítica aguda (LMA M3) é o sangramento grave, adjunto à coagulação intravascular disseminada (CIVD) em decorrência da ação semelhante à tromboplastina procedente dos grânulos primários presentes nos promielócitos anômalos dessa doença.

De qualquer maneira, os sinais e sintomas da leucemia não são específicos e podem indicar várias outras doenças, sendo necessária a realização do diagnóstico laboratorial para firmar diagnóstico da doença.

Diagnóstico Laboratorial

O diagnóstico laboratorial da LMA nem sempre é fácil, uma vez que se inicia a partir da suspeita clínica do paciente e se baseia na análise do sangue periférico e da medula óssea, que depende da identificação morfológica de blastos presentes.

LMA-M0



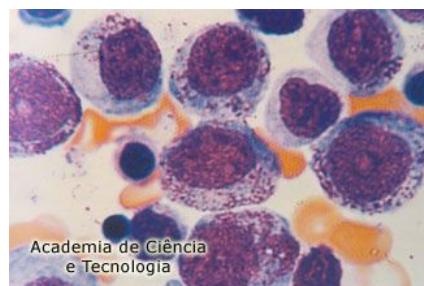
LMA-M1



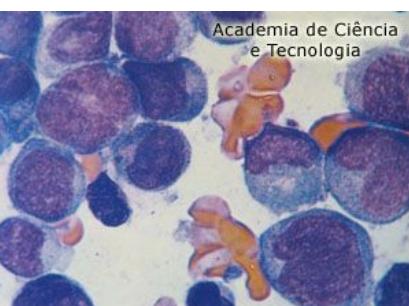
LMA-M2



LMA-M3

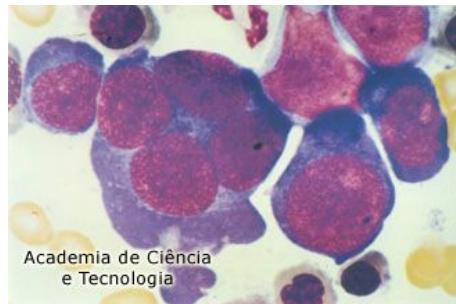
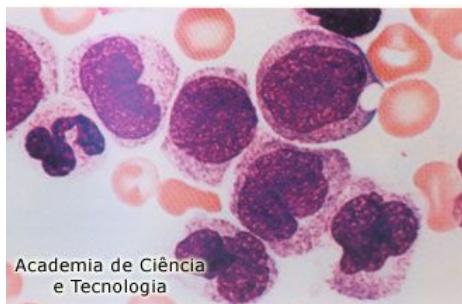


LMA-M5a

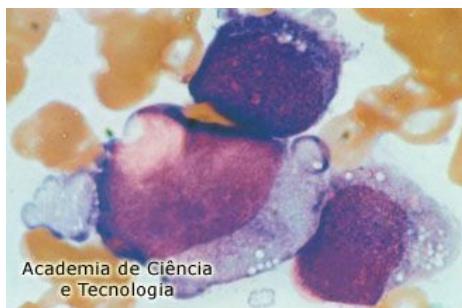


LMA-M5b

LMA-M6



LMA-M7



Fonte: <http://www.ciencianews.com.br/atlas-hemat/leucemias/leucemias-index.htm>

O hemograma dos pacientes com LMA comumente apresenta leucocitose acentuada especialmente pela presença de mieloblastos, que correspondem à maior parte da contagem diferencial do leucograma. Em consequência a produção de outras séries também são afetadas, podendo observar com freqüência a presença de plaquetopenia e anemia normocítica e normocrômica.

Tabela 4. Hemograma típico de paciente com LMA.

Eritrograma: Ht= 27,0%; Hb= 9,1g/dl; VCM= 96 fl; HCM =29 pg

Leucograma:

Leucócitos totais = 86.000 / mm³

Neutrófilos segmentados: 5%

Linfócitos típicos: 3%

Monócitos: 1%

Mieloblastos: 91%

Plaquetas = 35.000/mm³

Fonte: Hematologia Laboratorial- Leucócitos.

Sabendo que a morfologia é considerada um método fundamental para o diagnóstico, técnicas adicionais foram incluídas no intuito de melhorar a especificidade das mesmas dentre elas estão: imunofenotipagem, avaliação citogenética e estudos de genética molecular, as mesmas tornaram-se essenciais e, em alguns casos específicos, são ferramentas complementares obrigatórias. O uso de procedimentos diagnósticos permite a identificação do tipo de célula envolvida na leucemia, o que é de extrema importância para orientar a terapêutica e determinar, até um determinado ponto específica o prognóstico das leucemias.

A imunofenotipagem é realizada por meio de anticorpos monoclonais marcados, que reconhecem epítopos específicos de抗ígenos celulares. As técnicas empregadas na imunofenotipagem podem ser a citometria de fluxo ou a imunocitoquímica. A importância da imunofenotipagem reside, principalmente, no diagnóstico das LMA M0 e M7, mas também em alguns casos de M5a, além de auxiliar no diagnóstico das LMA M3, LMA M2 e LMA M1/M2.

Tabela 5. Os principais marcadores imunofenotípicos relacionados aos subtipos de LMA.

Marcadores	LMA-M0/M1/M2	LMA-M3	LMA-M4/M5a/M5b	LMA-M6	LMA-M7
CD13/CD33	++	++	++	+	++
CD65	±/+/++	+	++	±	±
MPO	-/+/++	++	++	+	-
CD11c	- ou ±	-	++	-	-
CD14	-	-	+/-/++	-	-
CD15	±/±/++	±	-	-	-
CD36	-	-	+	++	+
H-antígeno	-	-	-	++	+
CD235a					
(Glicoforina A)	-	-	-	+	-
CD41/CD61	-	-	-	-	++
CD42	-	-	-	-	+
CD34	++/++/+	±	±/±/±	+	++
CD117	++	+	+	+	+
HLA-DR	++/++/+	-	++	+	++
TdT	+	±	+	+	±

Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas • J Bras Patol Med Lab • *Adaptado de Szczepanski et al., 2006.*

Enquanto a citometria de fluxo é realizada com maior freqüência para a diferenciação de leucemias mielóide e linfóide, e possui grande importância, na monitorização de pós-tratamento da LMA para detecção de doença residual mínima. Sendo esta utilizada na identificação dos subtipos de LMA, como a LMA M0, e na distinção da leucemia promielocítica aguda (M3) da LMA M1/M2.

A citogenética e os estudos moleculares freqüentemente detectam anormalidades dentro do clone leucêmico, podendo sugerir o diagnóstico e/ou o prognóstico. As aberrações citogenéticas adquiridas são detectadas em 55%-75% de pacientes recentemente diagnosticados com LMA. A análise citogenética é convencionalmente realizada através da análise microscópica dos cromossomos das células da medula óssea durante a metáfase. Pode ser complementada por técnicas de

hibridização *in situ*, particularmente a hibridização fluorescente *in situ* (FISH), sendo importante para a confirmação de rearranjos recorrentes presentes. Atualmente, a análise citogenética tem sido considerada um instrumento primordial no diagnóstico, para a determinação do fator prognóstico da LMA.

O diagnóstico de genética molecular fundamenta-se na análise do ácido desoxirribonucléico (DNA) por meio de técnicas específicas dentre elas, análise de Southern blot ou reação em cadeia da polimerase (PCR), ou por meio do ácido ribonucléico (RNA) por PCR da transcriptase reversa (RT-PCR) e também por PCR em tempo real (RQ-PCR). A genética molecular tem por finalidade diagnosticar a clonalidade, através da detecção de recombinação de genes que expressam imunoglobulinas, quanto pela identificação de recombinação molecular característica de um determinado tipo de LMA.

A citogenética e a genética molecular tem sido de extrema importância para a classificação e compreensão de mecanismos patogênicos nas LMA, sendo cada vez mais apreciadas no contexto clínico.

Tratamento

O principal objetivo do tratamento é atingir a remissão, ou seja, a ausência de células blásticas no sangue e na medula óssea restabelecendo a produção normal de células sanguíneas é restaurando a contagem das células sanguíneas aos níveis normais. O tratamento consiste na administração de quimioterapia intensiva para se atingir remissão completa, utilizando-se associações de quimioterápicos.

O tempo de sobrevida desses pacientes está relacionado com o tempo no qual os pacientes se mantêm em remissão completa. Pacientes não tratados ou que não entram em remissão completa morrem em média entre dois a quatro meses, a partir do diagnóstico.

Referências Bibliográficas

Chauffaille L.F. M. L, Borri D, Martins L. R .M, Leucemia mielóide aguda t (8;21): Frequência em pacientes brasileiros. Rev. Bras.Hemato. Hemoter. São José do Rio Preto- SP 2004 v26. n 2.

Felipe A.R, Lazaro R.J, Takihi L.Y, Ioshida M.R, Guerra C.C. C, Rosenfeid L.G.M, Bacal N.S. Diagnóstico laboratorial de leucemia mieloide aguda no período de janeiro a dezembro de 2003 no Centro de Hematologia de São Paulo.2003.

Hamerschlak N. et al. Estudo retrospectivo do tratamento de leucemia mielóide aguda com transplante de medula óssea: a experiência brasileira. Rev. Bras. Hemato.Hemoter.2006 v28 n1 p.11-18.

Martins S.L.R, Falcão R.P. A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda.Rev. Assoc.Med. Bras. São Paulo 2000 v46 n1.

Naoum F.A, Naoum P.C. Hematologia Laboratorial Leucócitos. Editora Acadêmia de Ciencia e Tecnologia. São José do Rio Preto- SP 2010.

Silva C.G, Pilger A. D, Castro M. S, Sandrine C. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. J Bras Patol Med Lab. Rio de Janeiro 2006; v42 n.2 p77-84.

Rubnitz E.J, Gibson B, Smith O.F. Leucemia mielóide aguda. Pediatr Clin N AMSS 2008; p 21-51.

Vasconcelos C.R. Avaliação dos marcadores celulares por citometria de fluxo em pacientes com leucemia mielóide aguda. Rev .Bras.Hematol.Hemoter.São Paulo 2010 v32 n3.

Zanichelli A.M, Cristófani M.L, Almeida A.T.M, Júnior M.T.P, Filho O.V.Perspectivas para a leucemia mielóide aguda na infância após a observação de um grupo de pacientes tratados convencionalmente.Rev.Bras.Hematol. São José do Rio. 2006 v28 n.4.

Zanichelli A.M. Leucemia mielóide aguda. Associação Brasileira de Linfoma e Leucemia. 2004.