

O texto representa a desgravação da aula, enquanto as tabelas e esquemas correspondem aos slides apresentados.

A aula é sobre leucemias e linfomas, assunto que já foi largamente discutido no seminário e nas 2 semanas de aulas práticas que tiveram. Esta aula pretende ser a repetição de alguns conceitos básicos e alicerces importantes para vocês integrarem os conhecimentos.

Um subtítulo para esta aula, ou no fundo o título mais verdadeiro, seria **neoplasias hematológicas**. Este seria o título mais correcto porque leucemia e linfoma são palavras que significam coisas absolutamente diferentes.

Leucemias → neoplasias malignas de células hematológicas com população neoplásica “major” no sangue periférico.

Linfomas → neoplasias malignas de células linfóides.

S/ componente “major” no sangue periférico – linfoma.

C/ componente “major” no sangue periférico – linfoma/leucemia.

Então o que é uma leucemia? É uma neoplasia maligna de células hematológicas com população neoplásica *major* no sangue periférico. Portanto, não diz nada sobre o tipo de célula maligna nem sobre o comportamento desta neoplasia, diz apenas que é uma neoplasia de células do sangue, mas nós temos muitas células diferentes, e diz que uma proporção significativa desta população está no sangue. Por outro lado, linfoma é uma palavra que diz que é uma neoplasia maligna de células linfóides.

Percebam que isto não é uma classificação, as neoplasias hematológicas não se dividem em linfomas e leucemias. Uma classificação tem uma lógica subjacente, e isto não tem a mesma lógica. A definição de leucemia e a definição de linfoma não traduz a mesma abordagem lógica. Este é o primeiro ponto absolutamente importante.

É perfeitamente natural que algumas neoplasias linfóides possam ter população *major* no sangue periférico e, como tal, serem leucemias. E relativamente à designação é mesmo assim: todas as neoplasias de células linfóides que têm um componente *major* no sangue periférico chamam-se linfomas e também se chamam leucemias linfóides.

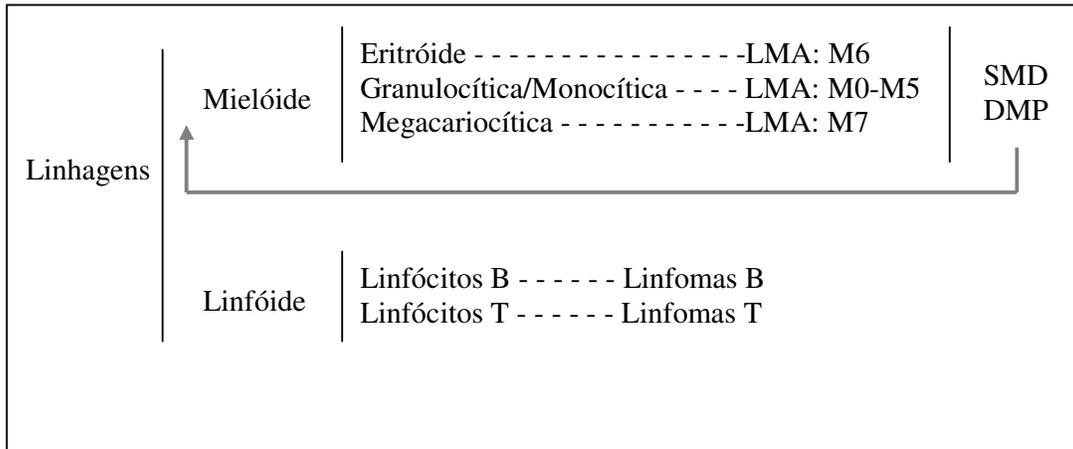
<u>Leucemias</u>	<u>Linfomas</u>
- Agudas	- “Alto grau de malignidade”
- Crónicas	- “Baixo grau de malignidade”

Relativamente às leucemias, estas muitas vezes dividem-se em agudas e crónicas. Os linfomas dividem-se em linfomas de alto grau de malignidade e linfomas de baixo grau de malignidade. Esta não é uma classificação oficial, é uma divisão para efeitos práticos. O que é que estas palavras querem dizer? Transmitem a noção de como é que a doença cursa. Nas leucemias agudas o curso clínico é muito agressivo, a população neoplásica prolifera muito, aumenta muito rapidamente, e o doente, sem tratamento, tem uma grande probabilidade de morrer em muito pouco tempo, semanas ou meses. Um processo leucémico crónico quer dizer exactamente o oposto, a população neoplásica desenvolve-se de uma forma indolente e o doente pode viver muitos meses ou anos com o seu processo neoplásico, sem que este constitua uma ameaça para a sua vida a curto e médio prazo. E é exactamente a mesma lógica que está reflectida nos termos que se usam quando estamos a falar em linfomas. Os linfomas de alto grau de malignidade são os tais que na sua evolução normal, sem interferência médica, têm um curso rápido e o doente pode morrer em muito pouco tempo. Os de baixo grau de malignidade são o oposto. É evidente que estes termos se sobrepõem. Os linfomas de alto grau de malignidade com um quadro leucémico constituem leucemias agudas. E os linfomas de baixo grau de malignidade, com componente importante de população neoplásica no sangue periférico, constituem leucemias linfóides crónicas.

Classificação das neoplasias hematológicas	
Linhagem celular + Estadio de diferenciação	
Modificações fenotípicas	<ul style="list-style-type: none"> - morfológicas - citoquímicas - imunológicas
Modificações genotípicas	<ul style="list-style-type: none"> - próprias (rearranjos Igs ou TCR) - adquiridas (translocações)

A classificação das neoplasias hematológicas é uma regra geral e que funciona, e procurem depois organizar o conhecimento de acordo com esta regra geral. Como todas as regras gerais tem excepções, mas a regra geral funciona e só depois de a perceberem muito bem é que podem lidar com as excepções. Então a regra geral é esta: a classificação das neoplasias hematológicas, todas elas, baseia-se na identificação da linha celular predominantemente atingida e na

identificação do estadio de diferenciação dessa população neoplásica. Estes são os 2 pilares fundamentais para a classificação das neoplasias hematológicas. Como é que nós fazemos isto? A avaliação da linhagem e a avaliação do estadio de diferenciação passa por prestar atenção a coisas que são subtis, mas nós sabendo quais são procuramo-las: modificações fenotípicas das células, que podem ser da forma, do seu conteúdo enzimático, de determinantes antigénicos que elas exprimem, e modificações genótípicas próprias e adquiridas. Modificações genótípicas próprias são aquelas que fazem parte da biologia normal daquele tipo celular. Modificações genótípicas adquiridas são aquelas que nunca são normais, que traduzem alterações do genótipo ligadas directamente à doença. E assim, quando falamos em modificações genótípicas próprias estamos a falar no rearranjo dos genes que codificam as imunoglobulinas (Igs) e os receptores de células T (TCR). E quando falamos das adquiridas estamos a falar nas numerosas translocações (e em algumas mutações, menos numerosas) com um papel no estabelecimento da doença.

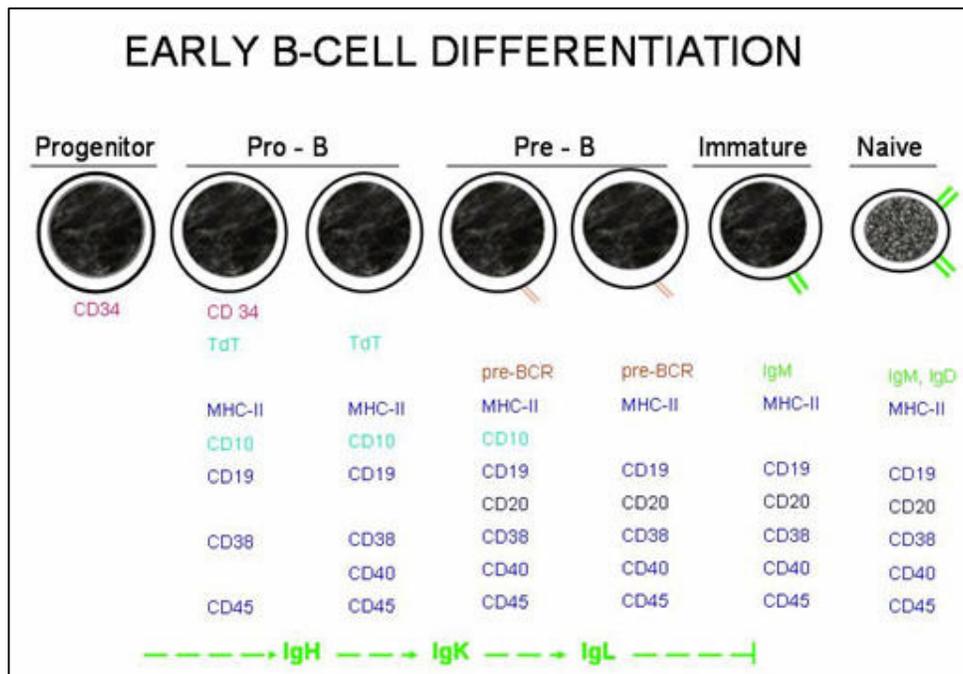


Classificamos as neoplasias hematológicas definindo a linhagem, e a primeira grande divergência é se a linhagem geral é mielóide ou linfóide. E depois, dentro da linhagem mielóide se é com participação mais importante eritróide, temos a leucemia mielóide aguda (LMA) tipo M6. Se é com granulócitos ou monócitos temos as LMA, que vão de M0 a M5. Se a linhagem predominante é a megacariocítica, temos a LMA tipo M7. Esta classificação das leucemias mielóides agudas significa definição de linhagem e estadio de diferenciação. Claro que parece que há excepções. As síndromes mielodisplásicas (SMD) e as doenças mieloproliferativas crónicas (DMPC) parecem que são excepção. Quer nas SMD quer nas DMPC, as alterações e a população neoplásica manifestam-se nas diferentes linhagens. O problema destas doenças neoplásicas está no precursor anterior à diferenciação das diversas linhagens mielóides. Este problema permite, mesmo assim, que as células continuem a diferenciar-se bastante bem nas DMPC, que não têm anomalias de diferenciação, têm anomalias de quantidade, *versus* as SMD em que a diferenciação é muito perturbada nas 3 linhagens. Portanto nestes casos a regra também funciona, embora pareça não funcionar.

Relativamente à linhagem linfóide, a grande divisão é entre linfócitos B e linfócitos T. E depois os linfomas B e os linfomas T vão subclassificar-se em larga medida à custa da identificação do estadio de diferenciação das células linfóides.

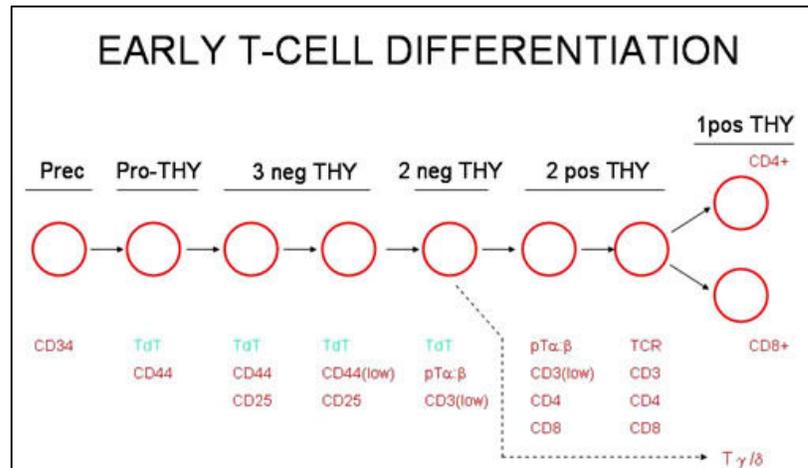
Diferenciação central B

Sabem da imunologia que a diferenciação das células linfóides B e T tem 2 grandes etapas: a diferenciação central e a periférica. Uma etapa central na medula óssea, até ficarem maduras, adultas, embora ingénuas, mas preparadas para a vida (células naïve).



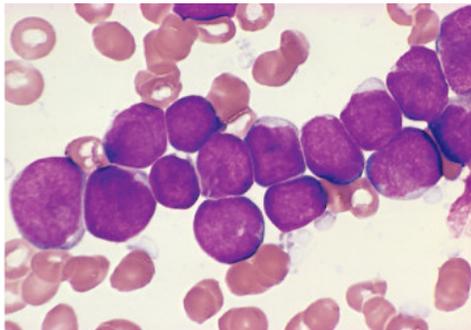
A diferenciação central acontece para as células B na medula óssea e é um processo que morfologicamente parece pobre, as células são sempre muito parecidas, ligeiramente maiores do que o linfócito maduro. As grandes mudanças dão-se em termos da expressão de moléculas de superfície e de modificações no genoma, os rearranjos génicos, e a expressão ao longo do tempo de diferentes moléculas de acordo com a fase de diferenciação. E portanto, são estas alterações, esta ligeira diferença morfológica, o fenótipo próprio das fases precoces, e eventualmente o estudo do genoma das células em termos de detectar quais são os *loci* rearranjados, que nos permite ter a certeza que estamos perante uma neoplasia de células precursoras.

Diferenciação central T



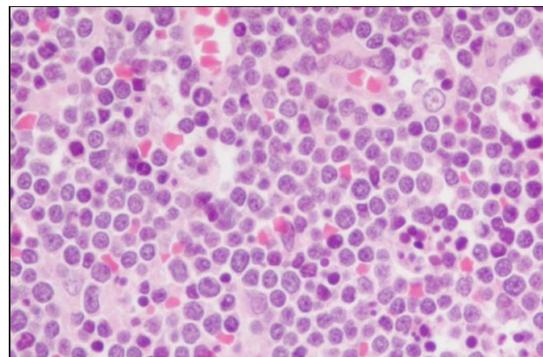
Para as células T é um processo semelhante com a diferença importante que parte deste processo de diferenciação central ocorre na medula óssea e parte acontece no timo. E o processo é idêntico. Existe também a diferença de tamanho. E também acontece a mesma coisa em termos de expressão de moléculas de superfície, até surgir o CD3 nas fases finais, o único marcador da linhagem T. E depois surge a individualização das populações CD4 e CD8, que antes estava presente simultaneamente na mesma célula. Ao longo deste processo também vão acontecer os rearranjos dos *locus* dos TCR.

Linfoma de células precursoras



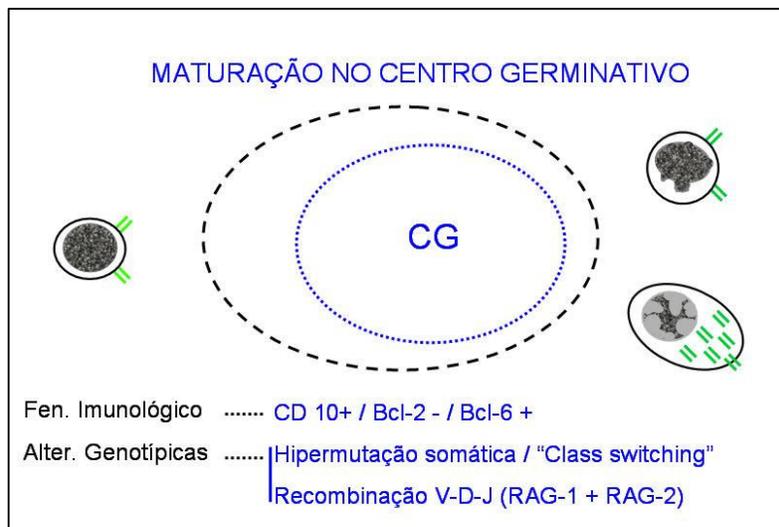
são células linfóides precursoras.

Também já viram este caso nas aulas práticas. Era o caso de um gânglio linfático de um jovem com cerca de 20 anos, com massa mediastínica, etc., e viram que quase todo o gânglio estava substituído por uma população linfóide, com linfócitos maiores do que o normal, com o núcleo com a cromatina menos densa, e num quadro em que é muito fácil identificar mitoses e corpos



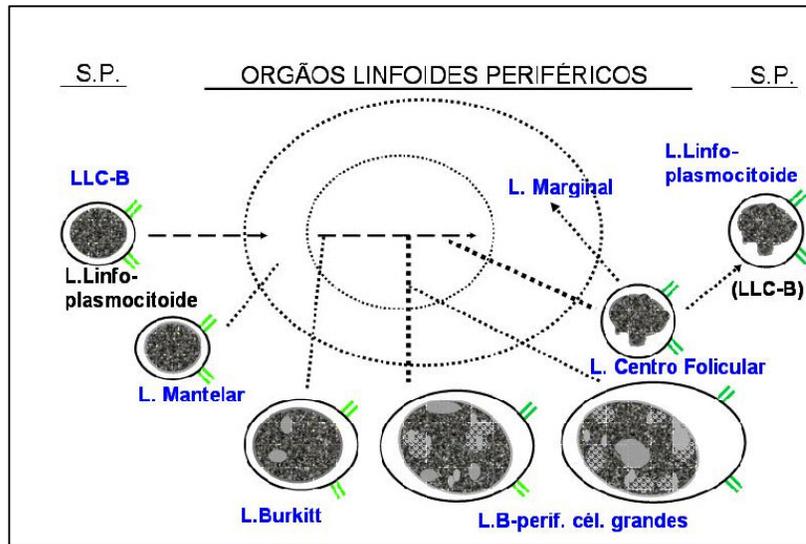
apoptóticos. E portanto sabemos que estamos a ver um quadro morfológico muito provável de linfoma de células precursoras. E depois vamos confirmar pelo estudo imunológico e se for preciso, no caso de as células serem muito imaturas e não conseguirmos distinguir se as células são B ou T, recorreremos ao estudo genético dos rearranjos para poder caracterizar se é um linfoma de células precursoras B ou T. E isto é essencial, porque os tratamentos destas 2 situações são muito diferentes.

Diferenciação periférica B



Vocês sabem que os linfócitos pequeninos, maduros, os tais preparados para a vida, depois durante a vida vão-lhe acontecer mudanças. E as mudanças em termos funcionais ocorrem quando o linfócito encontra os antígenos que reconhece e vai transformar-se numa de 2 coisas: ou numa célula de memória, ou numa célula efectora de resposta que é o plasmócito. Claro que isto é o grande salto funcional mas muita coisa se passa, e o que se passa de essencial ocorre nos centros germinativos, estruturas transitórias mas muito complexas e fascinantes em muitos aspectos. O folículo linfóide secundário tem uma coroa que é composta por populações distintas que constituem o manto e a margem, e o centro germinativo que é a área especial de grande modificação linfóide durante esta fase de maturação periférica.

O sistema linfóide B é o único sistema do nosso organismo que tem 2 fases de maturação muito distintas, ambas com grandes modificações morfológicas, imunológicas e genéticas, porque também no centro germinativo ocorrem alterações genéticas nos genes das Igs. As células que constituem o manto e a margem são células pequeninas, com o núcleo mais ou menos regular, mas a população *major* do centro germinativo de pequenina passa a maior, mas um maior intermédio, depois bastante maior e muito maior. E depois esta célula tão maior vai para plasmócito, ou a partir daqui vai para célula outra vez mais pequenina, de memória.



Estas são todas as subpopulações B periféricas que estão perfeitamente caracterizadas. E vocês já viram exemplos de linfomas de cada uma destas subpopulações. A maioria das **leucemias linfóides crônicas (LLC)** representam a fase inicial da maturação linfóide e uma minoria representa a fase final. Como é que nós podemos saber isto? Não é pela cara dos linfócitos, porque embora estes núcleos estejam um bocadinho diferentes, isto é uma diferenciação subtil que não esperamos que vocês reconheçam. É através do estudo genético dos rearranjos dos genes das Igs; se a célula não tiver entrado no centro germinativo não sofre hipermutações nos genes das Igs; se a célula tiver passado no centro germinativo tem hipermutações nos genes das Igs. Outro linfoma também da população que constitui a coroa sem hipermutação dos genes das Igs é o **linfoma mantelar**, que está discutido no seminário. E o linfoma que corresponde mesmo no início da activação e do processo de maturação no centro germinativo é o **linfoma de Burkitt**, que já viram nas aulas práticas. Os linfomas que representam 2 fases muito próximas da maturação linfóide no centro germinativo são os **linfomas B periféricos difusos de células grandes**. O linfoma que representa a maturação funcional em plasmócito é o **mieloma múltiplo** ou **plasmocitoma**. O linfoma que representa a célula final do centro germinativo, a pequenina, é o **linfoma do centro folicular**. E a que representa a célula quando já é outra vez população da coroa é o **linfoma de células marginais**. Portanto vocês já estudaram exemplos de cada um destes linfomas, que são de facto situações distintas, morfológica, clinicamente, em termos moleculares, no que diz respeito não só às mutações dos genes das Igs quer como a episódios moleculares com relevância na patogénese da doença, na transformação neoplásica.

Como é que nós podemos ter a certeza que isto de facto é a regra a funcionar? Porque de facto muitas destas células têm a morfologia e muitas das características imunofenotípicas da expressão normal do linfócito nessa fase, e têm as características moleculares também próprias dessa fase normal. Portanto, estudem estes diferentes tipos de linfomas enquadrando e percebendo a que é que eles correspondem enquanto população normal.

A população de células do centro germinativo, a tal fase de maturação periférica com uma grande proliferação, são linfomas com uma enorme proliferação, são linfomas de alto grau de malignidade: linfomas B periféricos difusos de células grandes e linfomas de Burkitt. Os outros são linfomas de população que não prolifera muito, são linfomas de baixo grau de malignidade. Alguns deles têm sistematicamente uma população neoplásica abundante no sangue periférico, o exemplo típico é a leucemia linfóide crônica; outro exemplo possível é o linfoma mantelar, como populações *minor* podem ser encontradas em todos os outros linfomas se as procurarmos bem, mas ninguém as vai procurar porque não são clinicamente relevantes.

LINFOMAS DE CÉLULAS B	
CÉLULAS PRECURSORAS	CÉLULAS PERIFÉRICAS
	Linf. Linfocítico/Leucemia Linf. Crônica
	Linf. Linfoplasmocítico/Macrogl. Wald.
	Tricoleucemia (“Hairy cell leukemia”)
	Linf. de cél. Marginais
	- esplénico
	- extra-ganglionar (MALT)
	- ganglionar
	Linf. Mantelar
	Linf. do Centro Folicular
	Linf. Burkitt
	Linf. “difuso de células grandes”
	- linf. “do mediastino”
	Plasmocitoma/Mieloma múltiplo

Com isto explicamos até agora praticamente todos os linfomas B que existem.

Os linfomas de células B dividem-se em linfomas de células precursoras e linfomas de células periféricas. Os linfomas de células precursoras são o que são. E os linfomas de células periféricas são muito diferentes de acordo com estas fases todas que discutimos até agora. Quais são as exceções a esta regra? Uma delas foi colocada numa aula prática, é a tricoleucemia, que vocês viram muito bem no PAS. É uma exceção porque não tem o equivalente normal na diferenciação linfóide. E o único linfoma que nós não discutimos até agora neste contexto da diferenciação é o linfoma linfoplasmocítico. Mas, tal como a leucemia linfóide crônica, pode vir antes ou depois da passagem pelo centro germinativo, coloquem-no perto da leucemia linfóide crônica de células B. E de resto todos eles estão discutidos.

Diferenciação periférica T

A diferenciação periférica T é pobre em termos morfológicos, as células pequenas passam estadios intermédios, ficam sucessivamente maiores (com/sem nucléolos) e acabam novamente por ficar pequenas. Não existem subpopulações muito distintas tanto a nível fenotípico, imunofenotípico, como genotípico. A maturação periférica é muito importante, essencialmente porque as células produzem interleucinas (ILs) muito diferentes.

A classificação dos linfomas T periféricos não obedece à regra geral (linhagem celular + estadio de diferenciação) porque não temos subpopulações distintas.

Classificação de Linfomas T

- **Células precursoras**
- **Células periféricas:**
 - **Leucemia/linfoma** (população neoplásica no sangue periférico)
 - **Crónica**
 - **Granular** (morfologia de uma subpopulação especial de linfócitos T CD8)
 - **Células T “do adulto”** (infecção por HTLV-1, mau prognóstico)
 - **Linfoma NK/T “agressivo”**

 - **Linfoma T de tipo AILDS**
 - **Linfoma T periférico NOS** (sem outra especificação)
 - **Linfoma Anaplástico (CD30+)**

 - **Micose fungóide e Síndrome de Sézary** (situações típicas de doenças cutâneas)
 - **Linfoma T subcutâneo tipo paniculítico** (aparência de inflamação, lesão na região profunda da pele; a população tem toda o mesmo rearranjo do TCR - população monoclonal em termos biológicos)
 - **Linfoma T associado a enteropatia** (doentes com história clínica de intolerância ao glúten, aparece uma massa tumoral no intestino com linfócitos T)
 - **Linfoma hepato-esplénico**



contexto clínico + morfologia + imunofenótipo

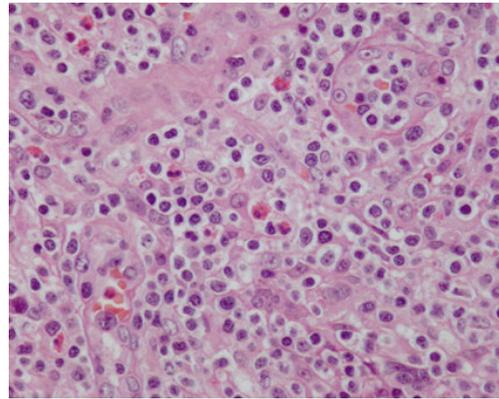
Diagnóstico provável de linfoma T periférico.

fenótipo T ≠ monoclonalidade

→ Avaliação molecular de rearranjos dos TCR
(verificar que a população tem toda o mesmo rearranjo)

Indivíduo do género masculino, 64 anos, com história de febre, prurido e perda de peso, apresentava linfadenopatias generalizadas. O estudo laboratorial revelou anemia e hipergamaglobulinemia (aspecto reactivo de estimulação da população B).

Na imagem observam-se linfócitos, eosinófilos e muitos vasos (ILs produzidas pelas células T originam angiogénese e são factores quimiotácticos para PMN e eosinófilos). Pode levar a pensar em eosinofilia periférica. Fez-se marcação para CD3 para provar que eram células linfóides T (único marcador da linhagem).

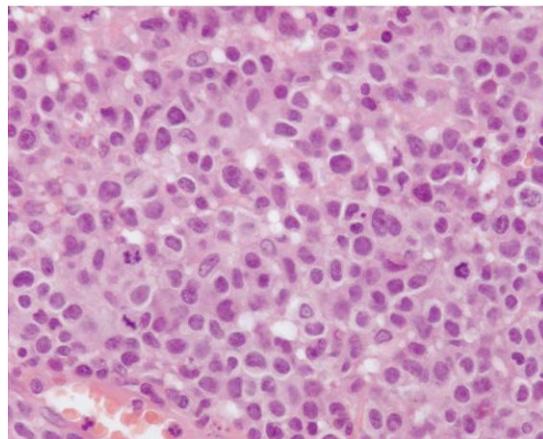


Diagnóstico provável → **Linfoma T periférico (de tipo AIDLS)**

(Tem tipicamente o quadro clínico descrito e há evidência de monoclonalidade.)

Linfoma T anaplástico CD30+

Fenótipo morfológico: diferenciação muito diferente da normal, grande quantidade de citoplasma cor-de-rosa, núcleos muito direitinhos, padrão da cromatina muito diferente do das células do CG, nucléolos muito evidentes, mitoses, resultado negativo para marcadores B (podia ser linfoma B difuso de células grandes, porque tem muito citoplasma). É um linfoma de alto grau de malignidade, agressivo e as células exprimem CD30+.



Normalmente, este antigénio, não é usado para a diferenciação dos diferentes tipos, porque existe nas células normais B e T e numa fase muito curta da diferenciação. Existe em condições anormais no linfoma anaplásico CD 30+ e nas células bizarras da Doença de Hodgkin.

Fenótipo imunológico: CD30+; CD3+/- (anteriormente, quando CD3 e CD20 estavam ausentes, não se considerava linfoma); expressão de ALK (*anaplastic lymphoma kinase*) em 65% – 85% dos casos.

Genótipo: TCR-r (rearranjos em 90% dos casos quer tenham ou não CD3); *locus* dos genes codificadores das IgH, IgK, IgL, em configuração germinativa.

- t (2;5) em 70-80% dos casos, que vai originar gene de fusão NMP/ALK

- outras translocações todas elas envolvendo o cromossoma 2 (variantes) menos frequentes, mas envolvendo sempre o gene ALK: t(1,2), t(2,3), inv2, t(2,17), cada uma em 2-5% dos casos

Pode acontecer em crianças, mas também nos adultos, com envolvimento da pele e órgãos linfóides. Os que não têm rearranjos de TCR estão incluídos neste grupo porque são idênticos clinicamente (células NK, que são raríssimos).

Lista de translocações, tipicamente associadas a tipos muito particulares de neoplasias hematológicas:

t(19;22) – Leucemia mielóide crónica (LMC) (100%)

t(15;17) – Leucemia mielomonocítica

t(14;18) – Linfoma do centro folicular (90%)

t(11;14) – Linfoma mantelar

t(11;18) – Linfoma marginal

t(8;14) – Linfoma de Burkitt

t(2;5) – Linfoma T Anaplásico CD30+

A translocação específica para cada tipo de neoplasias acima descritas participa de uma forma muito importante na transformação neoplásica, mas não quer dizer que seja a única via para originar aquele linfoma. Elas estão presentes em percentagens variáveis de casos.

As alterações moleculares são úteis na caracterização da doença em situações de dúvida de diagnóstico e no acompanhamento da progressão da doença.

Neoplasias de células precursoras B: t(9;22), t(4;11), t(1;19) – mau prognóstico

t(12 ;21) – bom prognóstico

Neoplasias de células precursoras T: t(14;...), t(7p;...), t(7q;...), t(1p;...) – mau prognóstico

Tranlocações que envolvem **factores de transcrição** (CBF α , CBF β , RAR α , Pax-5, c-myc)

versus

Translocações que envolvem **outros tipos de genes** (Abl, ciclina D1, Bcl-2, nucleofosmina)

1) Tranlocações que envolvem factores de transcrição desregulam a função biológica normal da proteína (expressa indevidamente ou perdida), para além do seu papel de factor de transcrição. Por exemplo, o gene c-myc, desregulado pela t(8;14), por si só regula a apoptose, indirectamente o ciclo celular (efeito directo de desregulação), para além disso a proteína também é um factor de transcrição (efeitos indirectos de desregulação) e outros genes igualmente desregulados



Bloqueios de maturação, efeitos na transformação neoplásica muito maior do que de outros genes que não são factores de transcrição, anomalias particularmente frequentes em neoplasias agressivas e que podem ocorrer em crianças (salto de transformação muito grande). Muitas delas não são o único fenómeno de transformação (à excepção da LMC), pois em regra são precisas alterações adicionais. Quando há anomalia de um factor de transcrição são precisas menos alterações adicionais.

2) Quando envolvem outro tipo de genes, as células têm alteração na fase *stem* e podem continuar a sua maturação, são precisas mais alterações e as doenças não tem em regra um curso tão agressivo. O gene Pax-5 (gene da família *homeobox*, em fases muito iniciais do controlo da maturação) tem perda funcional (anomalia determinante) em cerca de 50% dos casos de neoplasias de células precursoras T. Ainda existem outros envolvidos na diferenciação linfóide e no controlo de algumas fases da diferenciação mielóide, referidos anteriormente.

Convém **saber** os aspectos moleculares de todas as entidades, a função, qual o gene implicado e quais as consequências da anomalia.

Boa sorte para os exames!!! ☺

Aula desgravada por:

Marina Morais
Rita Gonçalves

Turma 1