

Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

23º Seminário de Biopatologia

Linfomas e Leucemias

Prof. Clara Sambade

18/04/07

Pessoal, a este tipo de letra encontram-se as respostas às perguntas baseadas no que a professora falou e/ou apontamentos das aulas. As perguntas estão com o nosso tão bem conhecido Comic Sans MS e, para inovar, a informação adicional do Robbins está a Book Antiqua. Por isso, escusam de ler o livro mas se quiserem nós perdoamos. =)

E está então a começar uma das melhores desgravadas de sempre... Enjoy!

Informação adicional do Robbins

Neoplasias mielóides: “origin form hematopoietic progenitor cells capable of giving rise to terminally differentiated cells of the myeloid series (eritrócitos, granulócitos, monócitos e plaquetas. Envolvem primariamente a medula óssea e, em menor grau, os órgãos hematopoiéticos secundários (baço, fígado e gânglios linfáticos) e apresentam-se com a hematopoiese alterada. Há 3 categorias.

Leucemias mielóides agudas – acumulação de formas mielóides imaturas na medula óssea e supressão da hematopoiese normal;

Síndromes mielodisplásicas – hematopoiese ineficaz e citopenias associadas;

Doenças mieloproliferativas crónicas – aumento da produção de células mielóides terminalmente diferenciadas.

Estas neoplasias tendem a evoluir no tempo para formas mais agressivas de doença. Tanto as síndromes mielodisplásicas como as doenças mieloproliferativas crónicas muitas vezes se “transformam” em leucemias mielóides agudas.

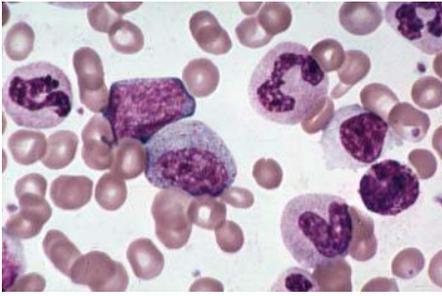
CASO 1 (variações sobre um caso já estudado...)

Indivíduo de género feminino, de 44 anos, apresentava queixas de fadiga, perda de peso e mal-estar abdominal com 2 meses de evolução. O exame físico evidenciou esplenomegalia; o exame do sangue periférico revelou 225.000 leucócitos/mm³ (normal: 4,1-10,9X10³) a maioria dos quais de linhagem mielóide, em estadios finais e diferenciação.

(Este caso diz “variações sobre um caso já estudado”, referindo-se a um já apresentado no seminário de neoplasias em geral.)

Particularmente notórios, para além da esplenomegalia, eram os valores do sangue periférico com muitíssimos leucócitos.

As Figs. 1, 2 e 3 documentam resultados de estudos que permitem estabelecer o diagnóstico. Interprete cada uma das Figuras.



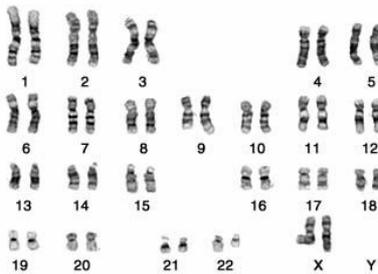
E o que é que se passa neste esfregaço sanguíneo? “*Apresenta células da linhagem mielóide imaturas*”, diz uma colega. Vou corrigir ligeiramente a resposta, porque a partir desta fase temos de ter cuidado com a palavra “imaturado”, visto que há vários graus de imaturidade. Portanto estas são imaturas para estar no sangue periférico, no entanto já muito avançadas na maturação. Chamam-se metamielócitos.

(*Surgem contestações, em como alguns seriam mieloblastos.*)

Mieloblastos, em termo geral, é tudo o que é mielócito imaturo. E o mieloblasto tem vários graus de maturação. Esta é uma célula já muito granulada, e com o núcleo pouco lobulado. É um metamielócito, querendo isto dizer que está já numa fase bastante avançada da diferenciação. É melhor não dizermos, a partir de agora, a palavra mieloblasto, porque pode ter implicações muito mais graves e muito mais sérias. Portanto é preciso aprimorar a linguagem.

Informação adicional do Robbins

Exames do sangue periférico revelam marcada leucocitose (mais de 100,000 células/mm³). Predominam em circulação neutrófilos, metamielócitos e mielócitos, com menos de 10% de mieloblastos. São comuns eosinofilia e basofilia, e 50% dos pacientes, no início da doença, têm trombocitose.



Têm uma imagem do cariótipo, que também já viram, e não têm nenhuma dificuldade em perceber que aqui está o cromossoma de Filadélfia – translocação 9;22. para relembrar, as suas consequências são a constituição de um gene híbrido, chamado BcrAbl, e a figura seguinte não é mais que a demonstração dessa translocação pelo método de FISH. Marcam-se com sondas as regiões próprias dos genes abl e bcr, que em condições normais estão separadas. Isto pode ser feito em interfase e em mitose.



Muitas neoplasias hematológicas associam-se a translocações específicas, e nem todas – no âmbito de doenças hematológicas, ou outras – podem ser estudadas por este método, pela razão simples que este método exige a existência e a fabricação de uma sonda própria. Isto só é possível se os locais de ruptura dos genes forem razoavelmente constantes. Por exemplo, a translocação associada ao linfoma de burkitt é extremamente difícil estudar por este método porque um dos genes parte em sítios muito distintos, e as sondas que usamos não cobrem o gene todo.

Indique o diagnóstico – leucemia mielóide crónica.

Informação adicional do Robbins

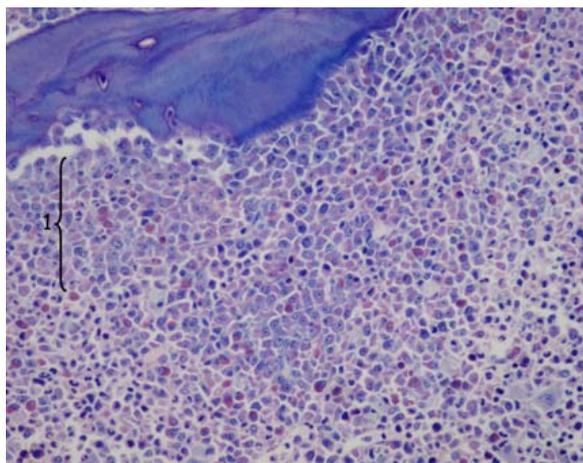
Morfologia: em contraste com as medulas normais, que têm 50% de conteúdo celular e 50% de gordura, nesta doença há 100% de celularidade, sendo a maioria precursores granulocíticos em maturação. Um aumento do número de megacariócitos (em formas displásicas pequenas) e um normal ou decrescido

número de eritróides estão presentes. Há um aumento de deposição de fibras de reticulina, mas é rara a fibrose generalizada.

Hematopoiese extramedular neoplásica na polpa vermelha esplênica causa esplenomegalia marcada, muitas vezes complicada por enfartes focais. A hematopoiese extra-medular também pode originar hepatomegalia ou linfadenopatia ligeira.

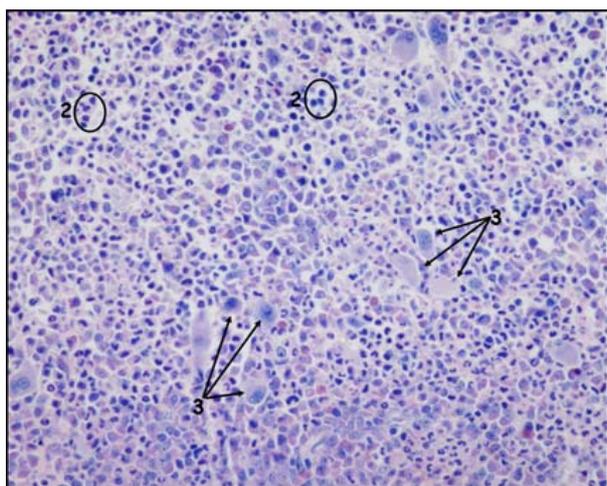
As Figs. 4A e 4B documentam aspectos da biopsia da medula óssea de um doente com quadro clínico idêntico ao descrito. Descreva as características gerais da medula óssea e identifique os elementos das diferentes linhagens assinalados em 1, 2 e 3.

Isto é que ainda não tinham visto. Imagens da medula óssea de doentes com esta patologia.



Conseguem reconhecer que é uma medula óssea bem diferente das que têm visto nas aulas práticas, que são aquela lástima de tecido muito desfeito, que é preciso ver muitos fragmentos, tudo muito negro e estragado. Esta é uma biopsia de uma medula óssea feita para estudos de doença hematológica, e portanto feita de uma forma particular, em que se consegue uma excelente preservação das estruturas, permitindo identificar as populações que lá estão, e estudar em detalhe este órgão.

Está ali a trabécula (*em cima*). Esta é uma coloração especial que permite ver muito bem a diferenciação do citoplasma, por isso é que não aparecem os citoplasmas todos cor-de-rosa. Vêm que a imagem é um pouco mais azul que o que é costume. Isto é uma técnica especial, o Giemsa não modificado (por oposição ao modificado, com que se identifica a *H. pylori*), que permite uma excelente diferenciação, quer das características do núcleo que do citoplasma.



Na medula óssea produzem-se células sanguíneas de diferentes linhagens. Da linha vermelha, eritróides; da linha branca, mielóides; megacariócitos e linfócitos. No número 1 temos células da linhagem mielóide, imaturas. É a zona própria, junto das trabéculas, de formação da população mielóide. Se repararem, à medida que vêm da trabécula para as zonas mais profundas vão amadurecendo. Mais inferiormente na figura já vêm neutrófilos, células pequenas, de núcleo muito denso e multilobado, irregular. Reparem que se prestarem atenção até conseguem ver cores diferentes

no citoplasma, diferentes tons de rosa. Por isso é que se usa esta coloração, que permite diferenciar as diferentes linhagens mielóides, dependendo da natureza dos grânulos. Esta é então a zona de população mielóide imatura em maturação.

O que está marcado com 2, na figura seguinte, é a linhagem eritróide. As células eritróides têm uma característica muito fácil de reconhecer, pese embora neste doença poderem passar despercebidas: gostam imenso de estar agrupadas. Viram isso também na hematopoiese do fígado das crianças. Um

fígado cheio de hematopoiese, com células eritróides todas muito iguais, pequeninas, com núcleos redondos e muito pretos. E estavam sempre em grupos pequenos, nos sinusóides. Agrupam-se em redor de células que contêm o ferro, de que precisam para produzir hemoglobina.

Portanto a população eritróide está sempre em grupinhos, amadurecendo toda ao mesmo tempo.

As células assinaladas com o número 3 são megacariócitos. Células enormes, de núcleo enorme, comparadas com as outras. Em boa verdade, estes megacariócitos são pequenos para o que deviam ser. São os chamados micromegacariócitos. Mesmo quando eles são anões, são muito grandes. Não se sabe porque assim é, sendo próprio desta doença.

O que é que vos impressiona nesta medula óssea? Não se vê uma única célula de tecido adiposo, estando absolutamente cheia, à custa das células das várias linhagens. Para que não seja um salto de fé, o afirmar que todas as linhagens estão em excesso, fiquem com a ideia de que, por 3 a 5 campos de grande ampliação, devemos ver 3 ou 4 megacariócitos. A medula óssea está cheia de células que não são apenas mielóides.

(aqui a professora pedia a explicação molecular desta patologia a uma aluna, e como na gravação não se ouviu essa resposta, vou traduzir o que diz no Robbins acerca disto mesmo)

Informação adicional do Robbins

O gene híbrido resultante, BCR-ABL, dirige a síntese de uma proteína de fusão com 210-kDa com actividade de tirosina cinase. (...)

A activação de diversas tirosina cinases é normalmente regulada por dimerização mediada por ligandos, seguida de activação de múltiplas vias, que controlam a sobrevivência e proliferação da célula.

O BCR contribui com um domínio de dimerização que promove a auto-associação da proteína de fusão BCR-ABL, resultando na autofosforilação constitutiva do BCR-ABL e activação das subseqüentes vias. Como resultado existe inibição da apoptose e divisão celular, independentemente da ligação de ligandos. “

A causa molecular da doença acontece em células estaminais, que mantêm a capacidade de diferenciação trilinear.

Então porque se chama leucemia mielóide crónica, quando as outras linhagens também abundam? Porque no sangue periférico predomina largamente a população mielóide.

Informação adicional do Robbins

O início da leucemia mielóide crónica é insidioso. Como consequência do aumento do turnover celular, surge anemia e hipermetabolismo que levam a fadigabilidade, fraqueza, perda de peso e anorexia. Por vezes o primeiro sintoma é uma sensação no abdómen, graças à esplenomegalia maciça, ou dor de início súbito no quadrante superior esquerdo, devido a enfartes esplénicos.

Mesmo sem tratamento, a sobrevida média é de 3 anos, graças à sua lenta progressão.

Após, aproximadamente 3 anos, 50% dos pacientes entra numa fase de aceleração, com aumento da anemia e trombocitopenia, e por vezes basofilia periférica. Em 6 a 12 meses, a fase acelerada termina num quadro semelhante a leucemia aguda. Nos restantes 50% dos doentes, esta leucemia aguda manifesta-se abruptamente, sem a fase acelerada.

Existem fármacos inibidores da cinase BCR-ABL, que induzem remissões hematológicas completas em mais de 90% dos doentes. No entanto, estes inibidores suprimem, mas não extinguem a causa, podendo não prevenir a leucemia aguda.

Como designa o grupo de neoplasias hematológicas que inclui a situação descrita?

Doenças mieloproliferativas crónicas. É um nome traiçoeiro, porque não transmite facilmente a ideia de ser uma neoplasia.

Quais são os outros membros do referido grupo?

Policitemia vera (predomínio de glóbulos rubros).

Trombocitemia essencial (predomínio de plaquetas).

Mielofibrose idiopática (não existe predomínio de um grupo particular). Há mielofibroses (não ideopáticas) que são uma das formas de evolução possível de qualquer uma das outras doenças mieloproliferativas crónicas.

A que tem um predomínio de linhagem mais acentuado é mesmo a leucemia mielóide crónica, daí que seja a única que se chame assim. O seu predomínio de células de linhagem mielóide em relação às outras é tal, que durante muito tempo se considerou uma neoplasia de células dessa linhagem. Na policitemia vera e na trombocitemia essencial o predomínio das células (eritrócito/plaquetas) não é tão acentuado.

A mielofibrose idiopática tem de facto fibrose e aumento do estroma, daí o nome. No entanto este aumento de estroma é num contexto de proliferação das células sanguíneas. É também uma neoplasia, tendo um curso clínico que é distinto.

O curso clínico de cada uma destas doenças é diferente, bem como o tratamento.

Quais são os elementos comuns às diferentes doenças em causa e quais são as bases e a relevância clínica do diagnóstico diferencial entre essas doenças?

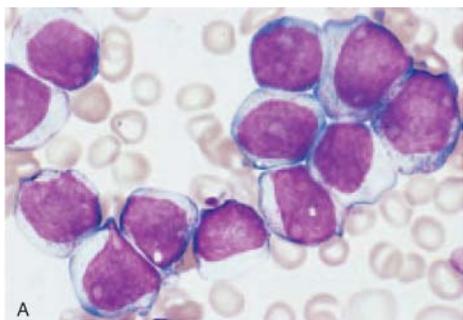
Todas elas são neoplasias provenientes de células estaminais que mantêm a capacidade de se diferenciar em diferentes linhagens. Distinguem-se entre si pela proporção relativa das sub-linhagens, por alterações moleculares, (a translocação que forma o cromossoma de Filadélfia é típica da leucemia mielóide crónica) e por pequenas subtilidades bioquímicas das células que não vamos detalhar.

A doente foi submetida a terapêutica médica e os valores hematológicos normalizaram ao fim de 1 mês. Cerca de 3 anos após o diagnóstico inicial, a doente apresentou queixas de dores ósseas e perda de peso acentuada; nesta fase, o exame físico revelou esplenomegalia maciça. As Figuras seguintes documentam os resultados de estudos complementares efectuados nesta fase da doença.

A doente terá sido tratada com um inibidor específico do gene híbrido, ainda que iniba outras cinases. Foi especialmente produzido para esta patologia, tendo sido experimentado em mais duas ou três patologias raras.

Alguns doentes deixam de responder ao tratamento ao fim de algum tempo voltando a ter a leucemia mielóide crónica. Isto acontece porque adquirem mutações no local de ligação do fármaco.

Na Fig. 5 descreva os aspectos essenciais do esfregaço sanguíneo. Que diagnóstico propõe? Porquê?



Esta imagem é diferente da do seminário de neoplasias em geral, daí as pequenas variações.

Estas células são então imaturas e mielóides. São mielóides porque o citoplasma é abundante e com grânulos, ainda que poucos. É uma situação de circulação de células agora sim imaturas. Mais imaturas que os metamielócitos que tinham aparecido na primeira parte do caso.

Diagnóstico – leucemia mieloblástica aguda. Mas convém confirmar.

Informação adicional do Robbins

Morfologia: o diagnóstico de leucemia mielóide aguda baseia-se em encontrar blastos mielóides em mais de 20% das células da medula óssea.

Mieloblastos – cromatina nuclear delicada, 2 a 4 nucléolos, e citoplasma mais volumoso que os linfoblastos. Citoplasma com pequenos grânulos azurofílicos, peroxidase positivos.

Monoblastos – núcleo “dobrado” ou lobular, peroxidase negativos e esterase inespecífica positivos.

O número de células leucémicas no sangue periférico é muito variável. Podem ser mais de 100,000 blastos por microlitro, mas em cerca de 50% dos pacientes contam-se menos de 10,000.

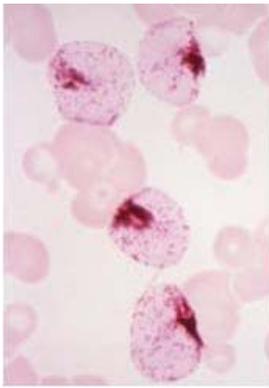
Patofisiologia: afecta principalmente adultos (15-39 anos), também observada em adultos mais velhos e crianças. A maioria das leucemias mielóides agudas associam-se a alterações genéticas adquiridas que inibem a diferenciação mielóide terminal (fragmentam genes que codificam factores de transcrição necessários a uma normal diferenciação mielóide). Assim, os elementos normais da medula são substituídos por blastos relativamente indiferenciados. A taxa de replicação destes é mais baixa que nos progenitores mielóides normais, realçando a importância patogénica do bloqueio da maturação e aumento da sobrevivência.

A acumulação de células na medula suprime as restantes células normais. Da hematopoiese alterada resulta anemia, neutropenia e trombocitopenia, que causam a maioria das complicações clínicas da doença. O objectivo terapêutico é eliminar os clones leucémicos da medula, permitindo o recomeçar de uma hematopoiese normal. Isto pode ser conseguido com fármacos citotóxicos.

Características clínicas: anemia, neutropenia e trombocitopenia, que levam a fadiga, febre e hemorragias mucosas e cutâneas espontâneas. Petéquias e equimosas, hemorragias serosas e mucosas, infecções (muitas vezes por agentes oportunistas – fungos, *Pseudomonas*, comensais), e linfadenopatias e organomegalias moderadas.

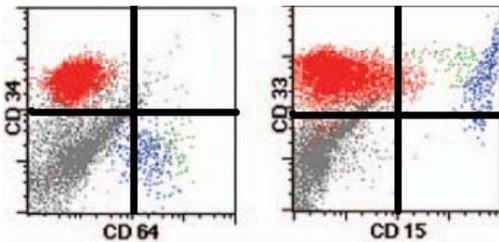
Prognóstico: é uma doença difícil de tratar. Aproximadamente 60% dos doentes entram em remissão completa após quimioterapia, mas só 15-30% se mantêm livres da doença por 5 anos.

A Fig. 6 documenta o resultado de estudo histoquímico, efectuado no esfregaço de sangue periférico, para detecção de uma enzima – qual é essa enzima e qual é o significado do resultado obtido?



E aqui apresenta-se a imagem de um estudo que é o mais simples que há, o estudo citoquímico. É fácil de fazer, na lâmina do esfregaço. Estamos à procura da enzima mieloperoxidase. Uma forma simples de confirmar que estamos perante células mielóides imaturas – leucemia mielóide aguda. Mas não chega dizer assim, porque há vários tipos. Uma das formas é usar métodos adicionais, à custa dos marcadores superficiais que estas células possam exprimir. A maturação mielóide é um pouco pobre nestes marcadores. A diferenciação linfóide é um pedaço mais complicada. Ainda assim faz-se o estudo da membrana dos mielócitos através deste método que se chama citometria de fluxo.

A Fig. 7 documenta os resultados de um outro tipo de estudo complementar efectuado para caracterização precisa de populações celulares (a população anormal está evidenciada em vermelho). Qual foi o método utilizado e como interpreta os resultados documentados? Que diagnóstico propõe? Como se sub-classificam os diferentes tipos de neoplasias do grupo documentado no 2º episódio da doença?



Estas imagens chamam-se histogramas. Os resultados podem ser representados de formas muito diferentes, em função daquilo que se estiver a estudar.

O que o citómetro faz é quantificar simultaneamente duas variáveis, sendo esta a forma mais simples de o representar. O número de partículas é representado por cada uma das

pintinhas.

Portanto qual é o fenótipo desta população? CD34+/CD64-; isto quer dizer que são células mielóides muito imaturas. A negatividade para o 64 diz que não são maduras, e a positividade para o 34 afirma a sua imaturidade. Analisam-se ambos os parâmetros porque convém sempre cruzar informação.

CD33 positivo afirma também a sua imaturidade. O CD15 é na maioria negativo.

Existe este tipo de estudo para caracterizar melhor cada tipo de leucemia.

Existem duas classificações: *(E nesta parte não entendi muito bem o que a professora queria dizer, mas deixo-vos os quadros e uma tentativa de desgravação lógica)*

A de FAB, que se baseia essencialmente na morfologia das células, com a identificação do seu grau de amadurecimento, e baseada na citoquímica. Continua a usar-se.

Table 14-8A. Revised FAB Classification of Acute Myelogenous Leukemias

Class	Incidence (% of AML)	Marrow Morphology/Comments
M0 Minimally differentiated AML	2-3%	Blasts lack definitive cytologic and cytochemical markers of myeloblasts (e.g., myeloperoxidase negative) but express myeloid lineage antigens and resemble myeloblasts ultrastructurally.
M1 AML without differentiation	20%	Very immature, but =3% of blasts are peroxidase positive; few granules or Auer rods and little maturation beyond the myeloblast stage.
M2 AML with maturation	30-40%	Full range of myeloid maturation through granulocytes; Auer rods present in most cases; often associated with the t(8;21).
M3 Acute promyelocytic leukemia	5-10%	Most cells are hypergranular promyelocytes, often with many Auer rods per cell; patients are younger (median age 35 to 40 years); high incidence of DIC; strong association with the t(15;17).
M4 Acute myelomonocytic leukemia	15-20%	Myelocytic and monocytic differentiation evident; myeloid elements show range of maturation; monoblasts are positive for nonspecific esterases; subset associated with the inv(16).
M5 Acute monocytic leukemia	10%	In M5a subtype, monoblasts (peroxidase-negative, nonspecific esterase-positive) and promonocytes predominate in marrow and blood; in M5b subtype, mature monocytes predominate in the peripheral blood; M5a and M5b occur in older patients; characterized by high incidence of organomegaly, lymphadenopathy, and tissue infiltration.
M6 Acute erythroleukemia	5%	Dysplastic erythroid precursors (some megaloblastoid, others with giant or multiple nuclei) predominate, and within the non-erythroid cells, >30% are myeloblasts; seen in advanced age; makes up 1% of de novo AML and 20% of therapy-related AML.
M7 Acute megakaryocytic leukemia	1%	Blasts of megakaryocytic lineage predominate; blasts react with platelet-specific antibodies directed against GPIIb/IIIa or vWF; myelofibrosis or increased marrow reticulin seen in most cases.

Outra mais recente baseia-se largamente na existência de translocações específicas de tipos particulares de leucemias mielóides agudas. Algumas das quais têm significado prognóstico favorável, outras desfavorável, e outro grupo com prognósticos também desfavoráveis, com uma particularidade: independentemente de que fase é, não têm nenhuma destas translocações, mas têm ali um sinal que é displasia, isto é, qualidade diferente da maturação mielóide. E a outra, que também tem muitas vezes displasia, faz um grupo ao lado porque se sabe que é relacionado com terapêutica anterior. E depois existe um outro, sem qualquer tipo de categorização, será o “resto”, mas atenção que o resto pode bem ser a maioria.

Table 14-8A. Revised FAB Classification of Acute Myelogenous Leukemias

Class	Incidence (% of AML)	Marrow Morphology/Comments
M0 Minimally differentiated AML	2-3%	Blasts lack definitive cytologic and cytochemical markers of myeloblasts (e.g., myeloperoxidase negative) but express myeloid lineage antigens and resemble myeloblasts ultrastructurally.
M1 AML without differentiation	20%	Very immature, but ~3% of blasts are peroxidase positive; few granules or Auer rods and little maturation beyond the myeloblast stage.
M2 AML with maturation	30-40%	Full range of myeloid maturation through granulocytes; Auer rods present in most cases; often associated with the t(8;21).
M3 Acute promyelocytic leukemia	5-10%	Most cells are hypergranular promyelocytes, often with many Auer rods per cell; patients are younger (median age 35 to 40 years); high incidence of DIC; strong association with the t(15;17).
M4 Acute myelomonocytic leukemia	15-20%	Myelocytic and monocytic differentiation evident; myeloid elements show range of maturation; monoblasts are positive for nonspecific esterases; subset associated with the inv(16).
M5 Acute monocytic leukemia	10%	In M5a subtype, monoblasts (peroxidase-negative, nonspecific esterase-positive) and promonocytes predominate in marrow and blood; in M5b subtype, mature monocytes predominate in the peripheral blood; M5a and M5b occur in older patients; characterized by high incidence of organomegaly, lymphadenopathy, and tissue infiltration.
M6 Acute erythroleukemia	5%	Dysplastic erythroid precursors (some megaloblastoid, others with giant or multiple nuclei) predominate, and within the non-erythroid cells, >30% are myeloblasts; seen in advanced age; makes up 1% of de novo AML and 20% of therapy-related AML.
M7 Acute megakaryocytic leukemia	1%	Blasts of megakaryocytic lineage predominate; blasts react with platelet-specific antibodies directed against GPIIb/IIIa or vWF; myelofibrosis or increased marrow reticulin seen in most cases.

DIC, disseminated intravascular coagulation; vWF, von Willebrand factor.

Informação adicional do Robbins

Imunofenotipagem: como morfológicamente é difícil distinguir mieloblastos e linfoblastos, o diagnóstico de leucemia mielóide aguda tem de ser confirmado com a coloração de células para marcadores de superfície especificamente mielóides.

CD34 – marcador de stem cells multipotentes; CD64 – marcador de células mielóides maduras; CD33 – marcador de células mielóides imaturas; CD15 – marcador de células mais maduras; (portanto as células analisadas no seminário seriam células mielóides minimamente diferenciadas)

Classificação: a classificação de FAB divide a leucemia mielóide em 8 categorias, tomando em consideração os graus de maturação e a linhagem dos blastos leucémicos. Para estas definições entram em linha de conta “histochemical stains for peroxidase, specific esterase and nonspecific esterase and immunostains for myeloid specific antigens.

A classificação WHO mantém as categorias na FAB, acrescentando outras para leucemias mielóides agudas associadas a aberrações cromossómicas particulares, que surgem após anterior quimioterapia ou após uma síndrome mielodisplásica.

Quais são as outras evoluções possíveis no tipo de situação apresentada?

Leucemia linfoblástica aguda.

Leucemia mielóide aguda.

Mielofibrose.

CASO 2

Indivíduo do género masculino, de 62 anos, foi internado por queixas de astenia progressiva, palidez da pele e mucosas, hemorragias gengivais e epistaxis frequentes. Os valores do hemograma (Hb:6,5g/L; Hematócrito:17,9%, Glóbulos brancos:2.200/mm³; Plaquetas:42000/mm³) determinaram a realização de uma biopsia de medula óssea.

Este doente tem falta de células sanguíneas de todas as linhagens (quadro hematológico de pancitopenia).

- Descreva os aspectos mais salientes da biopsia da medula óssea documentada na [Fig. 8](#).

Esta medula óssea é anormal porque está repleta de células sanguíneas e não tem nenhuma área de tecido adiposo identificada. Portanto, é uma medula óssea hiper celular. Nesta ampliação é impossível saber se estão presentes as linhagens todas, se tem apenas uma ou duas.



- Com base nos dados de que dispõe quais são as duas hipóteses de diagnóstico de doenças hematológicas primárias que deve considerar?

A partir deste quadro clínico (o doente tem poucas células sanguíneas a circular) e da biopsia medular (tem uma medula óssea cheia de células sanguíneas), as duas grandes hipóteses de diagnóstico são:

- **Leucemia mielóide/linfóide aguda** (aumento das células claramente anormais no sangue periférico – >20%). Trata-se de uma neoplasia de células muito imaturas que têm dificuldade (seja qual for a linhagem das células) em sair da medula óssea e que ocupam o espaço e obviamente isto vai-se repercutir nas outras linhas que deixam de fazer as células que devem (quadro de leucemia aguda).
- **Síndrome mielodisplásico**. Grupo de doenças consideradas neoplasias hematológicas. É um problema de displasia, de formação deficiente e de má qualidade de todas as linhagens hematológicas. Fazem-se mal leucócitos, plaquetas, eritrócitos e por isso o doente tem pancitopenia. Os doentes podem morrer devido a complicações relacionadas com as citopenias (hemorragia, infecções, etc.) ou por evolução da doença, sendo que a evolução clínica mais provável do Síndrome mielodisplásico é, ao fim de alguns anos, transformar-se em Leucemia mielóide aguda (ver quadro de classificação da OMS – quadro 2). A maior parte das vezes é idiopático mas alguns doentes também desenvolvem doença devido à exposição a certas substâncias como tintas, radiações, fármacos. Assim, alguns grupos profissionais têm maior risco de ter síndromes mielodisplásicos.

“Qual o significado da esplenomegalia neste tipo de situações?” – pergunta feita pelo Zé.

A esplenomegalia das doenças mieloproliferativas crônicas é a doença da célula stem que cresce continuamente e ocupa todo o espaço que pode da medula óssea. Mas continua a fazer-se sangue, no baço e no fígado. Assim, a esplenomegalia das doenças mieloproliferativas crônicas significa expansão da medula óssea que continua a fazer sangue em territórios que, na vida adulta já não devia fazer mas faz durante a vida embrionária. Temos assim metaplasia mielóide no baço e fígado. Estas células funcionam mas o problema é que a massa sanguínea vai aumentando. Sendo assim, os doentes com leucemia mielóide crónica têm células a mais e podem morrer devido a complicações como acidentes vasculares cerebrais, rupturas vasculares.

Quais são os critérios que definem um quadro de "leucemia aguda"?

O diagnóstico diferencial faz-se olhando para as células. Num Síndrome mielodisplásico, temos que ter células das diferentes linhas (*tortas, mas das diferentes linhas*). Se for uma Leucemia aguda, temos que ter uma população claramente anormal (apenas uma).

Informação adicional do Robbins

Leucemias agudas:

Nas leucemias agudas há um bloqueio na diferenciação e os blastos neoplásicos têm um longo período de regeneração. Assim, a acumulação de blastos resulta da expansão clonal e na falência da maturação dos progenitores em células maduras. Os sinais clínicos das leucemias agudas são:

- ✓ os sintomas aparecem rápida e abruptamente e estão relacionados com a depressão da função normal da medula óssea (fadiga, anemia, febre, infecções que resultam da ausência de leucócitos maduros, hemorragias secundárias a trombocitopenia);
- ✓ linfadenopatia generalizada, esplenomegalia e hepatomegalia – resulta da disseminação das células leucémicas;
- ✓ manifestações do SNC.

⇒ Leucemia linfóide aguda (LLA)

Os núcleos dos linfoblastos, nas preparações coradas com Wright-Giemsa, apresentam cromatina agregada e um ou dois nucléolos. Geralmente, apresentam agregados de material PAS positivo enquanto que nos mieloblastos o material é peroxidase positivo.

⇒ Leucemia mielóide aguda (LMA)

Afecta primariamente adultos. Os sinais clínicos e sintomas são semelhantes aos da leucemia linfóide aguda e estão relacionados com a falência da medula óssea causada pela substituição dos elementos normais da medula por blastos leucémicos. Idealmente, o diagnóstico e classificação da LMA são baseados na morfologia, histologia, imunofenotipagem e estudos do cariótipo.

Na maioria dos casos os mieloblastos distinguem-se dos linfoblastos uma vez que os primeiros, na coloração de Wright-Giemsa, apresentam cromatina nuclear mais fina, três a cinco nucléolos e ainda

grânulos azurofílicos no citoplasma (que é mais abundante). Em alguns casos, estão ainda presentes outras estruturas – **corpos de Auer** – que ajudam na realização do diagnóstico.

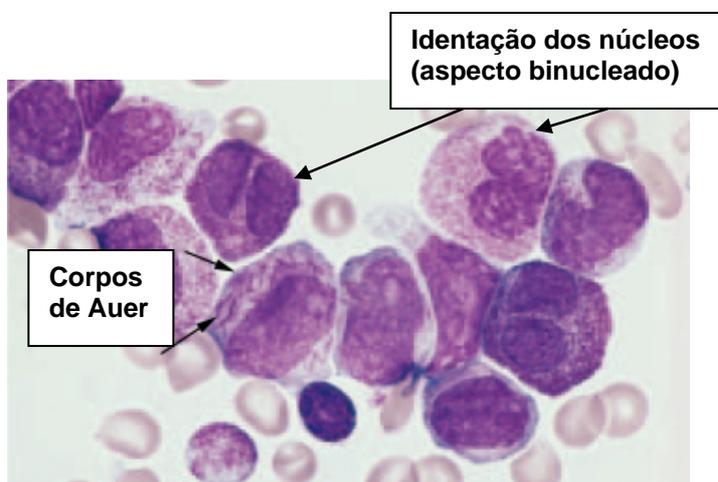
Síndrome mielodisplásico:

Grupo de doenças caracterizadas por defeitos na maturação, o que resulta numa hematopoiese ineficaz e num aumento do risco de transformação em leucemias mielóides agudas (10% – 40% dos doentes). A medula óssea é normalmente hiperclular ou normocelular mas o sangue periférico apresenta-se com quadro de pancitopenia. Algumas anormalidades no cariótipo incluem a perda dos cromossomas 5 ou 7 ou ainda a deleção dos seus braços longos. Morfologicamente, a medula óssea apresenta células “aberrantes” como micromegacariócitos, blastos com aspecto bizarro e precursores eritróides megaloblastóides, entre outros. O prognóstico é variável (sobre-vida: 9 a 29 meses).

- Na **Fig. 9** descreva as características gerais do esfregaço sanguíneo (do sangue periférico) documentado e identifique as estruturas assinaladas.

Estas células estão cheias de grânulos. São células mielóides pouco maduras mas suficientemente maduras para estarem “carregadinhas” de grânulos (azurofílicos).

As formações compridas (apontadas pela seta na figura) chamam-se corpos de Auer, que são a confluência do material que constitui os grânulos. A existência de corpos de Auer é patognomónico de Leucemia mielóide aguda. Nunca há corpos de Auer sem ser em células mielóides malignas. No entanto, os corpos de Auer não aparecem apenas na leucemia promielocítica e, por outro lado, não aparecem em todos os casos de leucemia.



Que hipótese de diagnóstico propõe?

Leucemia promielocítica aguda (M3). As células estão “carregadinhas” de grânulos e parecem ter dois núcleos (identificação dos núcleos) – são estes os aspectos que definem que se trata de uma leucemia promielocítica.

- **O estudo citogenético revelou a presença de t(15;17). Quais são as consequências moleculares da anomalia citogenética detectada?**

Esta translocação só acontece neste tipo de leucemia mas não acontece em todas as leucemias promielocíticas, ou seja, é uma translocação especificamente associada a este tipo de leucemia mas nem todos os doentes com leucemia promielocítica têm esta translocação. Perante um diagnóstico de leucemia promielocítica feito com facilidade, é muito importante saber, pelos métodos adequados, se aquela leucemia promielocítica tem ou não a translocação.

Perante este facto, quais são as consequências moleculares?

Esta translocação origina um gene de fusão ou híbrido *RARAα/PML*, havendo produção de uma proteína única própria daquela translocação, que tem o papel de bloquear a diferenciação mielóide (a maturação pára). Esta proteína é um marcador seguro da doença, mesmo que a função seja normal (como a proteína cinase apenas aumentada).

Qual é a relevância desta informação?

É uma translocação específica associada à Leucemia mielóide aguda – M3, embora não ocorra em 100% dos casos, e é a base molecular para a terapêutica com o ácido transretinóico (que só responde se houver translocação). O ácido transretinóico reverte o bloqueio causado pela proteína anormal e as células neoplásicas amadurecem, uma vez que permite a diferenciação. O esquema terapêutico nestes doentes não passa apenas pelo ácido transretinóico (apesar de ser bastante útil) mas também por citostáticos. A base molecular da terapêutica é a existência deste gene tal como a base molecular da terapêutica com *Gleevec* é a existência do gene híbrido *BCR-ABL*.

Informação adicional do Robbins

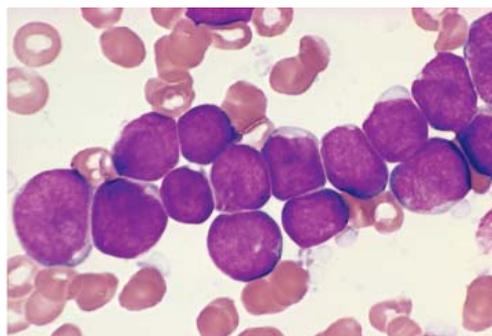
A translocação t(15;17) resulta na fusão do gene do receptor para o ácido retinóico α (*RARA*) do cromossoma 17, com o gene *PML* no cromossoma 15. O gene híbrido produz uma proteína anormal – *PML/RARA* – que bloqueia a diferenciação mielóide na fase de promielócito, provavelmente ao inibir a função normal dos receptores *RARA*. Doses de ácido retinóico são capazes de reverter este bloqueio, fazendo com que os promielócitos neoplásicos terminem a sua diferenciação em neutrófilos, acabando por morrer. Assim, o tumor rapidamente regride havendo remissão numa percentagem alta de doentes.

CASO 3

Criança do género feminino, de 2 anos de idade, com palidez acentuada e mau estado geral, foi internada após obtenção dos resultados do hemograma que revelaram um quadro leucémico agudo.

Quadro leucémico – blastos no sangue periférico.

Descreva as características do esfregaço sanguíneo representado na [Fig. 10](#) e proponha um diagnóstico.



As células parecem mais linfóides do que mielóides devido à escassez do citoplasma e à ausência de grânulos.

Muito provavelmente é uma leucemia aguda com morfologia compatível com filiação linfóide (“cuidado!na leucemia mielóide aguda, em M0 e M1, as células podem confundir-se com linhagem linfocítica!”).

Informação adicional do Robbins

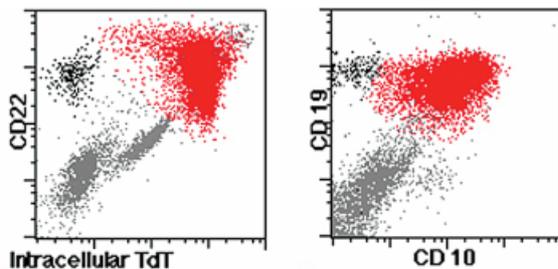
Os tumores de células precursoras B e T têm geralmente uma apresentação clínica de leucemia aguda linfoblástica em alguma fase do seu desenvolvimento. Em conjunto, as leucemias linfoblásticas agudas correspondem a 80% das leucemias das crianças (pico de incidência aos 4 anos), sendo a maioria de células B. As neoplasias de células precursoras T são mais comuns nos adolescentes do sexo masculino (pico de incidência entre os 15 e os 20 anos).

- Que hipóteses de diagnóstico deve considerar sabendo que as células observadas expressam TdT?

TdT + - leucemia linfoblástica aguda/linfoma de células precursoras.

O linfoma de células precursoras pode ser B ou T. Para identificarmos o tipo:

- citometria de fluxo, desde que existam suspensões celulares;
- imunocitoquímica, se houver um fragmento do tecido.



- Como interpreta os resultados do estudo complementar representado na Fig. 11?

TdT + /CD10+ /CD19+/CD22+

Células da linhagem B

- A TdT é um marcador de linhagem linfóide e de

células imaturas. Logo, são células linfóides B ou T imaturas. A enzima é uma transferase de desoxinucleótidos terminal.

O que é que necessita de transferência de desoxinucleótidos nas fases precoces do desenvolvimento linfóide?

Os rearranjos dos receptores.

Temos TdT em todas as células (difícil revelar). É normal revelar TdT na apoptose: o DNA está a ser cortado e a célula tenta resolver o problema transferindo nucleótidos para esse local.

- O **CD10** é expresso na fase de linfócitos B imaturos e volta a ser expresso no centro germinativo (ao contrário da TdT, apenas expressa na fase imatura).

- O **CD19** e o **CD 22**, o primeiro e o último a serem expressos, são marcadores de linhagem B.

- Qual é o diagnóstico?

Leucemia/Linfoma de células precursoras B (leucemia linfoblástica "aguda" B).

A barra quer dizer que é a mesma coisa. Linfoma significa neoplasia de células linfóides (salienta a natureza das células). Leucemia quer dizer neoplasia hematológica em que parte das células (mielóides/linfóides) está em circulação. No caso de a leucemia ser de células linfóides é naturalmente um linfoma.

Linfoma de células precursoras é o nome oficial da OMS.

Qual é o prognóstico (geral) deste tipo de neoplasias?

Os linfomas de células precursoras B têm globalmente bom prognóstico, com taxas de remissão que chegam aos 85 %. Remissão não é sinónimo de cura. Remissão significa sem detecção de doença neoplásica pelos métodos clássicos.

1/3 das crianças com neoplasias de células precursoras B vai recidivar.

Informação adicional do Robbins

As crianças entre os 2 e os 10 anos com neoplasia de células precursoras B são as que apresentam melhor prognóstico.

Factores associados a pior prognóstico incluem o sexo masculino, idade inferior a 2 e superior a 10 anos e uma contagem de leucócitos elevada no momento do diagnóstico.

As diferenças de prognóstico relacionadas com a idade podem ser explicadas pelas anormalidades cromossómicas: as neoplasias com rearranjos no cromossoma Ph ou MLL (mau prognóstico) são mais comuns em crianças com menos de 2 anos e em adultos, enquanto que os tumores que apresentam uma t (12;21) ou hiperploídia (bom prognóstico) têm uma frequência superior nas crianças entre os 2 e os dez anos de idade.

- Que diagnóstico proporia se o tipo de estudo anterior tivesse documentado um fenótipo CD2+/CD3-/CD4+/CD5+/CD7+/CD8+?

Parece ser uma neoplasia de células precursoras T.

O CD2, o CD5 e o CD7 são antígenos associados, mas não restritos (também podem existir nas células mielóides), à diferenciação T. O CD4 e o CD8 também não são específicos. O marcador de linhagem seguro é o que falta aqui: CD3.

- Nestas circunstâncias que tipo de estudo complementar seria relevante, no diagnóstico e, eventualmente, no seguimento do doente após terapêutica?

Para termos a certeza do diagnóstico teríamos que estudar os genes das imunoglobulinas e dos receptores das células T e verificar se estavam em configuração germinativa ou rearranjados (análise molecular da clonalidade linfóide). Este estudo é também importante no seguimento do doente.

(células B - rearranjam as imunoglobulinas | células T - rearranjam o receptor das células T)

- Que outro tipo de estudo complementar pode fornecer informações clinicamente relevantes?

Outro estudo útil seria o **cariótipo**, uma vez que 90% das neoplasias de células linfóides precursoras tem anomalias cromossômicas. Algumas destas anomalias têm **relevância prognóstica**. Por outro lado, a presença destas anomalias cromossômicas pode constituir um instrumento de quantificação das células que têm aquela anomalia e permite identificar populações neoplásicas relativamente restritas.

Informação adicional do Robbins

Tipo	Frequência	Morfologia	Imunofenotipo	Outras características
Leucemia/linfoma de células precursoras B	80 % das leucemias das crianças; menos frequente nos adultos.	Linfoblastos com cromatina dispersa, nucléolos pequenos, citoplasma escasso.	Células imaturas B TdT+ (CD19+,CD10+)	Apresentação clínica: leucemia aguda. Prognóstico relacionado com o cariótipo.
Leucemia/linfoma de células precursoras T	20 % das leucemias das crianças; 80% dos linfomas das crianças.	Linfoblastos com contornos nucleares irregulares, cromatina dispersa, nucléolos pequenos e citoplasma escasso.	Células imaturas T TdT+ (CD2+,CD7+)	Apresentação clínica: massa mediastínica ou leucemia aguda. Cariótipo distinto das neoplasias de células precursoras B e não relacionado de forma clara com o prognóstico.

CASO 4

Indivíduo do sexo masculino, de 53 anos, apresentava linfadenopatias cervicais e axilares bilaterais e esplenomegalia moderada. Os valores analíticos evidenciaram anemia hemolítica. O doente foi submetido a esplenectomia.

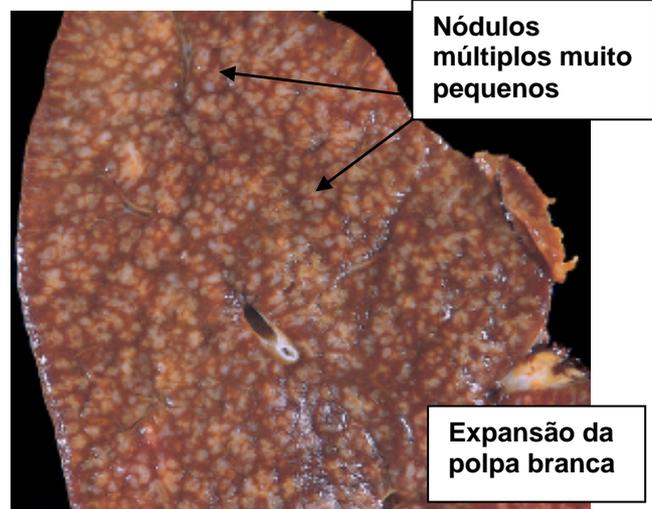
Neste contexto, se calhar o baço estava a contribuir para a destruição dos glóbulos rubros. Um baço grande fica sempre hiperfuncional e como o doente tinha uma anemia hemolítica, retiraram cirurgicamente o baço, resolvendo assim dois problemas: tinham material para diagnóstico da doença e tiraram o baço que lhe causava anemia.

- **Descreva e interprete as características da superfície de corte do baço representado na [Fig. 12](#). Que diagnósticos pode considerar como mais plausíveis?**

Este baço tem muitos focos brancos (acumulação de células) dispersos num fundo acastanhado (normalmente o baço é muito vermelho). Em crianças existem muitos focos brancos que são folículos

linfóides; em jovens da nossa idade, o baço é vermelho, podendo aparecer alguns (poucos) focos brancos; nas pessoas da idade mais avançada e sem qualquer doença, o baço aparece normalmente todo vermelho.

Um baço com este aspecto é um baço que tem uma quantidade de polpa branca verdadeiramente anormal, tendo uma neoplasia de células linfóides, que cresce devagar (caso contrário os focos confluíam, ficando maiores).



Os diagnósticos plausíveis são todo e qualquer linfoma de curso clínico relativamente arrastado.

Existe apenas um linfoma de curso clínico arrastado em que o baço não tem este aspecto, uma vez que as células neoplásicas não estão na polpa branca mas sim na polpa vermelha: Leucemia de células em cabeleira, em que o baço apresenta todo ele o mesmo aspecto. As células estão dentro dos sinusóides. É o único linfoma indolente que não ocupa a polpa branca, clinicamente muito típico (ver imagens da aula prática 23, documento 3).

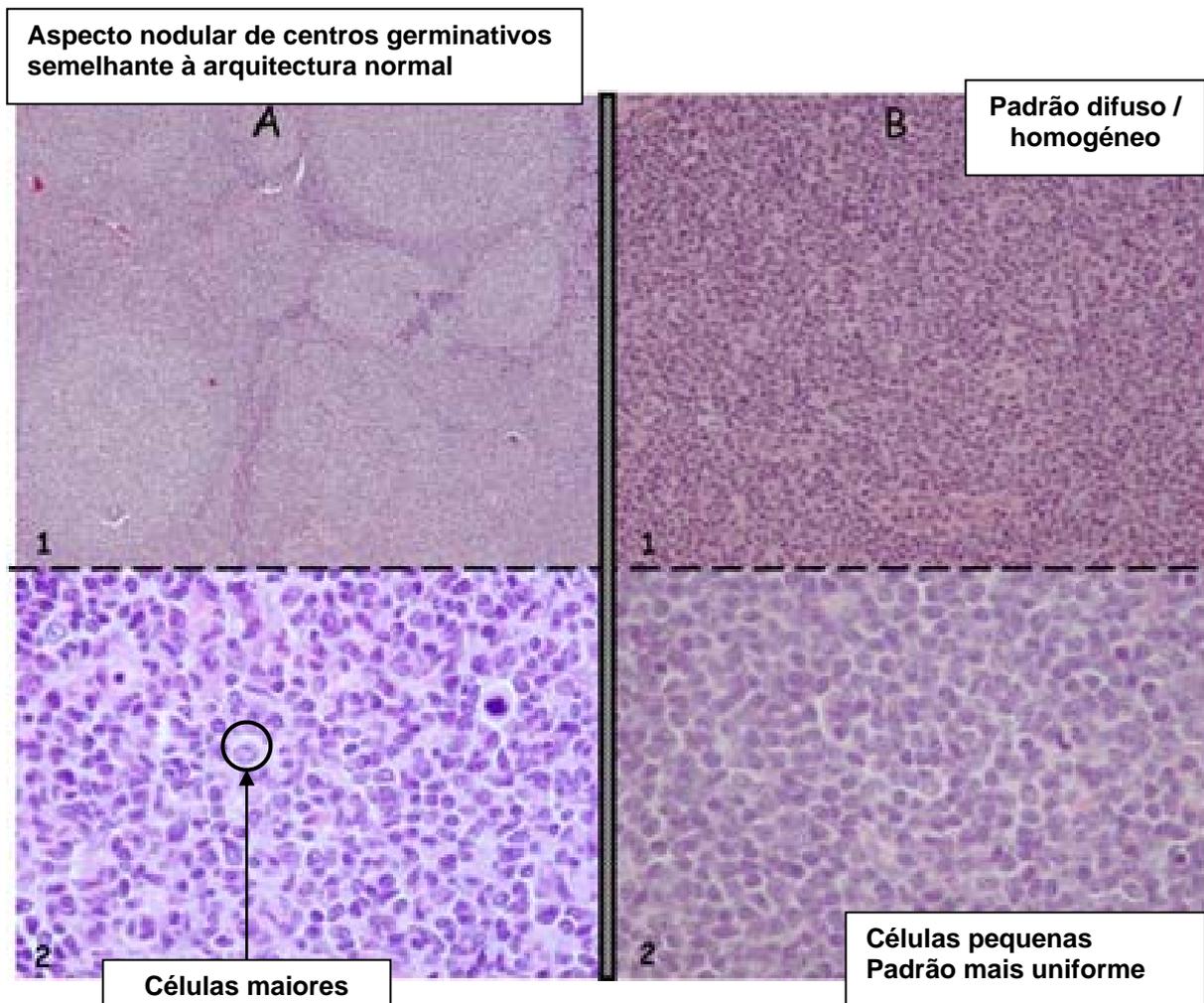
No (vasto) grupo das doenças neoplásicas hematológicas que diagnósticos pode excluir perante as características macroscópicas do baço?

Não pode ser um linfoma de alto grau de malignidade.

Este baço não poderia ser um baço de uma doença mieloproliferativa crónica porque nestas doenças o baço readquire a capacidade de fazer sangue (não se faz sangue nos folículos linfóides!!!)

As Figuras seguintes documentam os aspectos histológicos e os resultados de estudos complementares de 2 dos cenários possíveis (A e B). Descreva as características histológicas das lesões A e B documentadas na [Fig. 13](#) e interprete os resultados dos respectivos estudos imunocitoquímicos documentados na [Fig. 14](#).

O baço da Fig. 12 podia ter vários tipos de linfomas diferentes e nesta imagem estão representados dois cenários diferentes, que apresentam a mesma macroscopia.



Em A, na imagem 2, as células são maiores e todas as outras células dão uma aparência de maior variabilidade, em comparação com a imagem 2 de B, cujo aspecto é mais uniforme. Portanto, morfologicamente são diferentes.

Informação adicional do Robbins

Linfoma de centro folicular

Este tipo de tumores é caracterizado por uma arquitetura folicular ou nodular e são extremamente comuns.

⇒ Morfologia:

Os nódulos linfáticos são eliminados por proliferações com aparência nodular. Geralmente, as células neoplásicas dominantes são “centrócito-like”, as mais predominantes, e que são um pouco mais largas que a generalidade dos linfócitos, com um contorno nuclear caracterizado por proeminentes indentações (ver Figura 12-17B, página 427 do Robbins 7ª Edição). A cromatina nuclear é condensada e o nucléolo indistinto. Existe ainda outro tipo de células - “centroblasto-like” - que são 4 vezes maiores que os linfócitos. Estas apresentam cromatina vesicular, vários nucléolos e pouco citoplasma. Na maioria dos tumores, estas células representam uma minoria da população celular, as mitoses são muito pouco frequentes e não se vêem células em apoptose.

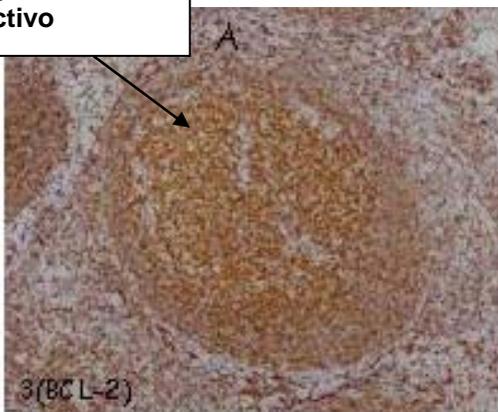
Linfoma mantelar

Este tipo de linfomas é constituído por células B que se assemelha à zona mantelar dos folículos linfóides.

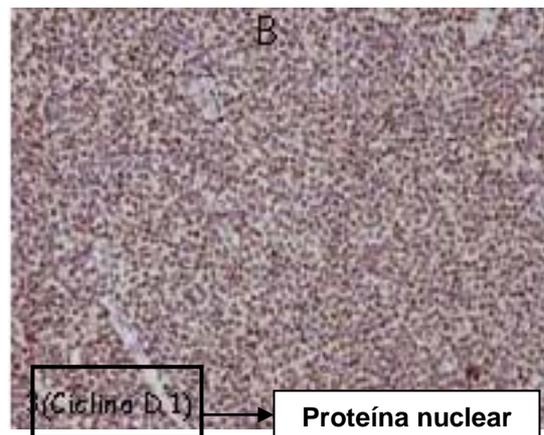
⇒ Morfologia:

Apresentam uma arquitectura vagamente nodular. Na maioria dos casos, as células tumorais são um pouco mais largas que os linfócitos normais, apresentando um núcleo irregular. Menos frequentemente, as células podem ser maiores e morfológicamente semelhantes a linfoblastos. A medula óssea está envolvida na maioria dos casos, tendo uma apresentação leucémica em 20% dos mesmos. Existe a tendência para o envolvimento do tracto gastrointestinal (ainda não explicado), por vezes na forma de nódulos multifocais da submucosa que se assemelham a pólipos – polipose linfomatóide.

Centro germinativo não reactivo



BCL-2 é um marcador para o linfoma de centro folicular expresso, nestes casos, no centro germinativo das células B. Linfoma devido a translocação t(14;18) nas células linfóides.



Muitas células positivas para a ciclina D1.

A ciclina D1 é a primeira das ciclinas do ciclo celular, é a ciclina de arranque da fase G1. É a única ciclina cuja regulação depende da influência de factores de crescimento externos.

A expressão desta ciclina D1 é absolutamente típica deste tipo de linfoma, resulta de uma anomalia molecular típica deste tipo de linfoma.

Este linfoma tem as suas características morfológicas próprias, a sua expressão imunológica própria, a sua biologia molecular própria.

- Qual é o diagnóstico em A? Porquê?

Linfoma de centro folicular porque expressa BCL-2.

- Qual é o diagnóstico em B? Porquê?

Linfoma mantelar ou linfoma do manto porque expressa ciclina D1.

- Que outros marcadores imunofenotípicos podem ser úteis na caracterização de cada um dos dois tipos de linfoma documentados?

A – CD10+, BCL6+, t(14;18) – em 90% dos casos a sobre-expressão do gene *BCL* bloqueia apoptose.

Este tipo de tumores apresenta marcadores como o CD19 e CD20 e muitos são os casos de expressão de marcadores específicos das células B como o CD10. As células neoplásicas expressam ainda a proteína BCL-2 (um facto que as distingue das células B normais do centro germinativo, que são BCL-2 negativas).

B – CD5+, CD23-, t(11;14) – em 60% dos casos a sobre-expressão de ciclina D1 facilita a progressão em G1/S.

As células tumorais normalmente co-expressam à sua superfície IgM e IgD, antigénios CD19, CD20, CD22 e CD5. O linfoma do manto apresenta anormais níveis da proteína ciclina D1 e ausência de proliferação dos centros (o que o distingue da leucemia linfóide crónica).

- Que mecanismos moleculares estão envolvidos na patogénese de cada um dos dois tipos de linfoma documentados?

A – A translocação t(14;18) nas células linfóides.

Na maioria dos doentes, as células tumorais revelam uma translocação característica – t(14;18). O ponto de quebra no cromossoma 18 envolve 18q21, onde foi mapeada a anti-apoptose do gene BCL-2. Esta translocação causa a sobre-expressão da proteína BCL-2.

B – A translocação t(11;14) não é detectada em todos os casos de linfoma das células do mantomas todos os casos têm sobre-expressão da ciclina D1 logo, outras anomalias genéticas devem ser responsáveis pelo aumento da expressão de ciclina D1.

A maioria destes tumores (ou até mesmo todos eles) têm a translocação t(11;14) que funde o gene da ciclina D1 do cromossoma 11 com a imunoglobulina do cromossoma 14. Esta translocação desregula a expressão da ciclina D1, um regulador do ciclo celular, e serve como base para o característico aumento dos níveis desta proteína.

- Qual é a evolução clínica previsível de cada uma das situações?

A – O prognóstico é razoável. Longa história de sobrevivência natural (7 a 9 anos) sendo muito difícil de tratar. Os doentes vivem bem contudo, ao longo do tempo as células vão sofrendo mais alterações genéticas ocorrendo transformação num linfoma de potencial agressivo acentuado. Em 40% dos casos evolui para um linfoma de células B difuso, associado a mutações no gene TP53.

B – O prognóstico é reservado. São tumores muito agressivos e incuráveis, com sobrevivência média de 3 a 5 anos (baixa) apesar do doente não aparentar qualquer sintoma. A fadiga e linfadenopatia são encontradas em doentes já com a doença generalizada, envolvendo a medula óssea, baço, fígado e, por vezes, o tracto GI.

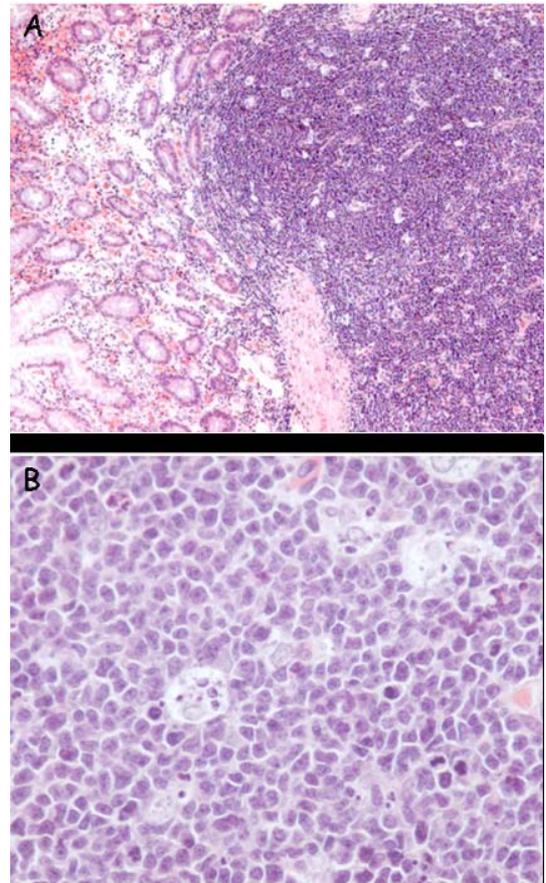
CASO 5

Criança do género masculino, de 7 anos, foi internada por quadro de oclusão intestinal que determinou intervenção cirúrgica para ressecção de tumor intestinal.

- **Descreva os aspectos histológicos da lesão, documentada na [Fig. 15](#), e proponha um diagnóstico.**

A e B – linfoma constituído por células grandes, com cromatina fina dispersa. É de notar a grande actividade mitótica e a presença de macrófagos e de corpos apoptóticos.

Neoplasia intestinal – Linfoma de “alto grau de malignidade”



- **O estudo imunocitoquímico demonstrou o fenótipo CD45+/ CD20+/ CD3-/ CD10+. Qual é o diagnóstico mais provável?**

CD3- → não é T
CD10+ → marcador universal B
CD45+ → marcador de linfócitos
CD10+

} Linfoma B periférico do tipo linfoma de Burkitt

- **Que informação adicional permitiria confirmar o diagnóstico? Porquê?**

t (8;14), t (2;8) ou t(8;22)

Este tipo de tumor está muitas vezes associado a translocações que envolvem o gene *MYC* (cromossoma 8) e o gene *IgH* (cromossoma 14). Podem também ocorrer translocações envolvendo as cadeias leves λ e κ (cromossomas 2 e 22). Destas alterações resulta um aumento da expressão da proteína *MYC*.

- **Perante a confirmação do diagnóstico, que prognóstico é possível estabelecer?**

O linfoma de Burkitt raramente atinge os gânglios linfáticos. A apresentação leucémica é pouco comum.

Apesar de ser o tumor com maior taxa de crescimento, é possível atingir níveis de remissão de 80 a 90 %.

Informação adicional do Robbins

Tipo	Frequência	Morfologia	Imunofenotipo	Outras características
Linfoma de Burkitt	<1% dos linfomas (EUA)	Células com um tamanho intermédio (entre os linfócitos e os imunoblastos), nucléolos proeminentes e grande actividade mitótica; aparência de 'céu estrelado' devido ao elevado nível de apoptose.	Células B maduras expressando CD10 e imunoglobulina de superfície.	Endémico em África (vírus Epstein-Barr); aumento de frequência nos indivíduos imunossuprimidos; afecta predominantemente crianças; envolvimento de vísceras extra gânglios linfáticos; progressão rápida; boa resposta à terapêutica.

CASO 6

Indivíduo do género masculino, de 36 anos, com queixas de febre, suores nocturnos e emagrecimento, apresentava esplenomegalia moderada e restante exame físico normal. No estudo imagiológico foram detectadas adenomegalias retroperitoneais. O doente foi submetido a esplenectomia.

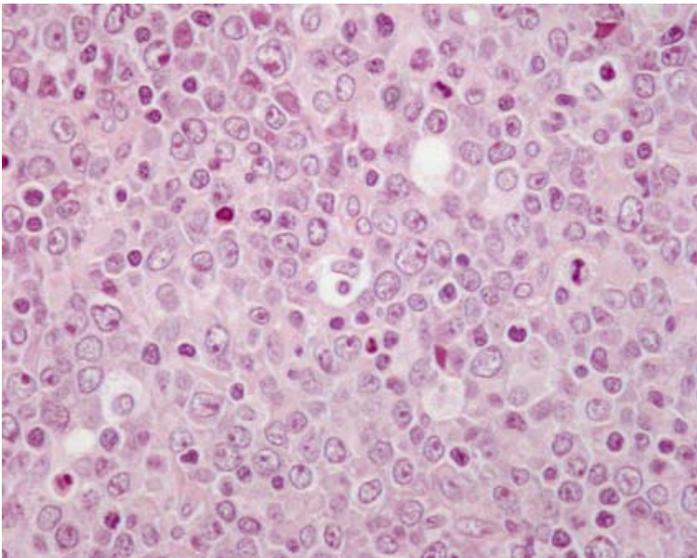
- Descreva a superfície de corte do baço representado na Fig. 16. Qual é o diagnóstico mais provável? Porquê?



Para além da zona de baço normal, à direita, existe uma massa isolada, de grandes dimensões, lútea, irregular e aparentemente não capsulada, à esquerda. Trata-se provavelmente de um caso de linfoma de células grandes (Linfoma difuso de células B grandes, segundo o *Robbins*). Esta hipótese é apoiada pelo facto de estes linfomas envolverem frequentemente, primária ou secundariamente, o baço, manifestando-se

segundo uma massa isolada e de grandes dimensões (contrariamente aos linfomas de células pequenas ou linfomas foliculares que se manifestam, no baço, por expansão multifocal da polpa branca, apresentando um aspecto nodular – figura 12).

- Descreva os aspectos histológicos mais salientes da lesão documentada na Fig. 17.



As células neoplásicas apresentam dimensões bastante superiores às dos linfócitos normais presentes (células ovais de núcleo basófilo que ocupa a maior parte do citoplasma). Possuem núcleos grandes, com cromatina descondensada (pouco densos) e nucléolos proeminentes. Estas células apresentam um padrão difuso de crescimento.

- Que fenótipo imunológico espera detectar na lesão documentada?

CD19+ e CD20+ (marcadores de linfócitos B)

CD45+

CD3 –

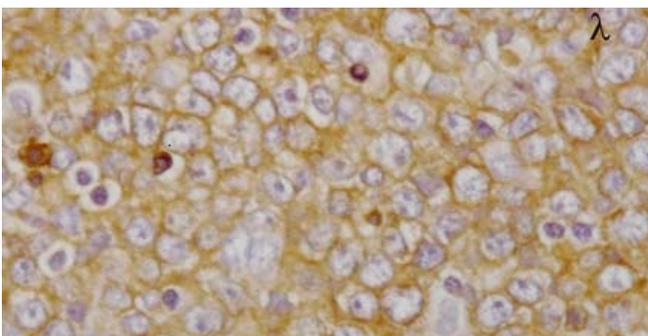
São também indicados pelo *Robbins*:

CD10+ e BCL6+ (marcadores de centro germinativo).

TdT –

A maior parte possui Igs de superfície.

- Como interpreta os resultados representados na Fig. 18, sabendo que o resultado para as cadeias K foi negativo?



Estas células neoplásicas expressam cadeia λ e não expressam cadeia K. São λ + / K –. Existe monoclonalidade das cadeias leves, o que valida a natureza neoplásica desta situação.

- Qual é o diagnóstico? Este tipo do linfoma é frequente ou raro? Que factores condicionam o prognóstico?

O diagnóstico é de uma situação de linfoma de células grandes. Esta importante categoria de diagnóstico engloba um grupo heterogéneo de tumores que conjuntamente constituem cerca de 20% de todos os linfomas não-Hodgking, 60% a 70% dos neoplasmas linfóides agressivos e cerca de 5% dos linfomas em crianças.

O prognóstico está relacionado com o tipo histológico de linfoma (aspecto mais importante); com o estadiamento e volume tumoral; e ainda factores adicionais (diferente expressão de genes, entre outros).

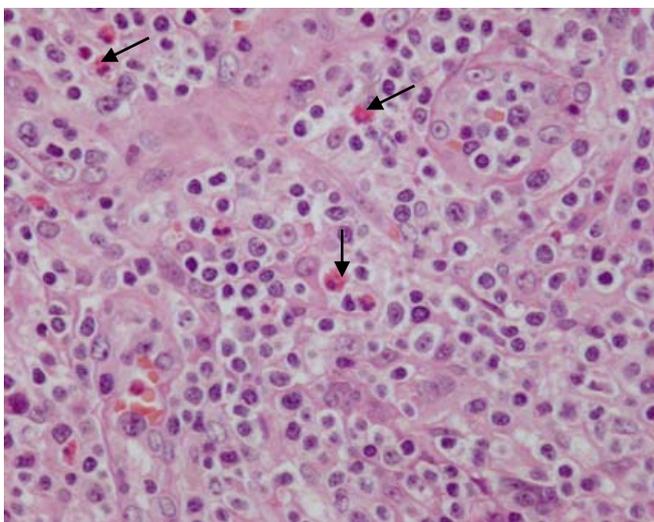
O prognóstico está largamente dependente da celeridade com que se inicia a quimioterapia, uma vez

que estes tumores são francamente agressivos e rapidamente fatais se não tratados (com a terapia pode-se atingir remissão completa do linfoma em 60% a 80% dos pacientes, e aproximadamente 50% mantém-se livre da doença por vários anos podendo ser considerado como curado). Um outro importante factor de prognóstico é o padrão de distribuição da neoplasia, pelo que doentes com uma doença limitada possuem um prognóstico mais favorável que pacientes com uma doença disseminada ou com uma larga e tumefacta massa tumoral.

CASO 7

Indivíduo do género masculino, de 64 anos, com história de febre, prurido e perda de peso, apresentava linfadenopatias generalizadas. O estudo laboratorial revelou anemia e hipergamaglobulinemia. Foi efectuada biopsia ganglionar.

- Descreva os aspectos mais salientes da lesão documentada na Fig. 19.



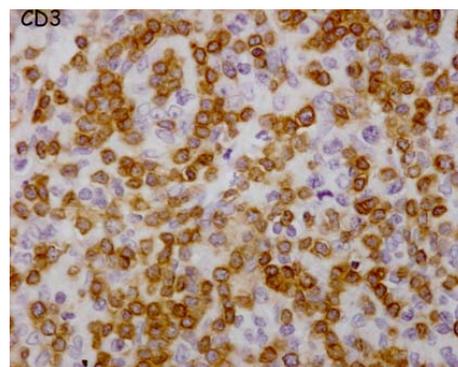
Em primeiro lugar nota-se alguma desorganização da arquitectura nodular. Distingue-se uma elevada quantidade de linfócitos que compõe uma mistura pleomórfica de células pequenas, intermédias e de grandes dimensões. Observa-se também um número moderado de eosinófilos (representados pelas setas na imagem).

Nota teórica: o prurido desenvolvido pelo indivíduo tem uma forte associação com os eosinófilos presentes e circulantes. Estas células, macrófagos e outras células reactivas são provavelmente atraídas por citocinas derivadas das

células T.

- Como interpreta o resultado do estudo imunocitoquímico documentado na Fig. 20?

As células apresentadas são CD3+, o que indica que as células potencialmente neoplásicas são células linfocitárias de linhagem T.



- Que diagnóstico propõe?

O diagnóstico mais provável tendo em conta os dados disponíveis é linfoma periférico angioimunoblástico de células T.

- Que método complementar usaria para comprovar o diagnóstico? Porquê?

Poder-se-ia recorrer a uma técnica de PCR para avaliar a presença de rearranjos do TCR e através

destes, avaliar a clonalidade (mono ou policlonalidade) da população de linfócitos estudada. Tendo em conta que este tipo de técnica de biologia molecular revela, nas leucemias periféricas de células T, rearranjos monoclonais de pelo menos um *locus* de TCR, a pesquisa da clonalidade é o método mais eficaz para comprovar o diagnóstico de neoplasia (o fenótipo maduro de células T determinado por imunofenotipagem não implica, por si só, que haja monoclonalidade). Enquanto que nas neoplasias periféricas de células B se pode avaliar a natureza neoplásica da lesão via monoclonalidade das células através da análise das cadeias leves expressas, no caso de leucemias periféricas de células T, este é o método mais fiável.

- No contexto do diagnóstico efectuado, como interpreta a presença de hipergamaglobulinemia? Como poderia comprovar a interpretação proposta? Este facto pode contribuir para o diagnóstico?

A presença de hipergamaglobulinemia deixa adivinhar um aumento do número e actividade de linfócitos B. Este aumento pode ocorrer como reacção á debilidade imunológica provocada pelo certo grau de imunodeficiência promovido pela patologia. Por exemplo, é bastante frequente a infecção dos indivíduos com esta neoplasia pelo vírus Epstein-Barr (EBV), sendo o EBV encontrado, nestas situações, no interior dos linfócitos B que incorporam o infiltrado polimórfico desta doença. Na verdade o vírus já provou ser, nestas situações, um forte indutor da proliferação linfóide B.

Poder-se-ia comprovar a proliferação linfóide através de uma contagem de linfócitos B periféricos e imunofenotipagem. Pode-se também pesquisar a presença do vírus.

Em certa medida este facto pode contribuir para o diagnóstico devido à forte associação epidemiológica entre a infecção por EBV e os casos de leucemia periférica de células T. O aumento das infecções num indivíduo com esta leucemia devido ao estado de imunodeficiência desenvolvido e o facto de haver uma consequente expansão do compartimento B reactivamente, é também um dado que pode reforçar o diagnóstico.

Nota: não existem gravações que respondam a esta questão, nem foi encontrado qualquer dado no livro recomendado ou aulas desgravadas anteriores, que permitisse responder. Deste modo a resposta foi delineada com base em informação recolhida noutras fontes e adaptada ao caso clínico, sendo portanto uma hipótese de resposta não revista por docentes ou concordante com a bibliografia recomendada.

E por fim as ditas palavras do glossário...

ORGANELOS/CÉLULAS/TECIDOS/ÓRGÃOS/LOCALIZAÇÕES – ANATOMIA NORMAL

Baço
Fígado
Gânglios linfáticos
Linfático(s)
Linfócito(s) B
Linfócito(s) T
Macrófago(s)
Medula óssea
Núcleo
Nucléolo(s)

MICROORGANISMOS/OUTROS AGENTES AGRESSORES

EBV(Epstein Barr vírus)

MECANISMOS/LESÕES/MEDIADORES DOS PROCESSOS DEGENERATIVOS, INFLAMATÓRIOS E NEOPLÁSICOS

Apoptose
Expansão clonal
Lesão neoplásica
Metastização
Mutações(ões)
Progressão neoplásica
Susceptibilidade genética
Translocação(ões)

GENES /PRODUTOS DE GENES/ BLOQUEADORES DE GENES/MARCADORES CELULARES E EXTRACELULARES

BCL2 (B cell lymphoma)
CD10
CD15
CD34
Ciclinas
Imunoglobulina(s)
Mieloperoxidase
p53
p53 mutado(a)
Tdt

MÉTODOS / PROCEDIMENTOS

Citometria de fluxo
Imunocitoquímica
PCR (polymerase chain reaction)

NEOPLASIAS/LESÕES NEOPLASIFORMES/LESÕES PRECURSORAS/LESÕES PRÉ-MALIGNAS

Leucemia
Leucemia linfóide crónica(B)
Leucemia mieloblástica
Leucemia mieloide crónica
Linfoma
Linfoma de Burkitt
Linfoma de células precursoras B
Linfoma de células precursoras T
Linfoma do centro folicular
Linfoma mantelar
Linfoma(s) B periférico(s)
Linfoma(s) T periférico (s)
Neoplasia

DOENÇAS/SINDROMES

Doença neoplásica

Torna-se complicado “desgravar” um seminário quando existe a gravação de apenas 3 casos... E, por isso, gostaríamos de agradecer a todas as pessoas que ajudaram na desgravação deste seminário ao cederem-nos tão prontamente os seus apontamentos e gravação: Cláudia Patraquim, Raquel Diz (e também à Susanita) e Teresa Pena. Obrigada! =)

Eu (Leonel) gostaria de agradecer ao mundo por ser tão grande e azul e verde, e às nêspersas por fazerem sempre parecer que é Verão em casa de quem as invoca. Obrigado! :) (e peço desculpa ao meu smiley por ter olhos mais pequenos e menos fendidos que o irmãozinho que é “diferente”).

Boa sorte para os exames!!! =)

Leonel Barbosa
Mariana Afonso
Marta Sousa
Patrícia Fernandes

Turmas 3 e 16