

Relato de Caso

Leucemia mielóide aguda Ph1-positivo *de novo* ou crise blástica de leucemia mielóide crônica? Análise molecular e evolução clínica de um caso

G.W.B. COLLEONI, M. SATAKE, C.L. BOROVIK, J. KERBAUY, M. YAMAMOTO

Serviço de Hematologia Clínica do Hospital do Servidor Público Estadual "Francisco Morato de Oliveira" (HSPE), São Paulo, SP.

RESUMO - Os autores relatam um caso de leucemia mielóide aguda (LMA) que apresentava, ao diagnóstico, basofilia no sangue periférico e cariótipo com presença do cromossomo Filadélfia (Ph1). Após um ano de tratamento com quimioterapia intensiva e em fase de remissão clínica e hematológica, a análise molecular pela técnica da reação em cadeia da polimerase-transcriptase reversa (RT-PCR) revelou presença de doença residual (rearranjo b2-a2). A seguir, o paciente apresentou primeira recidiva como LMA e, após a re-

missão, evoluiu com quadro hematológico sugestivo de leucemia mielóide crônica (LMC) em fase crônica. Após dez meses, apresentou nova recidiva da LMA. Os autores discutem a dificuldade do diagnóstico diferencial entre LMA Ph1-positivo *de novo* e crise blástica mielóide como primeira manifestação clínica da LMC, baseados nos aspectos clínicos e moleculares.

UNITERMOS: Leucemia mielóide aguda. Cromossomo Filadélfia. Rearranjo bcr-abl.

INTRODUÇÃO

A leucemia mielóide crônica (LMC) foi a primeira doença neoplásica associada a alteração cromossômica específica, conhecida como cromossomo Filadélfia (Ph1)¹. Em 1973, Rowley² descreveu que o cromossomo Ph1, ou 22q-, resultava da translocação recíproca e balanceada entre os cromossomos 9 e 22. A resultante molecular dessa translocação é a formação de um gene híbrido bcr-abl, envolvendo o proto-oncogene c-abl do cromossomo 9 e a região bcr (ou M-BCR) do cromossomo 22³. A LMC apresenta curso trifásico: fase crônica, com duração média de 3,5 anos, fase acelerada e crise blástica (linfóide ou mielóide), esta última pouco responsiva à quimioterapia convencional⁴.

A presença do cromossomo Ph1 em pacientes com LMA é fenômeno raro, sendo descrita em apenas 2% dos casos⁵. Em geral, estão associados aos subtipos FAB M1 e M2^{6,7}.

Na LMA, podem ocorrer dois tipos de rearranjo bcr-abl: o primeiro com envolvimento da região M-BCR e idêntico ao encontrado na LMC, podendo ser do tipo b3-a2 ou b2-a2 (com ou sem o exon b3), ambos levando à expressão da proteína p210, com intensa atividade tirosina quinase; o segundo envolvendo o primeiro intron do gene BCR ou região m-BCR, com expressão da p190⁵. Os rearranjos que codificam p210 tornam a LMA indistinguível da

LMC em crise blástica mielóide, enquanto a expressão da p190 identifica a verdadeira LMA, também chamada LMA *de novo*⁵.

RELATO DO CASO

J.L.F., masculino, 39 anos, negro, solteiro, escritor, natural e procedente de Piquete (São Paulo), encaminhado ao Hospital do Servidor Público Estadual em maio de 1993 com história de fraqueza, vômitos pós-alimentares, dor em cólica no hipocôndrio esquerdo e emagrecimento de 13kg nos últimos dois meses. Ao exame físico apresentava-se em regular estado geral, descorado +++/++++, anictérico, febril, ausência de adenomegalia periférica, visceromegalia ou sufusões hemorrágicas em pele e mucosas. O fundo de olho demonstrou presença de áreas de hemorragia retiniana. O hemograma apresentava: Hb: 6,1g/dL, Htc: 18%, GB: 528.000/mm³ (com 90% de blastos, 3% de bastonetes, 4% de segmentados, 1% de basófilos e 2% de linfócitos), plaquetas: 122.000/mm³. O aspirado de medula óssea foi seco, sendo feito o diagnóstico de LMA pelo sangue periférico. A citocímica revelou positividade à peroxidase e negro de Sudan na maioria dos blastos e a imunofenotipagem mostrou positividade ao CD 13 (35%) e CD 33 (72% fraco), e os marcadores para linhagens monocítica, megacariocítica e linfóide foram negativos. O cariótipo demonstrou presença do

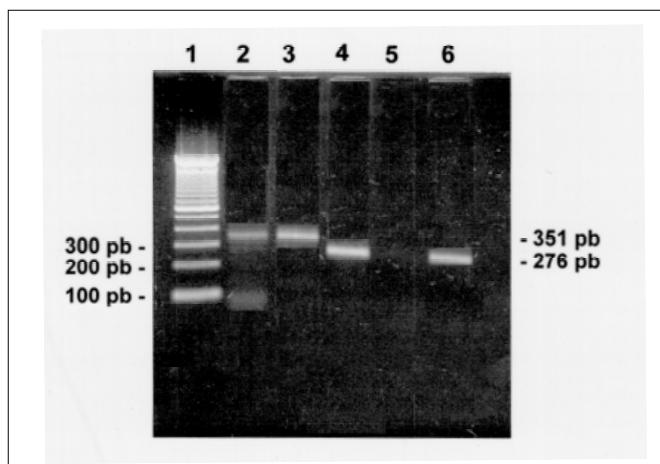


Fig. — Eletroforese em gel de agarose 1,5% corada com brometo de etídio mostrando: 1) marcador Ladder 100; 2) e 3) pacientes com LMC e rearranjo b3-a2 (351 pb); 4) paciente com LMC e rearranjo b2-a2 (276 pb); 5) controle negativo; 6) paciente com LMA Ph1-positivo com o rearranjo b2-a2 (banda 276 pb).

Tabela — Evolução do hemograma durante o período que antecedeu a segunda recidiva (em uso de hidroxiuréia ou citosina arabinosídeo + alfa-interferon). Hb — hemoglobina (g/dL); Htc — hematócrito (%); GB — glóbulos brancos e plaquetas (/mm³)

Data	Hb	Htc	GB	Diferencial	Plaquetas
Out/94	10,5	30,4	4 970	(1-10-0-6-41-0-1-35-6)	36.000
Dez/95	10,7	30,2	8 444	(1-4-15-7-26-10-2-5-29-1)	58.000
Mar/95	9,6	29,8	34 360	(7-7-34-10-2-9-2-7-21-1)	63.000
Abr/95	8,2	25,6	11 100	(1-14-2-4-14-0-4-61-0)	48.000
Mai/95	8,8	26,4	174 000	(22-60-5-0-0-2-2-3-4-2)	81.000

Diferencial (%) (da direita para a esquerda): monócitos — linfócitos — basófilos — eosinófilos — segmentados — bastonetes — metamielócitos — mielócitos — promielócitos — blastos.

cromossomo Ph1 — 46, XY, t(9; 22). O paciente foi submetido à leucoaférese e indução com daunorrubicina (45mg/m² por 3 dias) e citosina arabinosídeo (200mg/m² por 7 dias). Apresentou remissão hematológica, recebendo consolidação com as mesmas drogas e doses nos meses de julho e setembro de 1993. Não possuía doador HLA compatível para TMO alogênico. Em novembro de 1993, foi submetido à intensificação com citosina do arabinosídeo 3g/m², 12/12 horas por 4 dias e daunorrubicina (40mg/m² nos dias 5, 6 e 7). Em maio de 1994, a pesquisa do rearranjo bcr-abl (pela técnica do PCR) a partir de aspirado de medula óssea foi positiva para o rearranjo do tipo b2-a2 (fig. acima).

O paciente permaneceu em remissão clínica e hematológica por um ano. Em junho de 1994, apresentou recaída como LMA-M2, sendo tratado com o mesmo esquema utilizado na primeira

indução. Após a quimioterapia, o aspirado de medula óssea demonstrou 7,6% de blastos e o paciente desenvolveu leucocitose (em torno de 90.000/mm³) com desvio à esquerda até blastos. A fosfatase alcalina dos neutrófilos teve escore de 14 (normal: 15-75). O controle da leucometria foi realizado com hidroxiuréia e esta se manteve ao redor de 30.000/mm³, com escalonamento até blastos, e cerca de 5% de basófilos (tabela). Em nenhum momento foi detectado aumento do fígado ou baço, quer pelo exame físico ou por ultrasonografia abdominal. Em outubro de 1994, foi submetido a esquema com citosina arabinosídeo 15mg/m² SC/14 dias e alfa interferon 3 milhões de unidades SC/dia/14 dias, com controle da leucocitose (Hb: 10,5g/dL, Htc: 30,4%, GB: 4.970/mm³, sendo 1% de promielócitos, 10% de mielócitos, 0% de metamielócito, 6% de bastonetes, 41% de segmentados, 0% de eosinófilo, 1% de basófilos, 35% de linfócitos e 6% de monócitos e 36.000 plaquetas/mm³ (tabela). Em maio de 1995, apresentou a segunda recidiva da LMA-M2 (87,5% de blastos mielóides na medula óssea), sem resposta à quimioterapia, evoluindo com insuficiência respiratória e óbito em 25/5/1995.

DISCUSSÃO

O tipo do rearranjo molecular nas leucemias Ph1-positivo pode sugerir a origem da LMA: a presença do rearranjo que codifica a p190 é característico de LMA *de novo*, enquanto os casos que apresentam o rearranjo que codifica p210 podem corresponder à LMA *de novo* ou à crise blástica mielóide de LMC, até então não diagnosticada. Na segunda situação, a evolução clínica pode determinar a verdadeira natureza da leucemia.

Aproximadamente, 6% das LMCs apresentam a crise blástica como primeira manifestação clínica⁸. No caso em questão, é provável que tenha ocorrido crise blástica mielóide de LMC como primeira manifestação da doença, sendo esta indistinguível da LMA-M2 quando se utilizam apenas critérios morfológicos e imunológicos. Essa hipótese é reforçada pela presença de intensa leucocitose e desvio à esquerda com predomínio de blastos e escore de fosfatase alcalina de neutrófilos no limite inferior da normalidade, após o tratamento da primeira recidiva. Porém, a ausência de esplenomegalia em todas as fases de evolução deste caso não é compatível com a grande maioria dos casos de LMC em crise blástica.

A análise molecular pela reação em cadeia da polimerase-transcriptase reversa (RT-PCR)⁹, com o achado do rearranjo do tipo b2-a2 que codifica p210,

não contribuiu para o diagnóstico diferencial entre LMA *de novo* e crise blástica mielóide de LMC.

Não há dúvidas de que o rearranjo bcr-abl é a base da patogênese da LMC e que outras alterações em outros genes, como a mutação no p53, estariam implicadas na evolução para a fase acelerada e crise blástica¹⁰. Particularmente nas crises blásticas mielóides, 80% dos casos apresentam evolução cromossômica clonal como duplicação do Ph1, trissomia do 8, trissomia do 19, isocromossomo 17q, trissomia do 21 e perda do Y¹¹. O fato de o nosso paciente apresentar apenas o cromossomo Ph1 como única alteração citogenética ao diagnóstico não confirma nem afasta a hipótese de crise blástica mielóide de LMC.

Cerca de 20% dos pacientes com LMC em crise blástica mielóide tratados com quimioterapia agressiva passam a apresentar uma hematopoese típica de LMC, com sobrevida média oscilando entre 8 e 10 meses até que sobrevenha nova agudização¹², enquanto os pacientes que não respondem à quimioterapia têm sobrevida mediana de dois meses¹². No presente caso, o tratamento agressivo permitiu que o paciente permanecesse em remissão clínica e hematológica por um ano, até a primeira recidiva, e, provavelmente, contribuiu para a sobrevida global de dois anos.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a Ilka Maria Manrique de Souza, Ana Patrícia A. Santana e André Luís Tavares, médicos residentes do HSPE, pelo acompanhamento clínico deste paciente.

SUMMARY

Molecular analysis and clinical evolution of one case of Ph1-positive acute myeloid leukemia (AML)

A case of AML presented with basophilia in peripheral blood and Ph1 chromosome in karyotype analysis is reported. After one year of treatment with intensive chemotherapy and clinical and hematological remission, molecular analysis (RT-PCR) detected minimal residual disease (b2-a2 rearrangement). Thus, the patient relapsed as AML

and, after second remission, he developed a hematological picture of chronic CML. Ten months later, he relapsed again as AML. The difficulties of diagnosis between AML Ph1-positive de novo and myeloid blast crisis of CML, as the first manifestation of disease, based on clinical and molecular aspects are discussed. [Rev Ass Med Brasil 1998; 44(3):253-5.]

KEY WORDS: Acute myeloid leukemia. Philadelphia chromosome. bcr-abl rearrangement.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Nowell PC, Hungerford DA. A minute chromosome in human chronic granulocytic leukemia. *Science* 1960; 132: 1.497.
2. Rowley JD. A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature* 1973; 243: 290-3.
3. de Klein A, van Kessel AG, Grosveld G *et al*. A cellular oncogene is translocated to the Philadelphia chromosome in chronic myelocytic leukemia. *Nature* 1982; 300: 765-7.
4. Champlin RE, Golde DW. Chronic myelogenous leukemia: recent advances. *Blood* 1985; 65: 1.039-47.
5. Kurzrock R, Gutterman JU, Talpaz M. The molecular genetics of Philadelphia chromosome-positive leukemias. *N Engl J Med* 1988; 319: 990-8.
6. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT *et al*. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia: a report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med* 1985; 103: 626-9.
7. Cigudosa JC, Almeida MTA, Carrasco V *et al*. BCR-ABL rearrangement and "variant" Philadelphia chromosome in de novo acute myelogenous leukemia FAB subtype M1. *Br J Haematol* 1995; 91: 932-4.
8. Cervantes F, Rozman C, Ballesta F *et al*. Leucemia mieloide crônica. Descripción de una serie de 207 casos. *Sangre* 1983; 28: 140-50.
9. Roth MS, Antin JH, Bingham EL, Ginsburg D. Detection of Philadelphia chromosome-positive cells by the polymerase chain reaction following bone marrow transplant for chronic myelogenous leukemia. *Blood* 1989; 74:882-885.
10. Nakai H, Misawa S, Toguchida J, Yandell DW, Ishizaki K. Frequent p53 gene mutations in blast crisis of chronic myelogenous leukemia, especially in myeloid crisis harboring loss of chromosome 17p. *Cancer Res* 1992; 52:6.588-93.
11. Bernstein R, Gale RP. Do chromosome abnormalities determine the type of acute leukemia that develops CML? *Leukemia* 1990; 4: 65-8.
12. Canellos GP. The treatment of chronic granulocytic leukaemia. *Clin Haematol* 1977; 6: 113-28.
13. Savage DG, Goldman JM. Approaches to the treatment of chronic myeloid leukemia. *Int J Hematol* 1994; 60: 1-21.