

Revisão / Review

Neoplasias mieloproliferativas: revisão dos critérios diagnósticos e dos aspectos clínicos

Myeloproliferative neoplasms: a review of diagnostic criteria and clinical aspects

Maria de Lourdes L. F. Chauffaille

As síndromes mieloproliferativas crônicas, atualmente denominadas neoplasias mieloproliferativas (NMP), de acordo com a 4ª edição da classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), são doenças clonais de célula-tronco hematopoética, nas quais há a proliferação aumentada de uma ou mais das séries mieloides (granulocítica, eritrocítica, megacariocítica ou mastocítica) com maturação eficaz. A progressão de todas é caracterizada por fibrose medular ou transformação leucêmica. Pela classificação da OMS, as NMP incluem: leucemia mieloide crônica (LMC), policitemia vera (PV), mielofibrose idiopática crônica (MF), trombocitemia essencial (TE), leucemia neutrofilica crônica (LNC), leucemia eosinofílica crônica não especificada (LEC), mastocitose (M) e neoplasia mieloproliferativa inclassificável (NMI). É interessante notar que tanto a LMC (BCR/ABL1) como PV, MF e TE (JAK2 V617F e éxon 12, MPLW515L/K) e M (KITD816V) tiveram suas bases moleculares desvendadas e apresentam em comum a ativação constitutiva de tirosino-quinase graças às mutações adquiridas pela célula-tronco hematopoética. A mutação JAK2 V617F é observada em mais de 90% dos casos de PV, mas também em cerca de 50%-60% das MF e TE, levando ao questionamento de como uma única lesão molecular desencadeia três manifestações clínicas diversas. Já há evidências de que eventos genéticos e epigenéticos adicionais contribuem para a patogênese, tais como MPLW515L e MPLW515K. No presente manuscrito são apresentados os aspectos clínicos, a fisiopatologia e os critérios diagnósticos das diferentes NMP. Rev. Bras. Hematol. Hemoter. 2010;32(4):308-316.

Key words: Transtornos mieloproliferativos; leucemia mieloide crônica; policitemia vera; trombocitemia essencial; mielofibrose primária; mutação.

Introdução

As síndromes mieloproliferativas crônicas, atualmente denominadas neoplasias mieloproliferativas (NMP), de acordo com a 4ª edição da classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), são doenças clonais de célula-tronco hematopoética, nas quais há proliferação aumentada das séries mieloides com maturação eficaz, o que leva à leucocitose no sangue periférico, aumento da massa eritrocitária ou

trombocitose. Várias progridem para fibrose medular ou transformação leucêmica.¹

O grupo de mieloproliferações engloba as seguintes doenças: leucemia mieloide crônica (LMC), policitemia vera (PV), mielofibrose idiopática crônica (MF), trombocitemia essencial (TE), leucemia neutrofilica crônica (LNC), leucemia eosinofílica crônica não especificada (LEC-NE), mastocitose (M) e neoplasia mieloproliferativa inclassificável (NMPI).¹

Livre-docente. Professora Associada da disciplina de Hematologia e Hemoterapia da Unifesp-EPM; assessora médica do Fleury, Medicina e Saúde – São Paulo-SP.

Disciplina de Hematologia e Hemoterapia, Unifesp-EPM e Fleury, Medicina e Saúde – São Paulo-SP.

Correspondência: Maria de Lourdes L. Ferrari Chauffaille
Rua Botucatu 740, 3º andar – Vila Clementino
04023-900 – São Paulo-SP – Brasil
E-mail: chauffaille@hemato.epm.br
Doi: 10.1590/S1516-84842010005000091

Algumas doenças anteriormente denominadas LEC e que apresentam rearranjos PDGFRa, PDGFRβ e FGFR1 são agora agrupadas como neoplasias mieloide e linfoide com eosinofilia.¹

A seguir serão descritas a LMC, PV, MF, TE, LNC e LEC-NE.

Leucemia mieloide crônica (LMC)

Doença originada de célula hematopoética pluripotente que sofreu mutação resultante no cromossomo Philadelphia (Ph).

Aspectos clínicos

A LMC apresenta uma incidência nos EUA de 1,5 casos para cada 100.000 habitantes/ano, com mediana de idade de 60 anos, mas pode ocorrer em qualquer grupo etário,² havendo discreta preponderância no sexo masculino (1,3 homem:1 mulher).³ Dentre 240 casos de LMC acompanhados na Unifesp, entre a década de 90 e 2000, a idade mediana foi de 43 anos.³

O aspecto mais marcante da LMC é a leucocitose com desvio à esquerda e esplenomegalia. A manifestação clínica habitual é de fraqueza, cansaço, aumento de volume abdominal ou empachamento após as refeições (tamanho médio do baço de 5,8 cm nos casos da Unifesp³), com consequente emagrecimento. Estas manifestações são frequentes na fase crônica (FC) da doença.

A história natural da LMC é a evolução, em média, em quatro anos da FC para a crise blástica (CB). A doença se caracteriza clinicamente por duas ou três fases: a primeira é a FC, que pode ser seguida ou não pela fase acelerada (FA) e a última, a fase aguda ou CB. Nestes estágios avançados, as células não se diferenciam e há predomínio de blastos (mieloides, linfoides ou indiferenciados). Na CB, os pacientes, em geral, são sintomáticos com febre, dor óssea, sangramento e sudorese. As Tabelas 1 e 2 apresentam os critérios diagnósticos das FA e CB.

Tabela 1. Critérios diagnósticos de fase acelerada¹

Sangue periférico ou medula óssea	10%-19% de blastos Basófilos > 20% Plaquetas <100.000/uL ou >1.000.000/uL persistentes e não relacionadas à terapia, aumento da leucometria a despeito da terapia
Exame físico	Aumento do baço
Cariótipo	Evolução clonal

Tabela 2. Critérios para crise blástica¹

Sangue periférico ou medula óssea	blastos >20%
Extramedular	proliferação de blastos
Biópsia de medula óssea	agrupamentos de blastos ocupando uma trabécula inteira

Fisiopatologia

A fisiopatologia da LMC se baseia na presença do cromossomo Philadelphia (Ph), isto é, a translocação t(9;22)(q34;q11) ou o rearranjo molecular dos genes BCR e ABL1, uma anormalidade genética adquirida. O gene da fusão BCR/ABL1 transcreve RNAm que codifica uma proteína com atividade tirosino-quinase. Dependendo do ponto de quebra no BCR, o produto da fusão pode ser: M-BCR (maior), m-BCR (menor) ou μBCR (micro). O M-BCR é o mais comum na LMC e resulta em proteína de 210kD (p210BCR-ABL1). O m-BCR, que codifica a p190BCR-ABL1, ocorre em 2/3 das leucemias linfoides agudas e menos frequentemente na LMC, e o μBCR, a p230, raramente observada.

A consequência da proteína de fusão BCR/ABL1 é o crescimento e transformação celular independentes de citocinas, perda da apoptose, alteração na adesão da célula hematopoética à matriz extracelular por aumento da atividade de integrina e instabilidade genômica. A atividade constitutiva da tirosino-quinase no citoplasma causa a fosforilação de substratos de diversas cascatas de transdução de sinais que afetam o crescimento e diferenciação celulares.^{4,5}

Cerca de 95% dos casos de LMC apresentam o Ph, e os demais, Ph e BCR/ABL1 negativos, são classificados como entidade à parte, a LMC atípica.¹

Exames diagnósticos

Hemograma: pacientes na FC apresentam habitualmente anemia, leucocitose e plaquetometria normal ou aumentada.³ O diferencial de leucócitos demonstra aumento de granulócitos em circulação com desvio à esquerda e aumento do número de basófilos. Na FA, o número de blastos situa-se entre 10% e 19%, a basofilia é ≥ 20%, e a contagem de plaquetas <100.000/μL ou >1.000.000/μL. Na CB, a porcentagem de blastos é >20%.

Mielograma: apresenta-se na FC hiperclular devido à intensa proliferação do setor granulocítico, resultando numa relação granulócitos:eritroblastos de cerca de 10 a 20:1 e com maturação preservada. O número de blastos na FC é <5%. O setor megacariocítico se apresenta hiperplasiado. Pode haver eosinofilia. Na FA, a porcentagem de blastos está entre 10% e 19% e pode haver displasia. Na CB há >20% de blastos.

Cariótipo: é o exame de escolha para identificar o cromossomo Ph, que está presente em 90%-95% dos pacientes com critérios compatíveis com LMC. Em <5% dos casos podem-se observar alterações variantes que envolvem dois ou mais cromossomos além do 9 e 22. Tais situações já foram anteriormente detalhadas.⁶ Em outros <5% de casos podem ser observadas alterações cromossômicas adicionais, isto é, duplo Ph, i(17q), trissomia 8 e trissomia 21, dentre outras, que configuram evolução clonal.

FISH: A hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) pode ser usada para detectar o rearranjo BCR/ABL, ao diagnóstico, e tem sido preconizada para as situações nas quais não se

tem metáfases para análise ou com ausência de Ph no cariótipo. Outra vantagem da FISH é que também pode ser feita em amostra de sangue periférico. Graças ao uso de sondas de dupla fusão, diversas situações anormais com perda do sinal extra ou de dupla fusão puderam ser detectadas.^{6,7} Cerca de 9% a 33% dos casos de LMC têm deleção der(9q), fato que confere sobrevida mais curta que aqueles sem tal deleção. Estudo realizado em 120 pacientes com LMC Ph+/BCR/ABL1+ atendidos na Unifesp revelou a presença de deleção no der(9q) ou del 5' ABL em 15% dos casos. Esses pacientes apresentaram sobrevida global e duração da fase crônica menor que os pacientes sem a deleção.⁷

Biópsia de medula óssea (BMO): apresenta-se hiper celular à custa de aumento de neutrófilos e seus precursores. Os megacariócitos são tipicamente menores que o normal e com núcleos hipolobulados. Cerca de 40% dos pacientes apresentam aumento das fibras de reticulina. Na FA pode-se observar proeminente proliferação de megacariócitos pequenos e displásicos juntamente com aumento das fibras de reticulina. Na CB há extensos focos de blastos.¹

Pesquisa do transcrito BCR/ABL1 por RT-PCR está indicada, ao diagnóstico, para <5% de casos em que não se detecta o Ph no cariótipo e, na metade deles, o rearranjo BCR/ABL1 está presente.⁸ Os casos BCR/ABL1 negativos devem ser investigados para outra doença mieloproliferativa. FISH e RT-PCR também têm sido reservados para casos de fibrose medular nos quais não há condições de realização de cariótipo.

A quantificação do transcrito por PCR em tempo real é hoje recomendada para monitoramento do tratamento com antitiroquinase.⁹⁻¹²

Policitemia vera (PV)

É doença neoplásica clonal caracterizada pelo aumento do volume total da massa eritrocitária independentemente da ação dos mecanismos habituais de regulação da eritropoese.

Aspectos clínicos

A PV incide preferencialmente em pacientes na sexta/sétima décadas de vida (0,7 a 2,5:100.000 habitantes/ano), com média de sobrevida, após o diagnóstico, de aproximadamente 15 anos.¹ É mais frequente em homens que em mulheres. Trombose costuma ser a causa mais comum de morte e, na fase tardia da doença, há risco de fibrose medular ou transformação em leucemia aguda.¹

Os sintomas são: cefaleia, pletora, cansaço, tontura e sudorese. Prurido está presente em torno de 40% dos pacientes e é atribuído a aumento de histamina e ao número de mastócitos na pele. Episódios trombóticos (AVC, síndrome de Budd-Chiari, infarto do miocárdio, tromboembolismo pulmonar ou trombose venosa profunda) estão entre as complicações mais comuns, aparecendo em aproximadamente 33% dos pacientes. Sangramentos também são descritos (25%

dos casos). Há aumento da incidência de úlcera péptica.

A doença cursa com três fases: a fase prodrômica ou pré-policitemica, inicial, na qual há apenas eritrocitose discreta ou limitrofe; fase pletórica com a sintomatologia acima descrita; e fase tardia, de esgotamento ou consumo, na qual há fibrose medular e as queixas são de fraqueza, pela anemia, e desconforto abdominal pela esplenomegalia evidente.

Fisiopatologia

A descoberta da mutação adquirida JAK2 V617F, que é a troca da guanina por timidina e que resulta na substituição da valina pela fenilalanina no códon 617 do gene JAK2, permitiu a compreensão da patogênese desse grupo de doenças.¹³ Essa mutação leva à ativação constitutiva de tirosinoquinase e, ainda que tal mecanismo não esteja completamente compreendido, resulta em proliferação e diferenciação celular mieloide.¹³ Outras mutações ativadoras de JAK2 (ex.: éxon 12) também foram descritas, porém são mais raras.¹³

A mutação JAK2 V617F é observada em cerca de 90% dos casos de PV, mas também em cerca de 50% dos casos de MF e TE.^{13,14}

Tabela 3. Critérios para o diagnóstico de PV

Critérios maiores:	
Hb > 18,5g/dL para homens ou 16,5g/dL para mulheres	
Presença da mutação JAKv617F	
Critérios menores:	
BMO hiper celular com panmielose	
Epo sérica baixa	
Formação de colônia eritroide	

Exames diagnósticos

Segundo a OMS, para o diagnóstico de PV há a necessidade do preenchimento de dois critérios maiores e um critério menor ou a presença simultânea de um maior e dois menores, a saber (Tabela 3):¹

Critérios maiores: Hemoglobina > 18,5g/dL para homens, > 16,5g/dL para mulheres ou outras evidências de aumento de massa eritrocitária; presença da mutação JAK2 V617F ou outra funcionalmente similar (ex., éxon 12); Critérios menores: BMO demonstrando hiper celularidade para a idade com panmielose (proliferação proeminente das séries eritroide, granulocítica e megacariocítica); eritropoetina sérica abaixo do valor de normalidade; formação *in vitro* de colônia eritroide endógena

Na prática, a presença de dois critérios maiores permitirá a conclusão diagnóstica em 97% dos casos de PV. Entretanto, para minimizar as consequências de teste molecular falso-positivo, a presença adicional de, pelo menos, um dos três critérios menores será necessária. Alternativamente, a combinação do primeiro critério maior e de dois menores permitirá a inclusão diagnóstica de casos ocasionais de PV verdadeira que podem ser negativos para as mutações JAK2 conhecidas.

Além disso, para o diagnóstico de PV é necessária a

presença de Hb/Ht elevados, ou seja, sem eritrocitose o diagnóstico de PV não é possível.¹³ Assim, casos de provável PV com deficiência de ferro podem oferecer alguma confusão na sua interpretação. A reposição de ferro pode eventualmente não ser prudente, pois a elevação substancial da hemoglobina oferece risco ao paciente.^{1,13} Houve alguma controvérsia quanto aos critérios estabelecidos pela OMS, tais como aceitando Hb/Ht elevados como substitutos da dosagem da massa eritrocitária *per se*.¹⁴ Ao aplicarem esses critérios a 77 pacientes com PV e 66 com aparente eritrocitose, Johanson *et al.* comprovam a detecção de eritrocitose absoluta em apenas 35% dos homens e em 63% das mulheres com PV, embora 14% de homens e 35% de mulheres sem eritrocitose apresentavam-na pela análise da massa eritrocitária e do volume plasmático.¹⁵ Portanto, também são aceitos como critérios quando Hb e Ht atingem o 99º percentil do valor de referência normal do método específico para idade, sexo e altitude do local de residência; ou Hb >17g/dL para homens e >15g/dL para mulheres se associada a um aumento de Hb documentado e sustentado >2g/dL em relação ao nível basal do indivíduo e que não possa ser atribuído à correção da deficiência de ferro; ou elevada massa eritrocitária >25% que o valor médio previsto.

Para o diagnóstico de fase fibrótica pós-policitemica são necessários: 1) diagnóstico prévio documentado de PV, segundo critérios da OMS, e 2) fibrose na medula grau 2-3 (na escala de 0-3) ou 3-4 (na escala de 0-4), associados a dois outros dentre os que seguem: 1. anemia ou perda sustentada por flebotomia ou uso de medicação citorrredutora para a eritrocitose; 2. quadro periférico de leucoeritroblastose; 3. esplenomegalia progressiva definida tanto por baço palpável a mais de 5 cm do RCE ou aparecimento de baço palpável; 4. desenvolvimento de mais de um dos três sintomas constitucionais: perda de >10% do peso nos últimos seis meses; sudorese noturna e febre >37,5°C, sem causa aparente.

Hemograma: apresenta aumento do número de hemácias, Hb e Ht; leucocitose pode estar presente com desvio até mielócitos; basofilia, eosinofilia e monocitose também podem ser observadas. As plaquetas podem estar aumentadas em número, geralmente entre 500.000 e 1.000.000/uL.

Mileograma e biópsia de medula óssea: geralmente hiperclular com hiperplasia de todos os elementos (ainda que a ausência de hiperclularidade não exclua o diagnóstico). Observam-se atipias de megacariócitos, com variação de tamanho e predominando elementos grandes com núcleos hiperlobulados. Pode haver discreto aumento de fibras reticulínicas, mas fibrose só ocorre em casos que evoluem para fase de esgotamento. A coloração Perls não demonstra depósito de hemossiderina na biópsia.¹⁶

Cariótipo: alterações cromossômicas são observadas em cerca de 10% a 30% dos casos, ao diagnóstico, e as mais comuns são: +8, +9, del(20q), ganho de material no 1q, del(1q) e del(13q). Com o progredir da doença, a taxa de anormalidade citogenética atinge algo em torno de 80%, particularmente

nos casos em fase fibrótica pós-policitemica e chega a quase 100% nos casos transformados em leucemia aguda.

Pesquisa da mutação JAK2 V617F e outras: pesquisa da presença de mutação V617F e JAK2 éxon 12 por meio de PCR alelo específico e sequenciamento para eventual detecção de outras mutações.

Pacientes com trombose venosa abdominal idiopática devem ser submetidos à pesquisa da mutação JAK2, pois podem progredir para PV. Entretanto, apenas a presença da mutação nesses casos não conclui como PV, mas como doença mieloproliferativa não classificada.^{17,18}

Diagnóstico diferencial

Na policitemia secundária (PS) há aumento do número de eritrócitos circulantes e da massa eritrocitária em resposta à estimulação da medula óssea pela eritropoetina (Epo) ou o funcionamento anormal de receptor mutante de Epo. Ao contrário da PV, esses pacientes não apresentam aumento da leucometria, dos níveis plaquetários ou esplenomegalia. As PS estão associadas a distúrbios cardiopulmonares, doença pulmonar obstrutiva crônica, síndrome de apneia do sono, policitemia do fumante, policitemia renal dos tumores produtores de eritropoetina (EPO), doença renal policística, policitemia das altitudes e grandes miomas, dentre outras etiologias. Estudos complementares como gasometria arterial, ultrassonografia de abdômen, estudo do sono e avaliação ginecológica, dentre outros, podem ajudar no diagnóstico diferencial.^{19,20}

Mielofibrose primária (MF)

É doença clonal originada da transformação neoplásica de célula hematopoética pluripotente (célula-tronco) acompanhada de alterações reacionais intensas do estroma medular com fibrose colágena, osteosclerose e angiogênese.

Aspectos clínicos

Estima-se uma incidência de 0,5 a 1,5 casos:100.000 habitantes/ano. Um quarto dos pacientes é assintomático e o diagnóstico é feito pela esplenomegalia ou por achado fortuito. Os demais apresentam sintomas secundários à anemia (fraqueza, cansaço, palpitação e dispneia), esplenomegalia (saciedade, desconforto ou dor em quadrante superior esquerdo do abdômen), estado hipermetabólico (perda de peso, sudorese noturna ou febre), eritropoese extramedular, sangramentos (petéquias, hemorragia em trato gastrointestinal), alterações ósseas (dor nas juntas ou osses por osteoesclerose), hipertensão portal (ascite, varizes de esôfago ou gástricas, sangramento de TGI, encefalopatia hepática, trombose de veia porta ou hepática) e anormalidades imunológicas (imunocomplexos circulantes ou autoanticorpos).

A doença tem duas fases: fase pré-fibrótica, inicial, com medula óssea hiperclular que evolui até a quase substituição do tecido hematopoético por fibras reticulínicas (fase fibrótica). A sobrevida varia de 3 a 10 anos. As causas de

óbito são: transformação leucêmica (em 5% a 10% dos casos), infecção, sangramento, trombose, falência cardíaca, falência hepática, aparecimento de outra neoplasia, falência respiratória, e hipertensão portal.²¹

Fisiopatologia

Na MF, a fibrose é devida à proliferação clonal de célula hematopoética que leva à hiperplasia de megacariócitos e de monócitos que liberam fator de crescimento fibrogênico. A mutação JAK2 V617F tem sido detectada em cerca de 50% dos pacientes, os quais apresentam leucometria elevada e neutrofilia em relação àqueles JAK2 V617F negativos, menor necessidade transfusional (provavelmente a mutação protege de anemia severa), mas doença clinicamente mais agressiva representada por pior sobrevida. A JAK2 V617F está presente de forma homocigota em 13% dos casos, situação em que se associa a anomalias cromossômicas desfavoráveis que podem ter função na biogênese da doença. Mutação no domínio transmembrana do receptor de trombopoetina (cMPL) foi observada em 9% dos pacientes JAK2 V617F negativos (MPLW515L ou MPLW515K), mas também em positivos. Assim, a ideia corrente é de que mutações MPL favorecem o desenvolvimento de trombocitose enquanto a JAK2 V617F predis põe à eritrocitose. No entanto, é difícil culpar cada uma das mutações como a única causa da MF, mas talvez a doença seja o acúmulo de múltiplas lesões genéticas e de eventos epigenéticos.²²

Exames diagnósticos

É necessário o encontro de pelo menos três critérios maiores e dois menores para a confirmação diagnóstica de MF (Tabela 4).

Critérios maiores: 1. presença de proliferação megacariocítica e atipia, geralmente acompanhada de fibrose reticulínica ou colagênica ou, na ausência de fibrose significativa, as alterações megacariocíticas devem se acompanhar de

Tabela 4. Critérios diagnósticos de mielofibrose

Critérios maiores:

1. proliferação megacariocítica com atipia, fibrose reticulínica ou colagênica ou, na ausência de fibrose significativa, presença de alterações megacariocíticas com aumento da celularidade da medula à custa de proliferação granulocítica com diminuição da eritropoese (fase pré-fibrótica)

2. ausência de critérios da OMS para PV, LMC BCR/ABL1+, síndrome mielodisplásica ou outra neoplasia

3. mutação JAK2V617F ou outro marcador clonal (MPLW515K/L) ou, na ausência de marcador clonal, nenhuma evidência de que a fibrose medular ou demais alterações sejam secundárias a infecção, inflamação, tricocitoleucemia, neoplasia linfóide, metástase ou mielopatias tóxicas

Critérios menores:

1. leucoeritroblastose
2. aumento de DHL sérico
3. anemia
4. esplenomegalia

aumentada celularidade da medula à custa de proliferação granulocítica com diminuição da eritropoese (fase pré-fibrótica); 2. ausência de critérios da OMS para PV, LMC BCR/ABL1+, síndrome mielodisplásica ou outra neoplasia; 3. presença da mutação JAK2 V617F ou outro marcador clonal (MPLW515K/L) ou, na ausência de marcador clonal, nenhuma evidência de que a fibrose medular ou demais alterações sejam secundárias a infecção, inflamação, tricocitoleucemia, neoplasia linfóide, metástase ou mielopatias tóxicas.

Critérios menores: 1. leucoeritroblastose; 2. aumento de DHL sérico; 3. anemia; 4. esplenomegalia.

Os exames necessários para o diagnóstico são:

Hemograma: que geralmente apresenta anemia (Hb < 10g/dL em 60% dos casos), normocrômica e normocítica, e em 5% das vezes, hipocrômica e microcítica por deficiência de ferro associada. Na morfologia das hemácias observam-se poiquilocitose, dacriócitos e eritroblastos em circulação. Leucopenia está presente em 1/4 dos casos, enquanto a leucocitose em 1/3. A contagem diferencial de leucócitos pode apresentar desvio para formas mais jovens até blastos e anomalia de pseudo-Pelger-Huet. Tanto trombocitose como trombocitopenia podem ser observados, com presença de macrotrombócitos.²³

Mielograma e biópsia de medula óssea: na fase pré-fibrótica pode apresentar hiperplasia de hiperplasia dos setores mielóides. Na fase fibrótica, o aspirado é habitualmente seco.^{1,23} Os megacariócitos são anormais e atípicos (pleomórficos, grandes, mas também pequenos) formando agrupamentos adjacentes aos seios e às trabéculas ósseas. A fibrose reticulínica é mínima no início. Na fase fibrótica há fibrose reticulínica ou colagênica. Osteoesclerose pode estar presente.^{1,23}

Cariótipo: Pode haver maior dificuldade para a obtenção de amostra para análise devido à fibrose da medula. Apresenta-se alterado em 60% dos casos, com del(13q), del(20q), trissomia parcial 1q, além de +8 e +9. É exame importante para diferenciar de LMC (que apresenta o cromossomo Philadelphia) e de síndrome mielodisplásica (alterações envolvendo 3q21q26 ou del(5q)). Casos que apresentam alterações envolvendo o cromossomo 5 ou 7 são relacionados ao uso prévio de agentes quimioterápicos para tratamento de doença mieloproliferativa.²⁴

Pesquisa da mutação JAK2 V617F e outras: podem ser realizadas em amostra de sangue periférico por método de PCR seguido ou não de sequenciamento.

Diagnóstico diferencial

Fibrose é um fenômeno que pode ocorrer em outras doenças mieloproliferativas crônicas, tais como LMC, TE e PV, ou, ainda, tricocitoleucemia, síndrome mielodisplásica com fibrose, síndrome mielodisplásica/mieloproliferativa, neoplasia mieloproliferativa crônica inclassificável, leucemia megacariocítica aguda, leucemias agudas com componente de fibrose e outras neoplasias não hematológicas com

metástase para a medula. Condições clínicas que podem apresentar fibrose da medula óssea como eventos secundários são as doenças granulomatosas crônicas (tuberculose e histoplasmose), inflamatórias, lúpus eritematoso sistêmico, hipertensão pulmonar e aquelas relacionadas ao metabolismo do paratormônio (hiperparatireoidismo e hipoparatiroidismo). Os aspectos clínicos e laboratoriais são distintos da MF e devem ser levados em consideração na elucidação diagnóstica.

Trombocitemia essencial (TE)

Caracteriza-se pelo elevado número de plaquetas com hiperplasia megacariocítica, embora outros setores medulares também estejam afetados qualitativa ou quantitativamente.

Aspectos clínicos

A incidência é de 1 a 2 casos/100.000 habitantes/ano. A idade mediana dos pacientes, ao diagnóstico, é de 60 anos. Um terço a um quarto dos pacientes são sintomáticos, ao diagnóstico, e 25% a 48% apresentam esplenomegalia. Sintomas vasomotores, caracterizados por cefaleia, síncope, dor torácica atípica, distúrbios visuais, livedo reticular e eritromelalgia (queimação de mãos ou pés associada a rubor e calor) são observados em cerca de 40% dos casos.

Sangramento, eventos trombóticos e complicações vasculares são as principais causas de morbimortalidade na TE. Trombocitose extrema é associada a maior risco de sangramento gastrointestinal.

Os fenômenos hemorrágicos estão presentes em 26%.

A maioria dos eventos trombóticos é a trombose venosa profunda e embolia pulmonar. A trombose de veia hepática ou porta (síndrome de Budd-Chiari) ocorre particularmente em pacientes mais jovens.

A taxa de transformação em PV, MF e LMA é de 2,7%, 4% e 1,4%, respectivamente. Também pode haver transformação em síndrome mielodisplásica. A transformação em leucemia pode demorar de 1,7 a 16 anos. A maioria dos pacientes transformados recebeu terapia citorrredutora prévia, no entanto, também pode ocorrer na ausência de tratamento, sugerindo que o evento é uma seqüela natural da doença, resultado, provavelmente, da sua biologia e do tempo de diagnóstico e não da terapia prévia. Em relação à fase fibrótica pós-trombocitêmica, as características clínicas são idênticas à mielofibrose primária.

Fisiopatologia

Estudos de clonalidade demonstraram que cerca de 55% das TE são policlonais (6 de 10 monoclonais e 2 de 13 policlonais apresentaram trombose, $p < 0,05$). A relação entre trombocitose e trombopoetina (TPO) também não está bem definida, e a TPO sérica está normal ou discretamente aumentada. Acredita-se que progenitores de megacariócitos possam ser hipersensíveis à TPO, embora haja relatos de

Tabela 5. Critérios para o diagnóstico de TE

1. Plaquetometria $>450.000/\mu\text{L}$, sustentada
2. BMO com proliferação da linhagem megacariocítica com megacariócitos maduros aumentados em número e tamanho. Ausência de aumento significativo ou desvio à esquerda granulopose neutrofílica ou eritropose
3. ausência de critérios OMS para PV, MF, LMC BCR/ABL1+, síndrome mielodisplásica [ausência de del(5q), t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21;q26)] ou outra neoplasia mieloide
4. presença da mutação JAKV617F ou outras

crescimento autônomo de culturas de megacariócitos de pacientes com TE, questionando-se envolvimento de vias de transdução de sinais intracelulares. A mutação de ponto somática, adquirida, JAK2V617F está presente em casos de TE primária, mas jamais observada em casos de doença secundária.

Exames diagnósticos

Há necessidade de preenchimento dos quatro critérios diagnósticos da classificação da OMS (Tabela 5):^{1,23,25}

1. Plaquetometria $>450.000/\mu\text{L}$, sustentada;
2. BMO mostrando proliferação principalmente da linhagem megacariocítica com megacariócitos maduros aumentados em número e tamanho. Ausência de aumento significativo ou desvio à esquerda granulopose neutrofílica ou eritropose;
3. ausência de critérios da OMS para PV, MF, LMC BCR/ABL1+, síndrome mielodisplásica [ausência de del(5q), t(3;3)(q21;q26), inv(3)(q21;q26)] ou outra neoplasia mieloide;
4. presença da mutação JAK V617F ou outras.

Os critérios para o diagnóstico de mielofibrose pós-trombocitêmica são: 1. diagnóstico prévio documentado de TE, conforme os critérios da OMS; 2. fibrose medular grau 2-3 (na escala de 0-3) ou 3-4 (na escala de 0-4); associados a dois outros dentre os seguintes critérios: 1. anemia ou diminuição em $>2\text{g/dL}$ da Hb basal; 2. quadro periférico de leucoeritroblastose; 3. aumento da esplenomegalia definida tanto como aumento do baço palpável para além de 5cm do RCE ou aparecimento de baço palpável; 4. DHL aumentado; e 5. aparecimento de mais de um dos seguintes sintomas constitucionais: perda de $>10\%$ do peso nos últimos seis meses; sudorese noturna, febre sem causa aparente.

Entre os exames diagnósticos, o cariótipo deve sempre ser feito para investigar a presença do cromossomo Philadelphia, que identifica a doença como LMC; portanto, em primeiro lugar útil no diagnóstico diferencial. Não há alteração citogenética típica na TE, e o índice de alterações é de cerca de 5%. As mais frequentemente encontradas são trissomia do 8 e 9, além de deleção 13q e 20q. Anormalidades tais como del(5q), t(3;3)(q21;q26,2) e inv(3)(q21q26,2), que são associadas à trombocitose, são características de síndrome mielodisplásica e de leucemia mieloide aguda.

Diagnóstico diferencial

Processos transitórios que podem levar à trombocitose reacional incluem: hemorragia aguda, recuperação de trombocitopenia, inflamação aguda, infecção, resposta a exercício e reações a medicamentos. Processos crônicos que também induzem a trombocitose são: deficiência de ferro, anemia hemolítica, estado asplênico, doença inflamatória crônica, doenças infecciosas crônicas e neoplasia maligna.

Leucemia Neutrofilica Crônica (LNC)

É doença mieloproliferativa rara, caracterizada por neutrofilia periférica sustentada com medula hiperclular e hepatoesplenomegalia.¹

Aspectos clínicos

A incidência, assim como a etiologia, são desconhecidas. Afeta indivíduos idosos. A esplenomegalia é característica importante e as queixas habitualmente derivam dessa anormalidade. Hepatomegalia também é frequente. Sangramento mucoso ou de trato gastrointestinal pode ser observado. É doença de curso clínico lentamente progressivo.¹

Critérios diagnósticos

1. leucocitose no sangue periférico >25.000/μL, com >80% da contagem diferencial composta por segmentados e bastões, <10% de granulócitos imaturos (promielócitos, mielócitos e metamielócitos) e <1% de mieloblastos;
2. biópsia de medula óssea hiperclular com aumento percentual e absoluto de granulócitos, mieloblastos <5% das células nucleadas da medula, padrão normal de maturação de neutrófilos e megacariócitos normais ou com desvio à esquerda;
3. hepatoesplenomegalia;
4. ausência de causa fisiológica para a neutrofilia (infecção, inflamação, tumores) ou, se presente, demonstração de clonalidade mioide por meio de citogenética ou estudos moleculares;
5. ausência de Ph ou rearranjo BCR/ABL1;
6. ausência de rearranjo PDGFRα, PDGFRβ ou FGFR1;
7. ausência de evidência de PV, MF ou TE;
8. ausência de evidência de síndrome mielodisplásica ou mielodisplásica/mieloproliferativa (sem displasia granulocítica, sem alterações mielodisplásicas das demais linhagens e monócitos <1.000/μL).

Exames diagnósticos

Hemograma: apresenta leucocitose (>25.000/uL), com predomínio de neutrófilos segmentados e bastões, granulócitos imaturos perfazem <10% das células e mieloblastos <1%.

Mielograma e BMO: hiperclular com aumento de granulócitos, blastos <5% e padrão de maturação normal e raramente se observa fibrose discreta.¹

Cariótipo: apresenta-se normal na maioria dos casos. Deve haver ausência do Ph. Raros casos podem apresentar alterações comuns às demais NMP, como, +8, +9, del(20q) e del(11q).¹

Leucemia eosinofílica crônica, não especificada (LEC-NE)

Na LEC há a proliferação autônoma e clonal de precursores eosinofílicos, resultando em mieloproliferação persistente na medula óssea, sangue periférico e tecidos. A lesão orgânica ocorre como resultante da infiltração leucêmica ou da liberação de citocinas, enzimas ou outras proteínas pelos eosinófilos.¹

Nesta categoria estão excluídos os pacientes com LMC BCR/ABL1+ e aqueles portadores dos rearranjos PDGFRα, PDGFRβ ou FGFR1.

A LEC é mais comum em homens com relação de nove homens para cada mulher acometida, e o pico de incidência é entre 20 e 50 anos. Raros casos foram observados em lactentes e crianças.²⁶

Os critérios diagnósticos para a LEC são:¹

1. eosinófilos ≥ 1500/μL no sangue periférico;
2. ausência do cromossomo Philadelphia, BCR/ABL1+ ou outras NMP (PV, MF e TE) e síndrome mielodisplásica/mieloproliferativa;
3. ausência de t(5;12)(q31-35;p13) ou outro rearranjo PDGFRβ;
4. ausência de rearranjo FIP1L1/PDGFRα ou outros PDGFRα;
5. ausência de rearranjo FGFR1
6. a contagem de blastos no sangue periférico e na medula óssea é <20% e não há inv(16)(p13;q22) ou t(16;16)(p13;q22) ou outra característica diagnóstica de LMA;
7. há anormalidade clonal citogenética ou molecular ou blastos >2% no SP ou >5% na MO.

Aspectos clínicos

Cerca de 10% dos pacientes são diagnosticados ao acaso, pois são assintomáticos. Nos demais, sintomas como febre, fadiga, tosse, angioedema, dores musculares, prurido e diarreia são frequentes.¹ A anemia, trombocitopenia, ulceração de mucosas, fibrose endomiocárdica e esplenomegalia também são comuns.

O achado clínico mais importante se relaciona à endomiocardiofibrose com cardiomegalia restritiva, que é irreversível. A doença cardíaca desencadeada pela infiltração de eosinófilos no endocárdio tem um estágio necrótico inicial, com duração média de cinco semanas. Nessa fase, a doença não é reconhecida clinicamente e, em geral, passa despercebida na ecocardiografia e na angiografia porque ainda não ocorreu espessamento ventricular. Por vezes, apenas a biópsia endomiocárdica do ventrículo direito permite o diagnóstico nessa fase. Segue-se um segundo estágio, o trombótico, com

duração média de dez meses, com formação de trombo mural com potencial embolização para o cérebro. Por fim, o terceiro estágio, fibrótico tardio, após dois anos, com endomiocardiofibrose, que resulta em regurgitação mitral e/ou tricúspide, no qual a substituição valvar pode ser necessária. A clínica de dispneia, dor torácica, insuficiência cardíaca congestiva e cardiomegalia é evidente, assim como a inversão da onda T no eletrocardiograma.

Neuropatia periférica, disfunção de sistema nervoso central e sintomas pulmonares também podem estar presentes.¹

Exames diagnósticos

A investigação de paciente com hipereosinofilia deve seguir uma linha de raciocínio lógica, para que sejam afastadas as causas de eosinofilia reacional e as NMP com rearranjos acima descritos, além de evidência de clonalidade nos eosinófilos (fenômeno difícil de ser comprovado) ou aumento de blastos no SP ou MO.

Hemograma: eosinofilia > 1500/uL sustentada. Quanto à análise citomorfológica, os eosinófilos na LEC são geralmente células maduras, com menor número de mielócitos e promielócitos de permeio. Há heterogeneidade morfológica, com granulação esparsa e áreas claras no citoplasma, vacuolização citoplasmática, hiper ou hiposegmentação nuclear e tamanho aumentado, mas são alterações indistinguíveis entre casos reacionais e neoplásicos. Presença de <20% de blastos.

Mielograma e BMO: medula hiper celular devido à proliferação eosinofílica; eritropoese e megacariocitopose são geralmente normais, e fibrose pode ser observada em alguns casos.

Cariótipo: deve ser realizado sistematicamente em amostra de medula óssea, pois permite a detecção de alterações clonais observadas nessa doença ou outras anomalias que direcionam para o diagnóstico, como, por exemplo, a presença de cromossomo Ph, que indica tratar-se de LMC; t(5;12), que direciona para LMMC com eosinofilia, etc.

FISH e/ou RT-PCR: permitem a detecção do rearranjo FIP1L1/PDGFR α , PDGFR β e FGFR1, que referem esses casos para outros subtipos ao final discutidos.

Diagnóstico diferencial

O aumento significativo (>5%) e duradouro dos eosinófilos em circulação é geralmente devido a doenças parasitárias (eosinofilia severa), alérgicas (eosinofilia leve a moderada) e inflamatórias, ou a situações mais raras, clonais ou idiopáticas, que cursam com danos severos aos tecidos em consequência da infiltração eosinofílica.^{27,28}

Há que se distinguir a LEC-NE de outras doenças clonais hematopoéticas nas quais a eosinofilia faz parte do clone neoplásico, como LMC, PV, TE, MF, síndromes mielodisplásicas, LMA (mielomonocítica com inv(16) ou rearranjo CBF β /MYH11 e com maturação com t(8;21) ou rearranjo ETO/

AML1).¹ A LEC-NE também deve ser diferenciada das proliferações mieloides e linfoides com eosinofilia com FIP1L1/PDGFR α , PDGFR β e FGFR1, assim como deve ser distinguida das situações que cursam com população clonal de célula T com fenótipo aberrante e produção anormal de citocinas ou G-CSF.^{1,29}

Uma vez afastadas causas reacionais e clonais para a hipereosinofilia, depara-se com uma situação ainda pouco compreendida e à qual se denomina de síndrome hipereosinofílica idiopática (SHE).¹

A SHE é um grupo heterogêneo de doenças caracterizado por eosinofilia no sangue periférico ou em tecidos, resultando em lesão orgânica final. Porém, o que a diferencia da LEC é que não há clonalidade comprovada e não há aumento de blastos. Para o diagnóstico de SHE, os seguintes critérios devem ser preenchidos: 1. eosinófilos \geq 1500// μ L no sangue periférico por mais de seis meses; 2. exclusão de causas reacionais, ausência de clonalidade; 3. exclusão de LMA, NMP, SMD, SMD/MP; 4. ausência de população de células T imunofenotipicamente anômalas, produtoras de citocinas;^{1,30,31} 5. evidência de lesão orgânica ocasionada pela eosinofilia.

Assim, só se poderá denominar SHE quando os critérios 1 a 4 estiverem presentes; no entanto, se não houver lesão tissular, denominar-se-á hipereosinofilia idiopática.

A apresentação clínica é bastante variável, com pacientes totalmente assintomáticos, não necessitando de qualquer tratamento e com longa sobrevida, enquanto outros apresentam doença rapidamente progressiva e fatal, resultante de insuficiência cardíaca congestiva ou de transformação leucêmica.

Os principais órgãos-alvo são: a pele, coração e sistema nervoso central com mais de 50% dos pacientes apresentando complicações clínicas em cada um desses sítios. A infiltração de eosinófilos no pulmão, fígado, baço, sistema digestório, articulações e rins ocorre em frequência variável, mas, a rigor, qualquer órgão ou sistema pode ser acometido.

Abstract

Chronic myeloproliferative disorders, currently called myeloproliferative neoplasms (MPN), according to the 4th edition of the World Health Organization (WHO) classification are clonal diseases of hematopoietic stem cells, in which there is increased proliferation of the myeloid series (granulocytic, erythrocytic, megakaryocytic series or mast cells) with effective maturation. The progression of all is characterized by marrow fibrosis or leukemic transformation. According to the WHO classification, the MPNs include: chronic myeloid leukemia (CML), polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), idiopathic myelofibrosis (IM), chronic neutrophilic leukemia (CNL), chronic eosinophilic leukemia not otherwise categorized (CEL-NC), mastocytosis (M) and myeloproliferative neoplasm unclassifiable (MPNU). It is worth noting that the molecular basis of CML (BCR/ABL1), as well as PV,

ET, IM (JAK2V617F and exon 12, MPL W515L/K) and M (KITD816V) have been identified and have, in common, constitutive activation of tyrosine kinase due to acquired hematopoietic stem cell defects. The JAK2V617F mutation is observed in around 90% of PV cases and in around 50-60% of IM and ET leading to the question why a single molecular lesion induces three different clinical manifestations. There is already evidence that additional genetic and epigenetic events contribute to the pathogenesis, including MPL W515L/K mutation. Some clinical aspects, the pathophysiology and diagnostic criteria of MPNs are presented in this paper. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 2010;32(4):308-316.

Key words: Myeloproliferative disorders; chronic myeloid, leukemia, polycythemia vera; thrombocytopenia, essential; primary myelofibrosis; mutation.

Referências Bibliográficas

- Serdlow, SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, Thiele J, Vardiman JW (2008). World Health Organization Classifications of Tumours. of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press, Lyon, France.
- Deininger MW, Druker BJ. Specific targeted therapy of chronic myelogenous leukemia with imatinib. *Pharmacol Rev.* 2003; 55(3):401-23.
- Campos MG, Arantes AM, Oliveira JSR, Chauffaille ML. Chronic myeloid leukemia: a disease of youth in Brazil. *Leuk Res* 2010 34(4):542-4.
- Sawyers CL. Chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med.* 1999 29;340(17):1330-40.
- Van Etten RA. CML Haematology education: the education program EHA. 2008;2:1-7.
- Chauffaille MLLF. Análise citogenética e FISH no monitoramento da LMC em tratamento com inibidores da tirosinoquinase. *Rev Bras Hemato Hemoter* 2008;30(supl I):13-9.
- Vaz de Campos MG, Montesano FT, Rodrigues MM, Chauffaille Mde L. Clinical implications of der(9q) deletions detected through dual-fusion fluorescence in situ hybridization in patients with chronic myeloid leukemia. *Cancer Genet Cytogenet.* 2007;178(1):49-56.
- Ou J, Vergilio JA, Bagg A. Molecular diagnosis and monitoring in the clinical management of patients with chronic myelogenous leukemia treated with tyrosine kinase inhibitors. *Am J Hematol* 2008;83(4):296-302.
- Hehlmann R, Hochhaus A, Baccarani M; European LeukemiaNet. Chronic myeloid leukemia. *Lancet.* 2007;370(9584):342-50.
- Kantarjian HM, O'Brien S, Cortes J, Giles FJ, Rios MB, Shan J, *et al.* Imatinib mesylate therapy improves survival in patients with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive chronic myelogenous leukemia in the chronic phase: comparison with historic data. *Cancer.* 2003;98(12):2636-42.
- Hahn EA, Glendenning GA, Sorensen MV, Hudgens SA, Druker BJ, Guilhot F, *et al*; IRIS Investigators. Quality of life in patients with newly diagnosed chronic phase chronic myeloid leukemia on imatinib versus interferon alfa plus low-dose cytarabine: results from the IRIS Study. *J Clin Oncol.* 2003;21(11):2138-46.
- Goldman JM. How I treat myeloid leukemia in the imatinib era. *Blood.* 2007;110(8):2828-38.
- Levine RL, Gilliland DG. Myeloproliferative disorders. *Blood.* 2008; 112(6):2190-8.
- Spivak JL, Silver RT. The revised World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytosis, and primary myelofibrosis: an alternative proposal. *Blood.* 2008;112(2):231-9.
- Johansson, PL, Safai-Kutti S, Kutti J. An elevated venous haemoglobin concentration cannot be used as a surrogate marker for absolute erythrocytosis: a study of patients with polycythemia vera and apparent polycythemia. *Br J Haematol.* 2005;129(5):701-5.
- Orazi A. Histopathology in the diagnosis and classification of acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndromes, and myelodysplastic/myeloproliferative diseases. *Pathobiology.* 2007; 74(2):97-114.
- McMahon C, Abu-Elmagd K, Bontempo FA, Kant JA, Swerdlow SH. JAK2V617F mutation in patients with catastrophic intra-abdominal thromboses. *Am J Clin Pathol.* 2007;127(5):736-43.
- Finazzi G & Barbui T. How I treat patients with polycythemia vera. *Blood.* 2007;109:5104-11.
- LevGur M, Levie MD. The myomatous erythrocytosis syndrome: a review. *Obstet Gynecol.* 1995;86(6):1026-30.
- Skoda R. The genetic basis of myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007:1-10.
- Tefferi A, Gilliland G. Classification of chronic myeloid disorders: From Dameshek towards a semi-molecular system. *Best Pract Res Clin Haem.* 2006;19(3):365-85.
- Hoffman R, Rondelli D. Biology and treatment of primary myelofibrosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007:346-54.
- Tefferi A, Thiele J, Orazi A, Kvasnicka HM, Barbui T, Hanson CA, *et al.* Proposals and rationale for revision of the World Health Organization diagnostic criteria for polycythemia vera, essential thrombocytopenia, and primary myelofibrosis: recommendations from an ad hoc international expert panel. *Blood.* 2007;110(4): 1092-7.
- Mesa RA, Li CY, Ketterling RP, Schroeder GS, Knudson RA, Tefferi A. Leukemic transformation in myelofibrosis with myeloid metaplasia: a single-institution experience with 91 cases. *Blood.* 2005;105(3):973-77.
- Mesa R. Navigating the evolving paradigms in the diagnosis and treatment of myeloproliferative disorders. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2007:355-62.
- Gotlib J, Colls J, Malone JM, Schrier SL, Gilliland DG, Coutré SE. The FIP1L1-PDGFRa fusion tyrosine kinase in hypereosinophilic syndrome and chronic eosinophilic leukemia: implications for diagnosis, classification and management. *Blood.* 2004;103(8): 2879-91.
- Coussinier-Paris P. Étude de l'activation du polynucléaire eosinophile. Apport de methodologies classiques et récentes à la caracterisation d'une cellule complexe. *La Presse Médicale.* 2006;35(1p2):125-34.
- Schwartz RS. The hypereosinophilic syndrome and the biology of cancer. *N Engl J Med.* 2003;348(13):1199-200.
- Tefferi A, Patnaik MM, Pardanani A. Eosinophilia: secondary, clonal and idiopathic. *Br J Haematol.* 2006;133(5):468-92.
- Roufosse F, Goldman M, Cogan E. Hypereosinophilic syndrome: lymphoproliferativa and myeloproliferative variants. *Sem in resp and critical care med.* 2006;27(3):158-70.
- Fletcher S, Bain B. Diagnosis and treatment of hypereosinophilic syndromes. *Curr Opin Hematol.* 2007;14(1):37-42.

Avaliação: Editor e dois revisores externos
Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Recebido: 07/07/2009
Aceito após modificações: 11/09/2009