

Diagnóstico laboratorial de leucemia mielomonocítica crônica agudizada em associação com leucemia linfocítica crônica: aspectos morfológicos e imunofenotípicos

Iris Mattos Santos
Carine Muniz Ribeiro Franzon
Adolfo Haruo Koga

Laboratório Médico Santa Luzia,
São José, SC, Brasil

A Leucemia Mielomonocítica Crônica (LMMC) é uma desordem clonal de células-tronco hematopoiéticas caracterizada principalmente por monocitose absoluta no sangue periférico. Esta doença pode apresentar características de síndromes mielodisplásicas e de doenças mieloproliferativas. De acordo com a classificação estabelecida pela OMS, a LMMC está inserida no grupo de neoplasias mieloproliferativas/mielodisplásicas e seu diagnóstico requer a presença de monocitose persistente no sangue periférico e sinais de mielodisplasia envolvendo uma ou mais linhagens mielóides. Além disso, deve apresentar ausência de cromossomo Philadelphia ou fusão BCR/ABL e menos de 20% de blastos no sangue e na medula óssea. Fenotipicamente, as células presentes na LMMC podem apresentar antígenos de membrana como o CD33 e o CD13, forte expressão de CD56 e CD2 e expressão variável de HLA-DR, CD36, CD14, CD15, CD36, CD68 e CD64, sendo que um aumento da expressão de CD34 pode estar associada a uma transformação para leucemia aguda. Alterações citogenéticas são frequentes na LMMC e mutações moleculares como NRAS já foram identificadas. O presente artigo trata-se de um estudo de caso de uma LMMC agudizada, diagnosticada através de achados morfológicos e fenotípicos que, embora sugiram uma Leucemia Monocítica Aguda, pôde ser diferenciada através de uma minuciosa análise da morfologia celular. Além disso, foram encontradas células típicas de Leucemia Linfocítica Crônica (LLC), tornando este caso um achado raro.

Descritores: Leucemia mielomonocítica crônica; Leucemia mielomonocítica aguda; Leucemia linfocítica crônica de células B; Relato de caso

Introdução

Na década de 80, a Leucemia Mielomonocítica Crônica (LMMC) era classificada pelo sistema FAB (Franco-Americano-Britânico) como uma subcategoria das Síndromes Mielodisplásicas. No entanto, percebeu-se que apresentava características comuns às doenças mieloproliferativas⁽¹⁾ e, em 2001, a Organização Mundial da Saúde (OMS), juntamente à Sociedade de Hemopatologia e à Associação Europeia de Hematologia, publicou a Classificação dos Tumores Hematopoiéticos e Tecidos Linfóides, que inseriu a LMMC no novo grupo das Doenças Mieloproliferativas/Mielodisplásicas⁽²⁾.

A LMMC é uma doença clonal de células-tronco hematopoiéticas caracterizada por monocitose absoluta no sangue periférico em conjunto com sinais de displasia e proliferação celular. Os critérios de diagnóstico incluem: monocitose persistente (periférico $> 1 \times 10^9/L$) no sangue periférico; ausência do cromossomo Filadélfia ou do gene de fusão BCR/ABL; $< 20\%$ de blastos (incluindo mieloblastos, monoblastos ou promonócitos) no sangue periférico ou na medula óssea; displasia em uma ou mais linhagens celulares; e ausência do rearranjo PDGFRA ou PDGFRB (devem ser excluídos em casos que apresentem eosinofilia)⁽³⁻⁶⁾. Na maioria dos casos, a contagem de monócitos corresponde a mais de 10% do número total de leucócitos, podendo chegar a $80 \times 10^9/L$ ⁽³⁾.

Esta doença pode ser classificada de acordo com o número de blastos e promonócitos presentes no sangue periférico e na medula óssea da seguinte maneira: LMMC-1, que é caracterizada pela presença de $< 5\%$ de blastos no sangue periférico e $< 10\%$ de blastos na medula óssea; LMMC-2, que apresenta de 5 a 19% de blastos no sangue periférico ou de 10 a 19% na medula óssea, ou apresentam Bastonetes de Auer e blastos são $< 20\%$ no sangue periférico e na medula óssea e; em LMMC-1 ou LMMC-2 com eosinofilia que apresenta contagem de eosinófilos no sangue periférico superior a $1,5 \times 10^9/L$ ⁽²⁾. A medula óssea pode apresentar hiperplasia monocítica ou granulocítica. Quando a hiperplasia granulocítica é proeminente, fica difícil distinguir a população de monócitos normais dos mielócitos, já que estas células apresentam-se hipo ou desgranulares. Neste caso, colorações citoquímicas podem ajudar a identificar os monócitos⁽⁶⁾. Pode ocorrer a presença de discreta anemia e de macroplaquetas, assim como alterações displásicas nestas células também⁽³⁾.

Com relação à imunofenotipagem, alguns marcadores são utilizados para auxiliar no diagnóstico da LMMC, como a expressão de antígenos mielomonocíticos como CD33 e CD13, expressões variáveis de CD68 e CD64, expressão diminuída de CD14. A diferenciação morfológi-

Conflito de interesse:
Os autores declaram não haver conflito de interesse

Submissão: 5/1/2012
Aceito: 20/2/2012

Autor correspondente:

Iris Mattos Santos
Laboratório Médico Santa Luzia,
Setor de Hematologia
Rua Leoberto Leal nº 1200, Barreiros
88.110-001 São José, Santa Catarina, Brasil
irismattossantos@yahoo.com.br

www.rbhh.org or www.scielo.br/rbhh

DOI: 10.5581/1516-8484.20120058

ca entre a LMMC e a Leucemia Mieloide Aguda Monocítica pode ser difícil⁽³⁾. Fenotipicamente, a LMMC apresenta expressão aberrante de CD56 nas células de linhagem monocítica, assim como ocorre na LMA Monocítica. No entanto, essa expressão aberrante combinada com uma expressão diminuída de um marcador mielóide (HLA-DR, CD13, CD15, CD36 ou CD64) pode ser específica para a LMMC, assim como a expressão aberrante de CD2. Além deste marcador, a presença de altas proporções de células da linhagem granulocítica e baixas da linhagem monocítica são detectadas na LMMC quando comparadas à LMA monocítica⁽⁴⁾.

Alterações citogenéticas clonais não específicas ocorrem em 20 a 40% dos pacientes, como a trissomia do 8 e a monossomia 7/ deleção 7q. Além disso, está frequentemente relacionada a alterações genéticas como mutações de ponto nos genes RAS^(2,6). Para o diagnóstico diferencial desta neoplasia devem-se considerar todas as doenças causadoras de monocitose, como infecções crônicas e agudas, processos inflamatórios crônicos e algumas neoplasias, como o Linfoma de Hodgkin e a Leucemia Mieloide Crônica⁽³⁾.

A idade média para o diagnóstico desta doença é de 70 anos e sua etiologia é desconhecida, podendo estar relacionada a fatores carcinógenos e radiação ionizante. A LMMC compromete o sangue periférico e a medula óssea, assim como outros órgãos como baço, fígado, pele e linfonodos. Ela apresenta uma sobrevida mediana de apenas um ano. No entanto, fatores como baixa dosagem de hemoglobina, plaquetopenia, leucocitose, monocitose, linfocitose, presença de células mielóides imaturas no sangue periférico, alto percentual de blastos e diminuição da série eritroide na medula óssea, alterações citogenéticas e altos níveis de LDH e β 2-microglobulina são responsáveis por diminuir ainda mais a sobrevida. Além disso, aproximadamente 1/3 dos pacientes evolui para a leucemia aguda, o que significa um pior prognóstico^(7,8). O presente trabalho trata-se de um estudo de caso sobre o diagnóstico laboratorial de uma LMMC agudizada que demonstrou a ocorrência simultânea de células típicas de Leucemia Linfocítica Crônica (LLC).

Relato de caso

Amostra de um paciente de 72 anos chega ao laboratório com indicação clínica de leucose aguda e febre. Os exames bioquímicos demonstraram LDH 1713 U/L, PCR 12,94 mg/L, creatinina 1,60 mg/dL e ácido úrico 7,5 mg/dL. O hemograma apresentou contagem total de leucócitos igual a $193.270 \times 10^9/L$, hemoglobina 6.1 g/dL, 9 eritroblastos e contagem de plaquetas de $79 \times 10^9/L$, com 48% de blastos que apresentavam alta relação núcleo: citoplasma, cromatina reticulada e nucléolos visíveis, presença de 38% de granulócitos apresentando retardo maturativo e algumas características displásicas como granulócitos hipogranulares, núcleos hipersegmentados; monócitos vacuolizados com núcleos irregulares e plaquetas gigantes e hipogranulares (Figura 1).

O mielograma mostrou-se hiper celular, apresentando série eritroide hipocelular com maturação mantida, série granulocítica hiper celular (51% de granulócitos) com retardo maturativo e disgranulopoiese (segmentados hipogranulares e hipersegmentados), 53% de blastos, série linfoplasmocitária hipocelular com predomínio de linfócitos maduros e série megacariocítica hipocelular com maturação mantida.

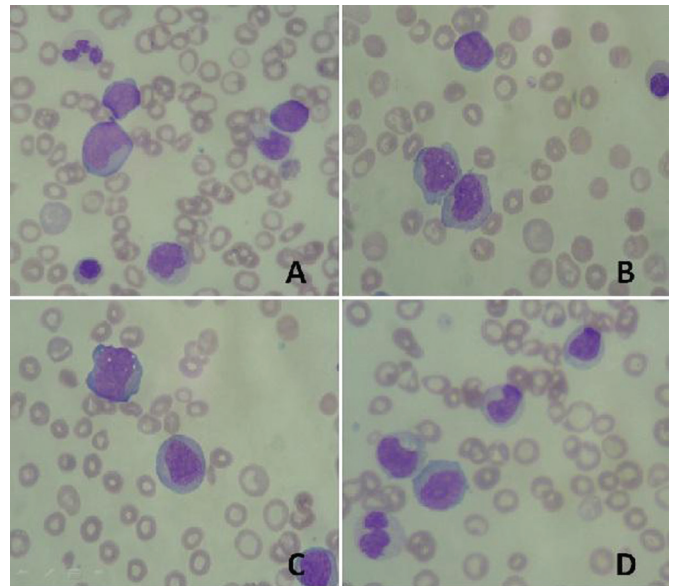


Figura 1 - A - Presença de células blásticas no sangue periférico; B e C - Monócitos vacuolizados, com alterações na lobulação ou na cromatina nuclear e presença de células jovens de linhagem monocítica; D - Presença de displasia na séria granulocítica

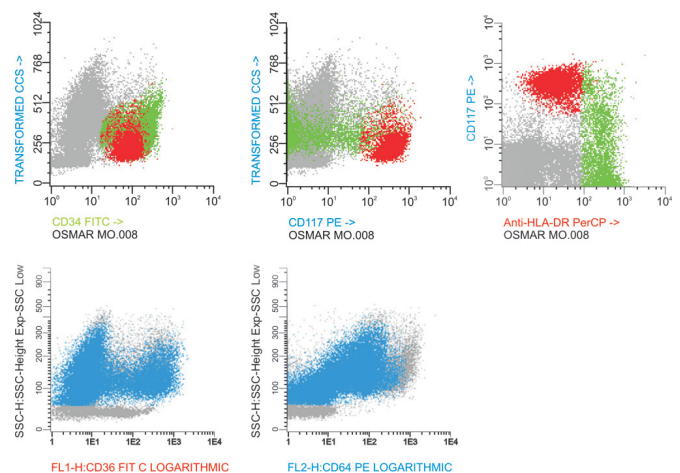


Figura 2 - A - Os blastos mielóides estão divididos em duas populações CD34⁺. B - A população vermelha expressa CD117⁺ e HLA-DR, mostrando que essas células podem estar derivando a linhagem granulocítica. C - Já as células da população verde são CD117⁻; HLA-DR⁺. D e E - Marcadores da segunda população blástica demonstrando CD36⁺ e CD64⁺

Foi realizado um estudo citogenético através da medula óssea, em cultura de 24/48 horas, utilizando *Ethidium bromide* que não apresentou metáfases, não sendo possível definir um diagnóstico cromossômico.

A imunofenotipagem demonstrou a presença de 50% de blastos mielóides na medula óssea, divididos em duas populações. A população 1 era formada por células mais imaturas e de menor tamanho e a população 2, por células mais maduras e maiores. Ambas apresentaram características fenotípicas e caminho maturacional da linhagem monocítica (Figura 2). Além disso, 20% da série granulocítica apresentou alterações displá-

cas como hipogranularidade, com perda da expressão de CD10 e CD16, e expressão anômala de CD11b e CD13 e fraca expressão de MPO nas células maduras. Apresentou também fraca expressão de CD36 e CD64, demonstrando que essas células derivam para a linhagem monocítica/dendrítica.

Demonstrou também a presença de 15% de monócitos com fenótipo de células maduras (CD45⁺⁺⁺) e alterações fenotípicas como a expressão fraca de HLA-Dr, sendo 40% CD14.

Além disso, encontrou-se 1,8% de linfócitos B (CD19⁺) patológicos com restrição para cadeias leves do tipo kappa e expressão antigênica sugestiva de LLC: CD23 e CD5⁺, IgM⁺ fraco, CD79b⁺ fraco, FMC7.

Desta maneira, através dos achados morfológicos e fenotípicos considerou-se o diagnóstico de Leucemia Monocítica Aguda que, diferentemente da LMMC, é mais comumente encontrada em indivíduos jovens⁽²⁾. No entanto, o fundo displásico e a monocitose sugerem uma SMP/SMD - LMMC agudizada e paralelamente a presença de 1,8% de linfócitos clonais frequentes em LLC.

Discussão

Na LMMC, um aumento da expressão de CD34 pode estar associado a uma transformação para leucemia aguda⁽⁶⁾. Através da imunofenotipagem, pôde-se evidenciar a presença de duas populações blásticas com expressão de CD34, sendo uma delas (CD117⁺; HLA-DR⁺⁺; CD36⁺; CD64^{+/+}) derivada da linhagem monocítica/dendrítica. As leucemias agudas de linhagem monocítica caracterizam-se pela presença de mais de 80% de células da linhagem monocítica, incluindo monoblastos, promonócitos e monócitos e menos de 20% de linhagem granulocítica⁽⁹⁾. No entanto, neste caso, a ocorrência de monocitose com alterações fenotípicas na medula óssea, disgranulopoiese e displasia em série monocítica no sangue periférico direciona ao diagnóstico de uma LMMC, que, apresentando este fenótipo aberrante, associado à população blástica (50% de blastos Mieloides), está associada a uma transformação para sua forma agudizada (LMA)^(3,7).

Esse estudo de caso foi fundamental para demonstrar a importância de uma análise minuciosa da morfologia celular, pois a descrição de alterações displásicas no sangue periférico é fundamental para o diagnóstico de síndromes mielodisplásicas/mieloproliferativas, categoria na qual esse tipo de leucemia está classificada. Na LMMC, os monócitos circulantes geralmente são maduros, porém alguns podem apresentar alterações na granulação, na lobulação ou na cromatina nuclear. A displasia pode estar aparente em neutrófilos, causando alterações na lobulação nuclear e na granulação citoplasmática. Como demonstrado anteriormente, o paciente apresentava granulócitos com características displásicas, como neutrófilos hipogranulares, núcleos hipersegmentados; monócitos vacuolizados com núcleos irregulares e plaquetas gigantes e hipogranulares. Além disso, nas doenças Mieloproliferativas/Mielodisplásicas, a medula óssea apresenta-se hiper celular e aparecem alguns sinais displásicos acompanhados de envolvimento de órgãos, leucocitose e dosagem lactato desidrogenase (LDH) elevada^(4,5). No presente caso, o paciente apresentava uma elevação de LDH, hiper celularidade com dis-

plasia da série granulocítica na medula óssea e leucocitose em sangue periférico.

Além disso, na análise da citometria de fluxo, foi demonstrada a presença de células patológicas características de leucemia linfocítica crônica, as quais expressam imunoglobulinas de superfície IgM/IgG com fraca intensidade, CD20⁺, CD22⁺, CD5⁺, CD19⁺ CD79a⁺, CD23⁺, CD43⁺ e CD11c⁺ (fraca expressão). O CD10 é negativo e o FMC7 e o CD79b são usualmente negativos ou fracamente expressos na LLC típica⁽¹⁰⁾. Nesse caso, a imunofenotipagem foi fundamental para demonstrar a presença de um clone de células B patológicas.

Desta maneira, trata-se de um caso raro, pois demonstrou a presença de duas neoplasias hematológicas que não apresentam relação clínica.

Referências

1. Tefferi A. Is chronic myelomonocytic leukemia more akin to myelodysplastic or myeloproliferative neoplasms and does it matter? *Leuk Lymphoma*. 2008;49(7):1225-7. Comment in: *Leuk Lymphoma*. 2008;49(7):1228-9. Comment on: *Leuk Lymphoma*. 2008;49(7):1292-6.
2. Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, Brunning RD, Borowitz MJ, Porwit A, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 2009;114(5):937-51. Comment in: *Blood*. 2010;115(3):748-9; author reply 749-50.
3. Orazi A, Grening U. The myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: myeloproliferative diseases with dysplastic features. *Leukemia*. 2008;22(7):1308-19.
4. Bacher U, Haferlach T, Schnittger S, Kreipe H, Krogen N. Recent advances in diagnosis, molecular pathology and therapy of chronic myelomonocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 2011;153(2):149-67.
5. Beran M, Wen S, Shen S, Onida F, Jelinek J, Cortes J, et al. Prognostic factors and risk assessment in chronic myelomonocytic leukemia: Validation study of the M.D. Anderson Prognostic Scoring System. *Leuk Lymphoma*. 2007;48(6):1150-60.
6. Tkachuk D, Hirschmann JV. *Wintrobe Atlas Colorido de Hematologia*. Rio de Janeiro: Revinter; 2010. p. 135-8.
7. Onida F, Kantarjian HM, Smith TL, Ball G, Keating MJ, Estey EH, et al. Prognostic factors and scoring systems in chronic myelomonocytic leukemia: a retrospective analysis of 213 patients. *Blood*. 2002;99(3):840-9.
8. Mori Y, Yoshimoto G, Kumano T, Miyamoto T, Iino T, Takenaka K, et al. Distinctive expression of myelomonocytic markers and down-regulation of CD34 in acute myelogenous leukaemia with FLT3 tandem duplication and nucleophosmin mutation. *Eur J Haematol*. 2007;79(1):17-24.
9. Brunning RD, Matutes E, Flandrin G, Vardiman J, Bennett J, Head D. Acute myeloid leukaemias not otherwise categorised. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. *The WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2001. p. 94-6.
10. Muller Hermelink HK, Catovsky D, Montserrat E, Harris NL. Chronic lymphocytic leukaemia/Small lymphocytic lymphoma. In: Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW. *The WHO Classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2001. p. 127-30.