

Gustavo de Mendonça

Diagnóstico Laboratorial da Policitemia Vera

Academia de Ciência & Tecnologia

São José do Rio Preto - SP

RESUMO

A mutação JAK2 V617F foi descrita em 2005 nas neoplasias mieloproliferativa BCR-ABL negativas. A frequência da mutação é de aproximadamente 96%. A detecção laboratorial da mutação JACK2 V617F tem alta sensibilidade (97%) e que pode chegar a 100% de especificidade para distinguir a PV das outras causas de eritrocitose. O diagnóstico da PV se dá em média entre os 50 e os 60 anos, embora ela possa se manifestar também mais raramente em pessoas jovens. Os níveis de hemoglobina superiores a 18,5g/dL nos homens ou 16,5g/dL nas mulheres ou níveis de hemoglobina superiores a 17g/dL nos homens ou a 15g/dL nas mulheres quando associados a um aumento de no mínimo 2 g/dL relativo à linha de base do paciente. De 10 a 25% dos pacientes com PV possuem anormalidade cromossômica ao diagnóstico, chegando a 50% com a progressão da doença. A deleção no braço “q” do cromossomo 20 é uma das alterações ao exame citogenético mais comuns, entretanto seu significado prognóstico não está bem definido. Acredita-se que essa deleção seja responsável pela inativação de um ou mais genes supressores de tumor, embora esses genes ainda não tenham sido identificados. A mutação V617F no gene JAK2 no cromossomo 9p24.1 foi identificada recentemente em leucócitos no sangue periférico da maioria dos pacientes com PV e em cerca da metade dos casos de mielofibrose primária e trombocitemia essencial.

Palavras Chave: *Mutação JAK2; Policitemia Vera; Eritropoetina; Eritrocitose, Neoplasia Mieloproliferativa.*

INTRODUÇÃO

A policitemia vera (PV), também conhecida por policitemia rubra vera e policitemia proliferativa primária, é uma neoplasia mieloproliferativa, causada pela mutação JAK2 V617F, em que há um distúrbio das células hematopoiéticas precursoras e conseqüentemente um aumento na síntese de hemácias, e também, na maioria das vezes pode ocorrer um aumento na síntese de granulócitos e plaquetas.

A mutação JAK2 V617F foi descrita em 2005 nas neoplasias mieloproliferativa BCR-ABL negativas. A frequência da mutação é de aproximadamente 96%. A detecção laboratorial da mutação JACK2 V617F tem alta sensibilidade (97%) e que pode chegar a 100% de especificidade para distinguir a PV das outras causas de eritrocitose. Em 3% dos casos, em que não há mutação JAK2 V617F, observou-se mutações no exon 12 do gene JAK2.

Por se tratar de uma neoplasia mieloproliferativa (NMP), o termo policitemia deve ser utilizado com muito cuidado, sendo preferível utiliza-lo somente quando realmente se tratar de uma NMP. A PV é caracterizada por risco de transformação em mielofibrose ou em leucemia mielóide aguda/síndrome mielodisplásica (LMA/SMD) de 5% a 15% após dez anos de doença, isto é, é uma doença crônica, rara e de evolução lenta, e que possui três fases: a pré-policitêmica com uma leve eritrocitose, a fase policitêmica evidenciada por um significativo aumento da massa eritrocitária, e por último a fase pós-policitêmica (ou de esgotamento) a qual evoluiu para mielofibrose com hipocelularidade, devido a hematopoese ineficaz, como conseqüência tem-se fibrose medular, hepatopoiese extra medular e esplenomegalia. Ainda assim o risco de evolução para uma fase leucêmica é baixo.

O diagnóstico da PV se dá em média entre os 50 e os 60 anos, embora ela possa se manifestar também mais raramente em pessoas jovens. A causa da PV ainda é estudada. Sabe-se que a doença é de origem clonal, isto é, se dá pela mutação de uma célula precursora, a stem-cell na medula óssea, que por sua vez, tem um crescimento seletivo e gradual, com a evolução da doença, ela se torna maior que o número de células precursoras normais, prejudicando as células sadias da medula óssea.

Como conseqüência do excesso de eritrócitos no sangue periférico, se tem um aumento do volume sanguíneo, tornando-o mais espesso e viscoso, de modo que o sangue passa a fluir com maior dificuldade pelos vasos de pequeno calibre. Logo, os sintomas iniciais aparecem, como hipertensão, fraqueza, fadiga, cefaleia, tontura e falta de ar. A visão pode apresentar-se distorcida e paciente também pode ver manchas cegas ou flashes de luz. Outros sintomas presentes no paciente com PV e que ele pode apresentar são: sangramento gengival, face avermelhada, prurido, sobretudo após um banho quente, sensação de queimação nas mãos e nos pés, e mais raramente, dor óssea. E como dito anteriormente, com a progressão da doença, o fígado e o baço podem aumentar de tamanho, causando dor abdominal.

Gustavo de Mendonça

Pelo modo silencioso de instalação das NMP, é comum que o diagnóstico seja realizado de maneira acidental, sem a suspeita clínica. De modo que, o hemograma se torna essencial na suspeita e no direcionamento para a confirmação diagnóstica, utilizando-se da análise morfológica e histológica da medula óssea, testes citogenéticos ou moleculares.

Os níveis de hemoglobina superiores a 18,5g/dL nos homens ou 16,5g/dL nas mulheres ou níveis de hemoglobina superiores a 17g/dL nos homens ou a 15g/dL nas mulheres quando associados a um aumento de no mínimo 2 g/dL relativo à linha de base do paciente. Estes resultados, juntamente com a mutação na JAK2 são considerados os critérios maiores no diagnóstico da PV. Os critérios menores para diagnóstico incluem o nível sérico baixo de eritropoietina (EPO), histologia da medula óssea compatível com NMP e crescimento de colônias eritróides endógenas. O diagnóstico de PV requer a presença desses achados.

DISCUSSÃO

Em termos de nomenclatura, alguns ainda consideram eritrocitose e policitemia como sinônimos. Há outros que afirmam que o termo “policitemia” deva ser designado aos pacientes com aumento comprovado da massa eritrocitária, e que o termo “eritrocitose” deva ser entendido como um aumento na concentração de eritrócitos na corrente circulatória, baseando-se no número de hemácias, concentração de hemoglobina ou determinação do hematócrito. Por outro lado, há os que defendam o uso exclusivo do termo “policitemia vera”, a verdadeira na designação da doença mieloproliferativa clonal (NMP), e que envolva basicamente as três linhagens celulares, eritrócitos, granulócitos e plaquetas.

O que acontece é que no diagnóstico diferencial de uma policitemia secundária (PS) o que se observa é um aumento de eritrócitos circulantes e da massa eritrocitária pela ação da eritropoetina (EPO) ou devido a problemas no seu receptor. Ao contrário da PV, já que as PS não apresentam aumento de leucócitos, e da quantidade de plaquetas ou mesmo esplenomegalia. As PS estão mais associadas a distúrbios cardiopulmonares, doença pulmonar obstrutiva crônica, síndrome de apneia do sono, policitemia do fumante, policitemia renal dos tumores produtores de eritropoetina, doença renal policística, policitemia das altitudes e grandes miomas, dentre outras. Estudos complementares como gasometria arterial, ultrassonografia de abdômen, estudo do sono e avaliação ginecológica, dentre outros, podem favorecer o diagnóstico diferencial

Existem os pacientes que podem apresentar sinais clínicos sugestivos da PV mas que não possuem os valores de hemoglobina elevados para poder fechar o diagnóstico. Estes, tanto podem estar em fase pré-policitemica, quanto possuem uma eritrocitose idiopática.

Alguns casos sugestivos de PV com deficiência de ferro podem prejudicar a interpretação. O tratamento para suprir a deficiência de ferro pode não ser o mais correto a se fazer, já que o aumento súbito de hemoglobina pode oferecer risco ao paciente.

Para minimizar as consequências de o teste molecular gerar um resultado falso-positivo, para o diagnóstico de PV, segundo a OMS há a necessidade do preenchimento de dois critérios maiores (valores aumentados de hemoglobina conforme os parâmetros ditos anteriormente: nos homens $Hb > 18,5g/dL$ e nas mulheres $> 16,5g/dL$ e também a mutação JAK2) e um critério menor como por exemplo, a dosagem de eritropoetina diminuída ou alterações no exame de biopsia de medula óssea, dentre outros, ou mesmo ele pode ser feito pela presença de um critério maior e dois menores. Porém, sem eritrocitose o diagnóstico de PV não é possível.

De 10 a 25% dos pacientes com PV possuem anormalidade cromossômica ao diagnóstico, chegando a 50% com a progressão da doença. A deleção no braço “q” do cromossomo 20 é uma das alterações ao exame citogenético mais comuns, entretanto seu significado prognóstico não está bem definido. Acredita-se que essa deleção seja responsável pela inativação de um ou mais genes supressores de tumor, embora esses

genes ainda não tenham sido identificados. A mutação V617F no gene JAK2 no cromossomo 9p24.1 foi identificada recentemente em leucócitos no sangue periférico da maioria dos pacientes com PV e em cerca da metade dos casos de mielofibrose primária e trombocitemia essencial.

No diagnóstico diferencial da PV no sangue periférico, tem-se a poliglobulia, hematócrito elevado e hiperviscosidade; a morfologia dos eritrócitos é na maior parte das vezes normal, e somente com o avanço da doença, é que surgem as alterações qualitativas, como por exemplo, a anisocitose, a poiquilocitose e eritroblastos circulantes. Os leucócitos podem estar em quantidade normal ou pouco aumentada, onde também se observa basofilia na maioria dos casos. As plaquetas também podem estar em quantidade normal ou discretamente aumentadas, apresentando frequentemente alterações tanto em sua morfologia quanto na funcionalidade, onde se observa respectivamente a presença de macroplaquetas e agregação diminuída com adrenalina e ADP. No mielograma, evidencia-se hiperplasia da série eritroblástica, com aumento de megacariócitos. A fibrose medular se apresenta em grau variável. A PV poderá evoluir para um quadro de leucemia aguda, sendo mais comum a do tipo mielóide. Aparentemente o maior número de casos com esta evolução é dos que receberam a quimioterapia, e que neste caso, deixa-se de existir a poliglobulia, dando lugar a oligocitemia. A reação de fosfatase alcalina nos neutrófilos costuma dar escore normal ou aumentado, diferente do que acontece na Leucemia mielóide crônica. Os testes de coagulação podem dar resultados normais, conforme cada caso. Pois, os pacientes com PV possuem tendência para hemorragias e complicações trombóticas, dependendo do número ou do estado funcional das plaquetas. Podendo ocorrer algumas vezes a ativação plaquetária e que juntamente com a poliglobulia, leva ao aparecimento de fenômenos tromboembólicos. Como as plaquetas podem estar alteradas funcionalmente há a tendência para hemorragias. Outros achados incluem a dosagem de ácido úrico que pode estar aumentada, assim como a dosagem de vitamina b12. Por fim, na biópsia de medula óssea, costuma haver aumento discreto ou acentuado de megacariócitos, de fibras reticulínicas e da celularidade global.

A pesquisa da mutação JAK2 por PCR em tempo real favorece o diagnóstico de doença clonal. Em média 90% dos casos de PV apresentam mutação JAK2 V617F. Embora a mutação também possa estar presente em 50% com trombocitemia essencial e 60% de pacientes com mielofibrose.

O JAK2 V617F por ser uma tirosinoquinase constitutivamente ativada, resulta em hiperativação da via de sinalização correspondente, levando à proliferação eritróide independente da EPO. Por este motivo é que se espera que os valores de eritropoetina estejam abaixo da normalidade. O que se justifica em pacientes com PV, terem sido encontradas mutações no gene do receptor da EPO, que pode ter contribuído no aumento da sensibilidade dos precursores eritróides à ação da EPO.

Após a fase policitêmica, tem-se a pós-policitêmica, que para fins de diagnóstico são necessários: 1) diagnóstico prévio documentado de PV, segundo critérios da OMS. 2) fibrose na medula grau 2-3 (na escala de 0-3) ou 3-4 (na escala de 0-4), juntamente com dois outros: 1. Anemia ou perda sustentada por flebotomia ou uso de medicação citorrredutora para a eritrocitose; 2. Quadro periférico de leucoeritroblastose; 3. Esplenomegalia progressiva definida tanto por baço palpável a mais de 5 cm do RCE ou

aparecimento de baço palpável; 4. Desenvolvimento de mais de um dos três sintomas constitucionais: perda de >10% do peso nos últimos seis meses; sudorese noturna e febre >37,5°C, sem causa aparente. Hemograma: apresentando aumento do número de hemácias, Hb e Ht; leucocitose pode estar presente com desvio até mielócitos; basofilia, eosinofilia e monocitose. A quantidade de plaquetas pode estar aumentada, geralmente entre 500.000 e 1.000.000/uL. Mileograma e biópsia de medula óssea: geralmente com hiperplasia e com hiperplasia de todos os elementos (mesmo não sendo observada, a hiperplasia, não se pode excluir o diagnóstico). Também se observa atipias de megacariócitos, com variação de tamanho e predomínio de células grandes e com núcleos hiperlobulados. Pode haver discreto aumento de fibras reticulínicas, mas a fibrose só ocorre em casos que progredem para fase de esgotamento. A coloração Perls não demonstra depósito de hemossiderina na biópsia. Cariótipo: alterações cromossômicas são observadas em cerca de 10% a 30% dos casos, ao diagnóstico, e as mais comuns são: +8, +9, deleção no braço q do cromossomo 20, ganho de material no 1q, del(1q) e del(13q). Com o progredir da doença, a taxa de anormalidade citogenética atinge algo em torno de 80%, particularmente

Nos casos em fase fibrótica pós-policitêmica chega a quase 100% nos casos transformados em leucemia aguda. Pesquisa da mutação JAK2 V617F e outras: pesquisa da presença de mutação V617F e JAK2 éxon 12 por meio de PCR alelo específico e sequenciamento para eventual detecção de outras mutações. Pacientes com trombose venosa abdominal idiopática devem ser submetidos à pesquisa da mutação JAK2, pois podem progredir para PV. Entretanto, apenas a presença da mutação nesses casos não conclui como PV, mas como doença mieloproliferativa não classificada.

CONCLUSÃO

Contudo, as manifestações clínicas da PV são variadas; sua terapêutica é direcionada para a redução de volume e viscosidade sanguíneos e do número de plaquetas, por meio de flebotomia, administração de fósforo radioativo e outros agentes quimioterápicos como a Hidroxiuréia, que pode ser utilizada em qualquer idade, apesar de seu efeito leucemogênico. A Aspirina também pode ajudar, diminuindo o risco de morte por infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral. Sugere-se que, todos os pacientes devam iniciar o tratamento com sangrias terapêuticas, com o intuito de manter o hematócrito abaixo de 45%. Entretanto, nenhuma medida adicional deve ser utilizada em paciente de baixo risco para trombose. Já os pacientes de alto risco trombóticos ou que desenvolvam trombocitose ou esplenomegalia progressiva, devam iniciar com um agente mielosupressor. a-interferon ou anagrelide podem ser usados em pacientes jovens, já em gestantes, a droga de escolha é a Alfa-interferon.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

MORETTI, M.P; et al. Policitemia vera: relato de caso *Arquivos Catarinenses de Medicina Santa Catarina*, v. 37, n. 3, p. 77-78, 2008.

MACEDO, J. et al. Policitemia vera: a propósito de um caso clínico *Revista de pediatria do centro hospitalar do porto Portugal*, v. 24, n. 2, p. 83-86, 2015.

RIBEIRO, J.C.C. et al. Duas classes de mutação na evolução de policitemia vera para leucemia mieloide aguda *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*. São Paulo, 2009.

SILVA, S.C et al. Neoplasias hematológicas no idoso: uma revisão *Revista Saúde Integrada Santo Ângelo-RS*, v.8, n. 15-16, 2015.

CHAUFFAILLE, M. L. F Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* São Paulo-SP, 2009.

BRÁS, G.P Neoplasias mieloproliferativas: perfil genotípico e fenotípico das trombocitemias essenciais *Instituto de ciências biomédicas de Abel Salazar Universidade do Porto Portugal*, 2011.

SANTOS, L.C Estudo citogenético de mutações nos genes JAK2 e MPL em policitemia vera, mielofibrose primaria e trombocitemia essencial *Universidade federal de São Paulo*, 2010.

FREITAS, R.M Análises de mutações nos genes JAK2 em pacientes com diagnóstico clínico de policitemia vera atendidos em um único centro da cidade de Juiz de Fora, Juiz de Fora-MG, 2014.

BANDEIRA, F.M.G.C et al Hidroxiuréia em pacientes com síndromes falciformes acompanhados no Hospital Hemope, Recife-PE *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* 2004.

NOUM, F.A Doenças que alteram os exames hematológicos. 2ªEdição. Rio de Janeiro: Atheneu, 2017. 158-159p.

WILLIAMSON, A.MARY; SNYDER, L. MICHAEL Wallach: Interpretação de exames Laboratoriais. 10ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. 219-221p.

FAILACE, R.; Fernandes, F. Hemograma: Manual de interpretação. 6ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2015. 248p.

LORENZI, T. F. Manual de hematologia: propedêutica e clínica. 4ª Edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 347p.

BAIN, B. J. Células Sanguíneas: Um guia prático. 5ª Edição. Porto Alegre: Artmed, 2016. 383-386p.

ZAGO, M. A.; FALCÃO, R. P.; PASQUINI, R. Tratado de hematologia. 1ª Edição. São Paulo: Atheneu, 2013. 261-265p.