

medicina diagnóstica

Citogenética lança luz na compreensão das neoplasias hematológicas

Com técnicas clássicas e moleculares, esse ramo da genética revoluciona a Onco-Hematologia.

Apenas meio século atrás, diante de uma suspeita de neoplasia hematológica, os especialistas contavam apenas com a citomorfologia e com a avaliação quantitativa dos elementos figurados do sangue periférico e das células precursoras da medula óssea para chegar a uma conclusão diagnóstica, o que, conseqüentemente, limitava a chance de os tratamentos serem bem-sucedidos.

Foi só em 1960 que se fez a primeira descrição de uma alteração cromossômica relacionada a uma doença neoplásica maligna: o cromossomo Philadelphia (Ph), observado em pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) e, mais tarde, em 1973, reconhecido como uma translocação, entre os cromossomos 9 e 22.

A partir daí, milhares de alterações cromossômicas nos diversos cânceres hematológicos foram descritas.

Graças a essa descoberta, que deu início a uma verdadeira revolução, identificou-se que o proto-oncogene c-ABL estava translocado do cromossomo 9 para o 22, na região *breakpoint cluster region* (BCR), dando origem ao gene quimérico BCR-ABL1, o qual aumenta a atividade da tirosinoquinase. Com isso, o alvo terapêutico estava demonstrado. Faltava desenvolver um inibidor, o que ocorreu em 2001 com o mesilato de imatinibe, inaugurando a era da terapia molecular alvo-específica. Hoje, milhares de portadores de LMC estão em remissão molecular por conta desse tratamento específico para a doença, que, antes, levava a óbito em quatro anos.

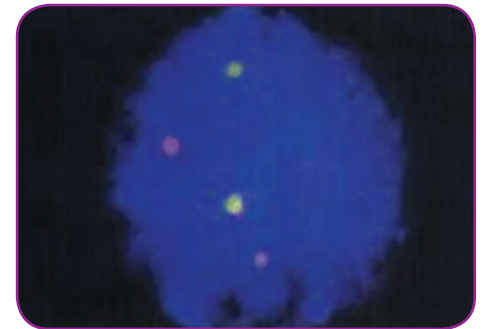
Contribuição inestimável

O exemplo da LMC ilustra a contribuição inestimável da Citogenética na abordagem das neoplasias hematológicas.

Os avanços ocorridos nas últimas

décadas tornaram possível a identificação individual de cada cromossomo, além da detecção de deleções, inversões, inserções, translocações, sítios frágeis e outros rearranjos mais complexos.

Na Citogenética Molecular, por sua vez, a hibridação *in situ* por fluorescência (FISH), em particular, possibilita o encontro de translocações mesmo em



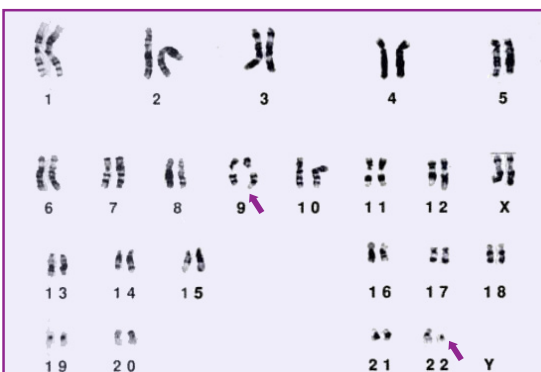
LMC: FISH demonstra o gene quimérico BCR/ABL em uma célula em interfase.

células que não estão em divisão. Por ser específica e rápida, a técnica ainda agiliza a definição do diagnóstico e da modalidade terapêutica, servindo também para monitorar o paciente durante o curso da doença.

Ao lado dessa evolução, a Biologia Molecular teve um salto espetacular com a introdução de novos métodos, como a PCR qualitativa e quantitativa. Nesse cenário, a combinação de mutações detectadas por diferentes testes ganha espaço e pormenoriza detalhes com significado clínico.

Mas o longo caminho percorrido pela Hematologia e pela Citogenética ainda está distante do fim. É na reflexão histórica e no aprofundamento do saber científico que se encontram as bases para o futuro, com a perspectiva de novos benefícios aos pacientes acometidos por hemopatias malignas.

Confira, nas páginas seguintes, as principais descobertas que modificaram o diagnóstico, o prognóstico e o tratamento do câncer hematológico.

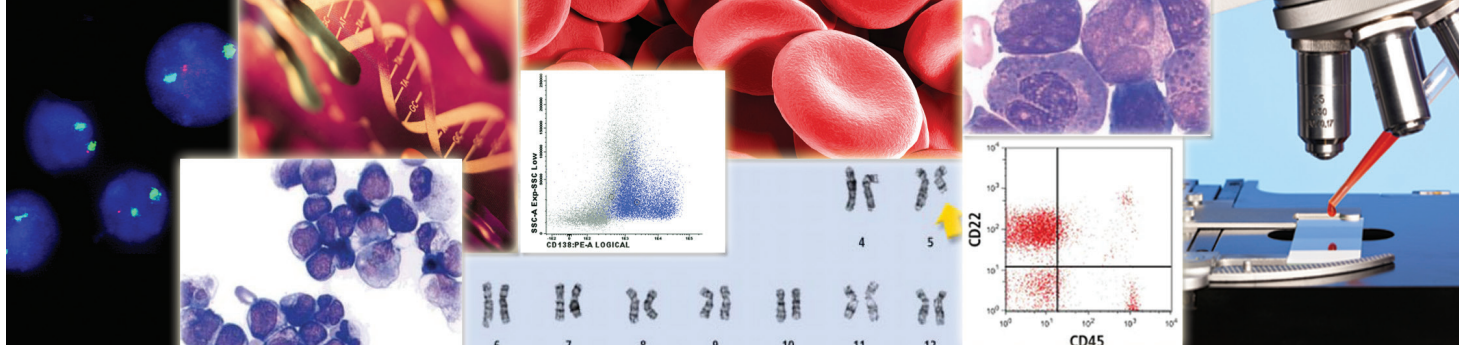


LMC: cariótipo mostra translocação recíproca envolvendo os cromossomos 9 e 22 (setas) = cromossomo Philadelphia.

Conheça o significado prático das informações laboratoriais em Onco-Hematologia

Do mielograma ao estudo citogenético, veja como usar os testes diagnósticos para detectar, tratar e seguir as neoplasias hematológicas.

Neoplasia/definição	Medula óssea	Cariótipo com bandas G	Citogenética Molecular	Implicações da Citogenética
<p>Leucemia mieloide aguda Conjunto de doenças caracterizadas pela proliferação clonal de células precursoras mieloides primitivas (blastos) na medula óssea, com redução dos elementos celulares normais no sangue periférico</p>	<p>Citomorfolgia Presença de proporção de blastos de linhagem mieloide igual ou superior a 20%</p> <p>Imunofenotipagem Marcadores específicos que confirmam a origem mieloide dos blastos</p>	<p>- Pode ser detectada uma das seguintes translocações:</p> <ul style="list-style-type: none"> • t(15;17)(q22;q11-12) • t(8;21)(q22;q22) • inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22) • t(9;11)(p22;q23) • t(6;9)(p23;q34) • inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2) • t(1;22)(p13;q13) • t(11q23) • t(11;?)(q23:?) • t(9,22) • Outras 	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Gene MLL - Inversão do cromossomo 16 - Translocação PML/RARA <p>PCR em tempo real</p> <ul style="list-style-type: none"> - Translocação PML/RARA - Gene NPM1 - Mutação ITD no gene FLT3 - Mutação no gene CEBPA 	<ul style="list-style-type: none"> - A detecção de uma das mutações típicas corrobora o diagnóstico citomorfológico e imunofenotípico - A Citogenética Molecular permite confirmar o diagnóstico em casos com cariótipo normal, que exibem alterações genéticas detectáveis apenas por FISH ou por testes moleculares - A presença de mutações específicas auxilia a definição da estratégia terapêutica e a avaliação do prognóstico e do risco de recidiva - O monitoramento das mutações após tratamento possibilita detecção de doença residual mínima
<p>Leucemia mieloide crônica Doença clonal, originada de uma célula progenitora multipotente, que se caracteriza por anemia e leucocitose, com importante desvio à esquerda, e pelo aumento do baço</p>	<p>Citomorfolgia Hiperplasticidade, com aumento da série granulocítica. Agrupamentos de blastos indicam crise blástica</p>	<p>- Cromossomo Philadelphia (Ph): t(9;22)(q34;q11.2)</p> <ul style="list-style-type: none"> - Raramente, translocação variante: t(9;22;?) - Raramente, alteração adicional que configure evolução clonal, como: • t(9;22) • +8 • t(9;22) • +der(22) • t(9;22) • i(17q) 	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Rearranjo BCR-ABL1 - Deleção adicional no ABL1 ou BCR <p>PCR em tempo real</p> <ul style="list-style-type: none"> - BCR/ABL tipo P210 <p>Sequenciamento</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pesquisa de mutação no BCR-ABL1 	<ul style="list-style-type: none"> - A detecção do Ph/rearranjo BCR-ABL1 confirma a doença clonal, diferenciando-a de alteração medular reacional - A monitoração da presença do transcrito BCR-ABL1 permite avaliar a resposta terapêutica dos pontos de vista citogenético e molecular, estratificar os casos de resposta subótima e detectar precocemente a recidiva, com implicações prognósticas e no manejo - Casos refratários ao tratamento devem ser submetidos à pesquisa de mutações pontuais no BCR-ABL1, que são o mecanismo mais comum de resistência adquirida total ou parcial às drogas antitiroquinase
<p>Outras neoplasias mieloproliferativas (Ph-negativas) Doenças clonais de células-tronco hematopoéticas nas quais há proliferação aumentada de uma ou mais das séries mieloides, com maturação eficaz. Todas têm, como base genética, mutação que ativa constitutivamente as vias de sinalização intracelular. Podem se transformar em LMA</p>	<p>Citomorfolgia Hiperplasticidade de uma ou mais linhagens mieloides (granulocítica, eritrocítica, megacariocítica ou mastocítica), com maturação preservada. Com a evolução, verifica-se presença de fibrose medular</p>	<p>- Pode haver aberrações cuja detecção auxilia a confirmação de doença clonal, a avaliação do prognóstico e a condução terapêutica</p>	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mutações nos genes: • FIP • CHIC • PDGFRα <p>PCR em tempo real</p> <ul style="list-style-type: none"> - Mutação V617F no gene JAK2 	<ul style="list-style-type: none"> - A detecção das mutações confirma a doença clonal, diferenciando-a de alteração medular reacional e respaldando a indicação de mielossupressor - A presença de mutação nos genes FIP, CHIC e PDGFRα confirma a leucemia eosinofílica crônica - A presença da mutação V617F no gene JAK2 faz a confirmação de policitemia vera (PV), trombocitopenia essencial (TE) ou mielofibrose primária (MF) - Raros casos de PV podem apresentar mutação no éxon 12 do JAK2 - Raros casos de MF ou TE podem ter mutação MPL515L ou K



Neoplasia/definição	Medula óssea	Cariótipo com bandas G	Citogenética Molecular	Implicações da Citogenética
<p>Leucemia linfoblástica aguda Doença com proliferação e/ou infiltração de linfoblastos na medula óssea e em outros órgãos do sistema linfóide. Acomete mais a linhagem B, quando se apresenta comumente na infância. A LLA-T é mais rara e incide mais na adolescência. Ambas as formas podem ocorrer em adultos</p>	<p>Citomorfolgia Hiper celularidade, com substituição dos elementos normais por linfoblastos de morfologia pouco específica, que precisa ser confirmada com marcadores fenotípicos</p> <p>Imunofenotipagem por citometria de fluxo Marcadores específicos que confirmam a origem linfóide dos blastos e os diferencia entre as linhagens B ou T. Há possibilidade de detecção de doença residual</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Rearranjos no <i>locus</i> 11q23, sendo o mais frequente o t(4;11) - Translocações no <i>locus</i> 8q32 - t(1;19) ou t(17;19) - Deleção no <i>locus</i> 9p16 - t(9;22) – cromossomo Philadelphia - t(8;14) - t(14;14)(q11;q32) - inv(14)(q11q32) - Outras 	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pannel para LLA: • MYC • P16/D9z • E2A • D10Z1/D17Z1/CHIC2 • ETV6/RUNX1 • MLL • BCR-ABL1 • IGH 	<ul style="list-style-type: none"> - A definição da base citogenética para a doença clonal possibilita avaliar o prognóstico, a chance de resposta à quimioterapia e o risco de recidiva, auxiliando a definição da estratégia terapêutica
<p>Leucemia linfóide crônica Doença caracterizada por proliferação da linhagem linfocítica, com maturação preservada. Reflete-se no sangue periférico por linfocitose >4.000/mm³</p>	<p>Citomorfolgia Infiltrados ou agregados intersticiais de pequenos linfócitos, que podem ou não formar centros proliferativos</p> <p>Imunofenotipagem Marcadores específicos da linhagem linfóide</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Trissomia 12 - Trissomia 3 - Del6q - Del13q - Outras 	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pannel para LLC: • D6Z1/MYB • D12Z1 • D11Z1/ATM • IGH/BCL2 • IGH • P53 • D17Z1 • IGH/CCND1 • RB1/D13S1825 	<ul style="list-style-type: none"> - A detecção da trissomia e/ou das mutações confirma a doença clonal, diferenciando LLC de linfocitose reacional, com implicação prognóstica e terapêutica - A FISH é mais sensível que o cariótipo para a detecção de trissomia 12, del13q, del17p e del11q
<p>Mieloma múltiplo Neoplasia plasmocitária marcada pelo envolvimento multifocal do esqueleto</p>	<p>Citomorfolgia Aumento do número de plasmócitos, superando 30% da celularidade medular. Pode haver predomínio de plasmoblastos ou células com morfologia aberrante</p> <p>Imunofenotipagem Marcadores específicos de plasmócitos, Igλ, Igκ</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Trissomias 3, 5, 7, 9, 11, 15, 19 ou 21 - Cariótipo hiperdiploide - Cariótipo hipodiploide - t(11;14) - del6q - Alterações no cr 1 - Cariótipos complexos 	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Gene RB1 - Gene CCND1/IgH 	<ul style="list-style-type: none"> - A execução da FISH em plasmócitos marcados por Igλ e Igκ aumenta a sensibilidade para a detecção das mutações, que têm implicação prognóstica e terapêutica
<p>Síndromes mielodisplásicas Grupo de doenças clonais das células-tronco que se caracterizam por defeitos de maturação e se associam com hematopoese ineficaz, com citopenias periféricas e com alto risco de transformação em LMA</p>	<p>Citomorfolgia Normal ou hiper celular, podendo evoluir para falência medular (30%), para fase pré-leucêmica ou para franca leucemia (40%)</p> <p>Imunofenotipagem Marcadores específicos da linhagem mielóide</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Perdas isoladas (-5/5q-; -7/7q-) - Translocações balanceadas - Alterações complexas (mais de três anomalias) 	<p>FISH</p> <ul style="list-style-type: none"> - Pannel para SMD: • EGR1/5p15.3 (del5q) • Gene MLL • CBFB/MYH11 (inv. do cromossomo 16) • Translocação PML/RARA • P53/D17Z1 (del17p) • ETO/RUNX1 [t(8;21)] • RELN/7q31 (del7q) • PTPRT/MYBL2 (del20q) 	<ul style="list-style-type: none"> - A Citogenética Molecular permite confirmar o diagnóstico em casos com cariótipo normal, que exibem alterações genéticas detectáveis apenas por FISH, que são a base para a estratificação prognóstica

Laudo do hemograma ganha parâmetro de múltipla utilidade na prática clínica

Também conhecido por MPV, o volume plaquetário médio pode indicar eventos de risco ou doenças ainda não diagnosticadas.

Agora, os resultados dos hemogramas realizados na a+ Medicina Diagnóstica apresentam o volume plaquetário médio (MPV). Esse parâmetro indica o caráter regenerativo da trombocitopenia, ou seja, a liberação de plaquetas grandes pela medula saudável em processo de regeneração, a exemplo do que ocorre em casos de púrpura trombocitopênica imunológica aguda (PTI).

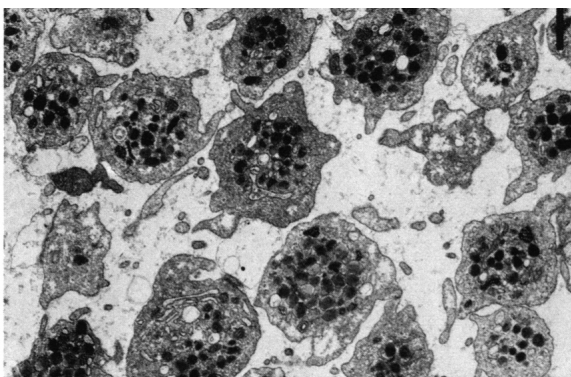
Feita pelo método de impedância, a medida do MPV tem importância em algumas situações clínicas em que são liberadas para a circulação plaquetas maiores e reacionais, como o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral (*veja quadros*).


Os valores de referência padronizados para a dosagem estão entre 9,2 e 12,6 femtolitros. Para evitar variação indesejada, a aferição desse volume precisa ser realizada até 24 horas após a coleta da amostra de sangue.

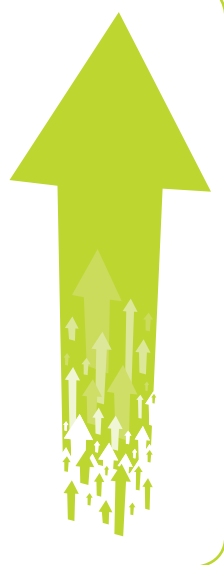
RESULTADO	VALOR DE REFERÊNCIA
Fem: Acima de 16 anos	
PLAQUETAS	
	VALORES DE REFERÊNCIA
TOTAL DE PLAQUETAS: 249.000/mm³	150.000 a 450.000/mm ³
VOLUME PLAQUETÁRIO MÉDIO: 11,9 %	9,2 a 12,6 %

NOTA: Exame automatizado, com confirmação das contagens e análise morfológica realizadas por microscopia, quando aplicável.

Comportamento do MPV em algumas situações clínicas



 Doença medular – A presença de MPV baixo tem elevado valor preditivo positivo para condições como aplasia de medula em pacientes com trombocitopenia

- **Infarto agudo do miocárdio (IAM)** – Eleva-se no momento do evento e permanece aumentado nas semanas subsequentes
 - **Doença arterial coronariana** – Indica maior risco de IAM, independentemente da extensão da lesão coronariana
 - **Doença cerebrovascular** – O aumento ocorre antes do acidente vascular cerebral isquêmico
 - **Gravidez** – Prediz pré-eclâmpsia
 - **Hipertensão** – Indica estenose de artéria renal
 - **Síndrome metabólica** – Associa-se a circunferência abdominal, pressão arterial, glicemia de jejum e IMC elevados
- 

saiba+ é uma publicação da a+ medicina diagnóstica

• **Responsável técnico:** Dr. Rui M. B. Maciel (CRM 16.266) • **Editoras científicas:** Dra. Kaline Medeiros Costa Pereira e Dra. Carolina S. Lázari • **Editora executiva:** Solange Arruda • **Produção gráfica:** Solange Mattenhauer Candido • **Impressão:** Leograf

• **Contribuiu com esta edição:** Dra. Maria de Lourdes Chauffaille, assessora médica em Hematologia do Grupo Fleury

Assessoria técnica

SP: assessoriatecnica.sp@amaissaude.com.br
RJ: assessoriatecnica.rj@amaissaude.com.br

PE: assessoriatecnica.pe@amaissaude.com.br
BA: assessoriatecnica.ba@amaissaude.com.br

RS: assessoriatecnica.rs@amaissaude.com.br
PR: assessoriatecnica.pr@amaissaude.com.br