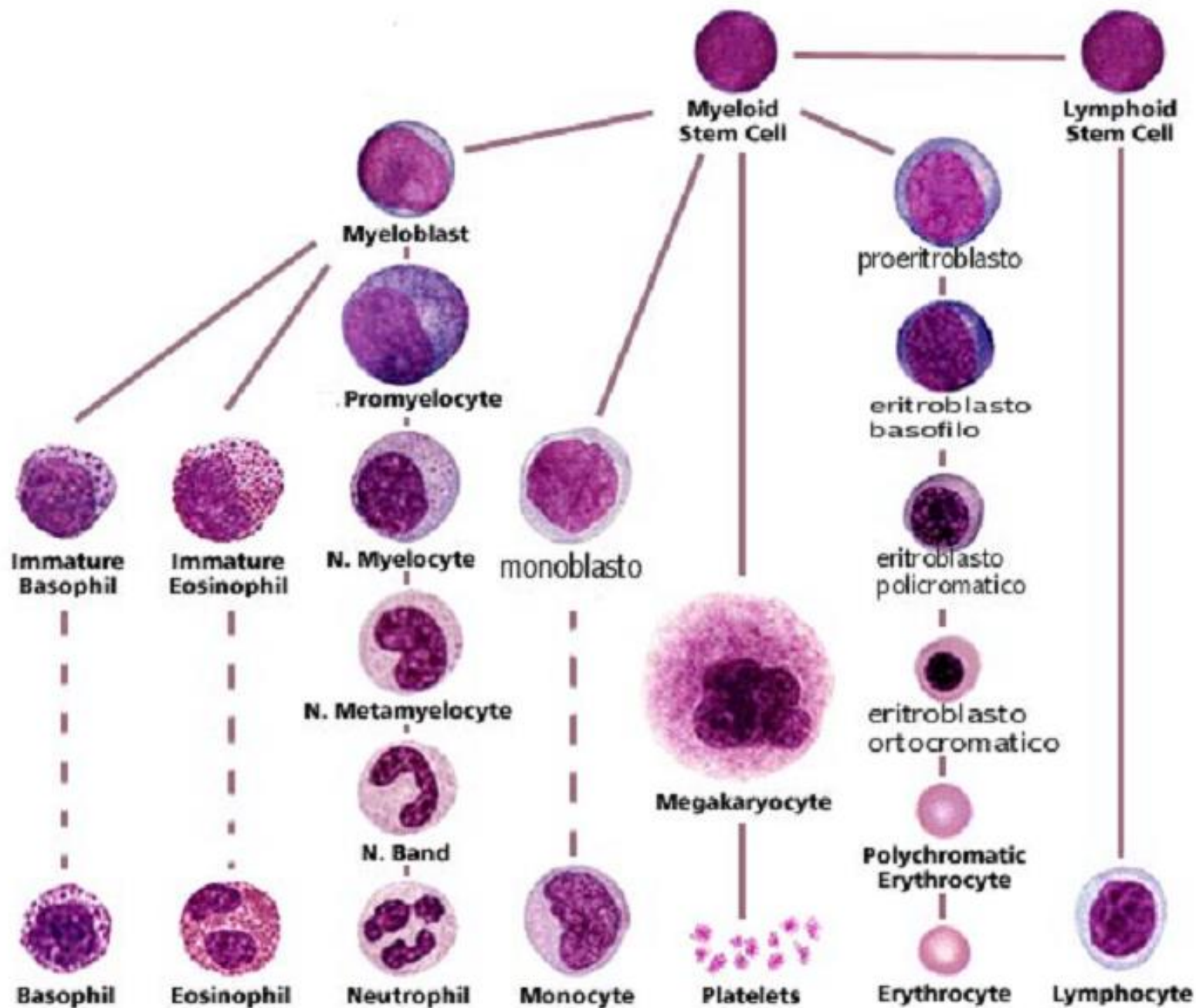


Leucemias

Profa Alessandra Barone
Prof. Archangelo Fernandes
www.profbio.com.br



Leucemia

- Proliferação neoplásica generalizada de células hematopoéticas oriundas de um mesmo clone.
- Células passam a ocupar toda MO impedindo a proliferação de seus elementos normais.
- Saem da MO e invadem o sangue periférico atingindo outros órgãos.
 - Baço
 - Fígado
 - SNC

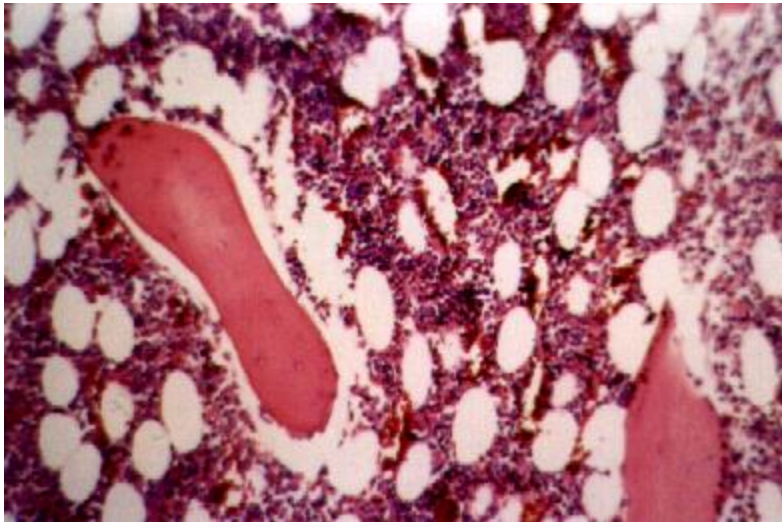
Leucemia

- Ativação de genes que estimulam a proliferação celular e bloqueiam a apoptose.
- Inibição de genes que levam a diferenciação de células hematopoéticas.
- Dominância clonal.
- Insuficiência da medula óssea na produção de células normais.
- Infiltração das células neoplásicas em órgãos e tecidos.
- Imunodeficiência e efeito dos produtos das células tumorais.

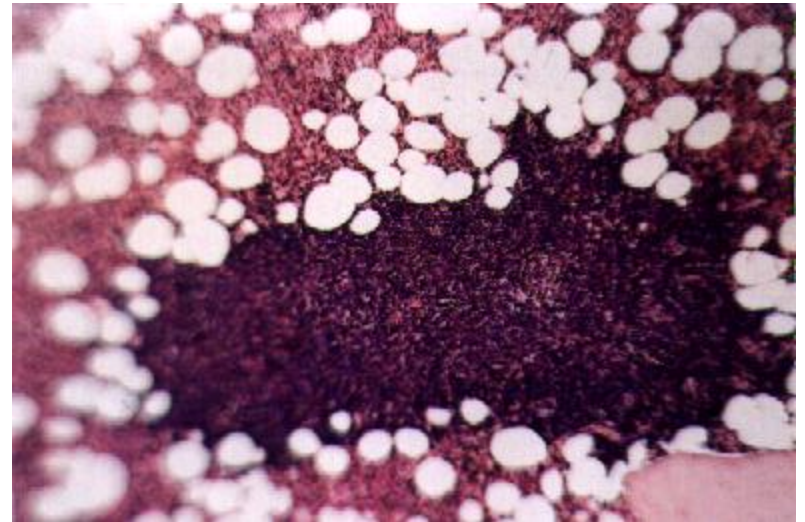
Etiologia das Leucemias

- Mutação genética, causada por um ou mais fatores em indivíduos suscetíveis.
 - Radiação ionizante
 - Agentes químicos(cloranfenicol, fenilbutazona)
 - Vírus (Epstein-Baar, HTLV...)
 - Doenças hematológicas prévias: anemia aplástica, HPN, anemia de Fanconi
 - Imunodeficiência
 - Genética (Síndrome de Down)
 - Translocações e deleções cromossômicas

CLONE ANORMAL SE EXPANDE RAPIDAMENTE NOS TECIDOS MIELOIDE E LINFOIDE



Medula Normal



Medula na L.L.C.

Leucemias

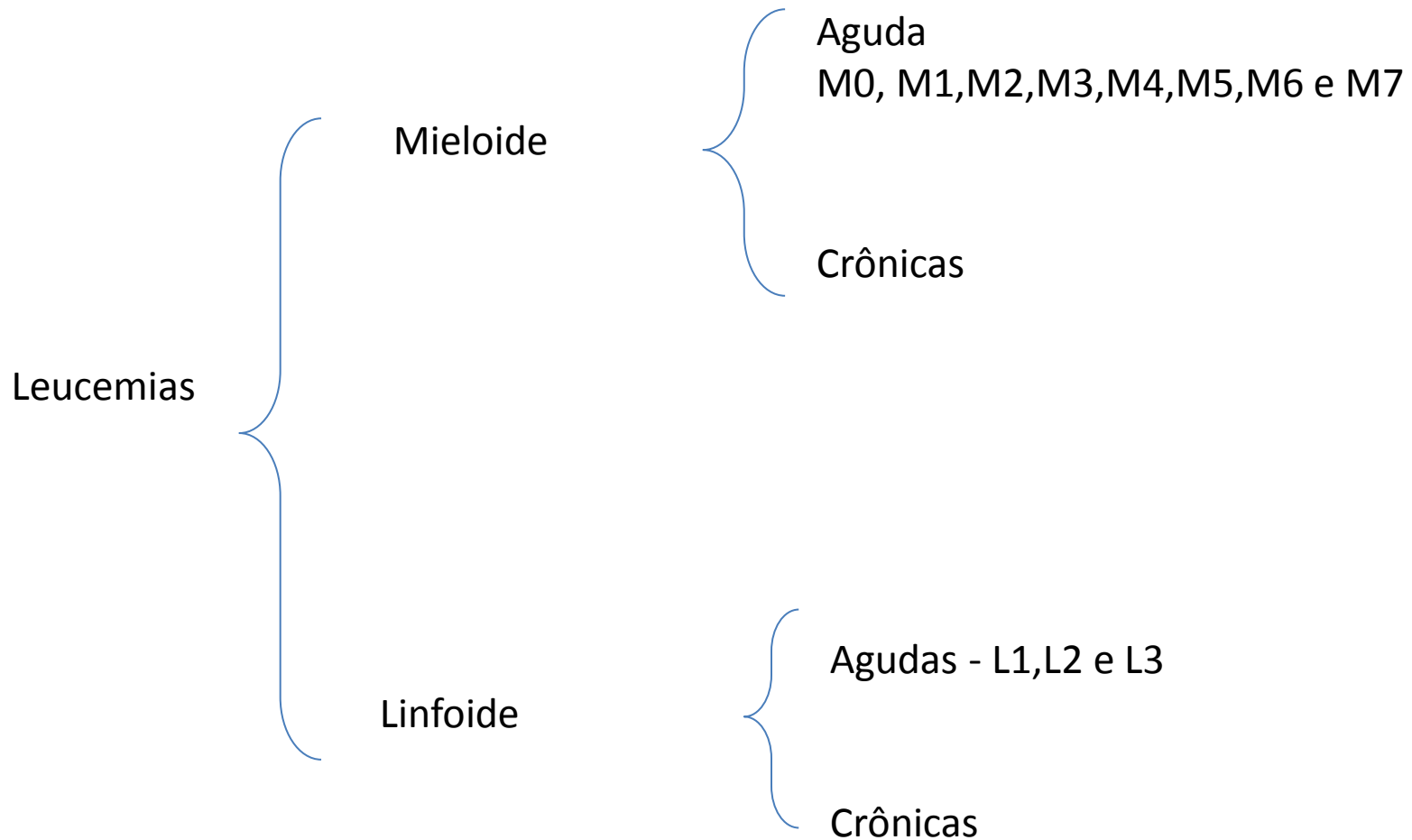
- Leucemias agudas:
 - Leucemia mieloblástica aguda – LMA
 - Leucemia linfoblástica aguda – LLA

(blastos na M.O. e sg periférico)
- Leucemias crônicas:
 - Leucemia mieloide crônica - LMC
 - Leucemia linfoide crônica - LLC

(Aumento do número de céls maduras no sg)

Classificação

- Critério de classificação
 - Grupo Franco – Americano- Britânico (FAB)
 - MIC
 - OMS
 - Grupo European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL)



Leucemias agudas

- Curso rápido
- Predomínio de células blásticas da série mieloide, linfoide e monocítica pela deficiência na maturação celular.
- Medula hiperplásica com aumento do número de blastos
- Manifestações clínicas:
 - Anemia normocítica e normocrômica;
 - Granulocitopenia com febre e infecção;
 - Plaquetopenia com púrpuras e hemorragias;
 - Esplenomegalia e linfadenopatia ;
 - Dores ósseas;
 - Leucostase.

Leucemias agudas

Diagnóstico clínico geral

- Fraqueza
- Palidez progressiva
- Hemorragias
- Infecções
- Adenomegalia, esplenomegalia e hepatomegalia
- Estados compressivos do mediastino pela proliferação e crescimento do tecido linfoide
- Possibilidade de infiltração testicular e SNC

Leucemias agudas

Diagnóstico clínico geral

- Infiltração das células leucêmicas no SNC (neuroleucemia) podem causar sintomas semelhantes aos da meningite:
 - Cefaléia
 - Tontura
 - Náusea
 - Perturbação visual
 - Paralisia dos nervos cranianos

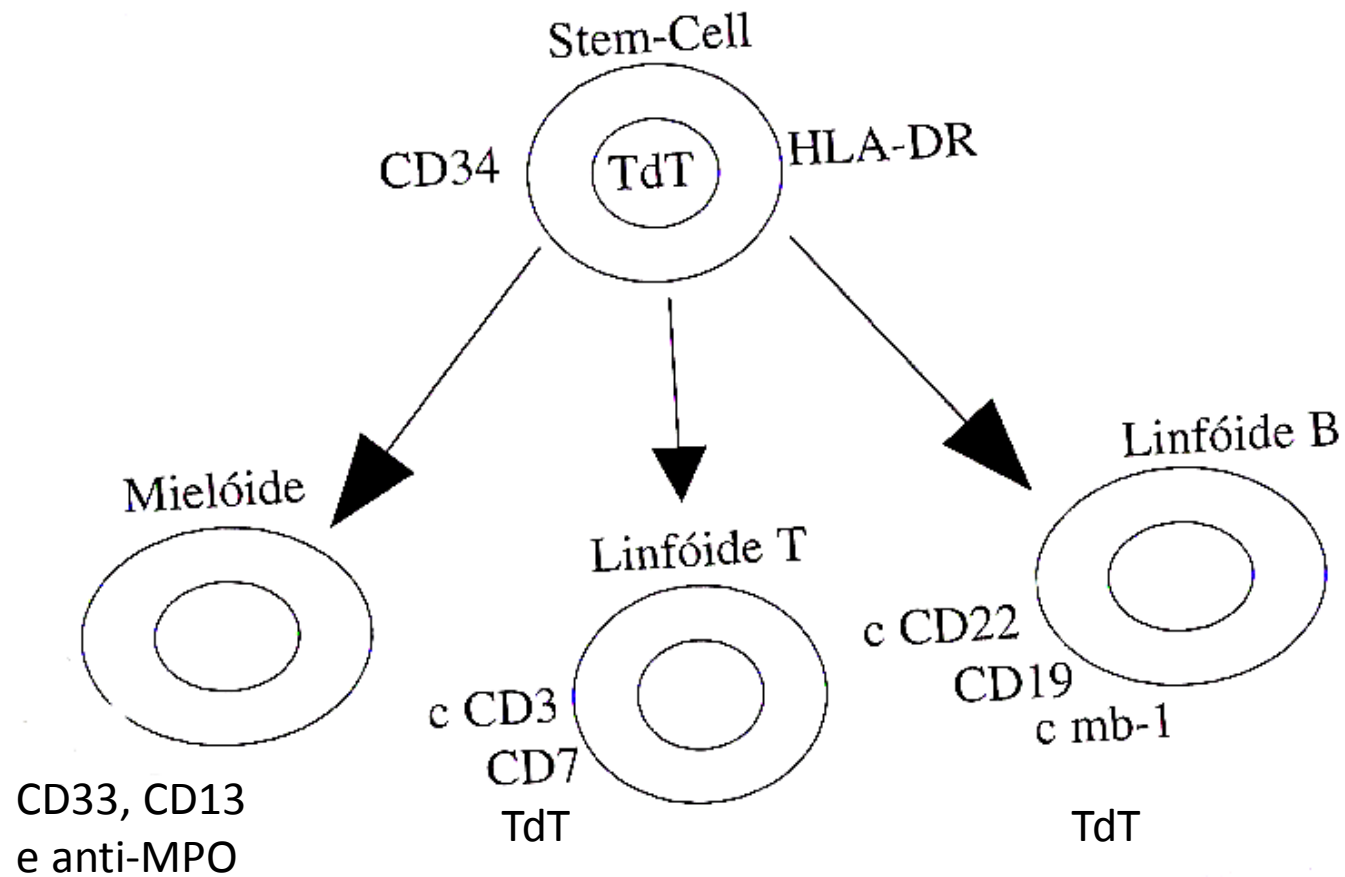
Diagnóstico laboratorial geral

- Hemograma
 - Anemia, neutropenia e trombocitopenia
 - Presença de mais de 20% de blastos dentre os leucócitos
- Mielograma
 - Infiltração de blastos superior a 30% - FAB
 - Infiltração de blastos superior a 20% - OMS
- Tipo citológico
 - Identificação através de coloração citoquímica para diferenciação de mieloblastos e linfoblastos

Diagnóstico geral

- Imunofenotipagem:
 - Demonstra que a origem das células leucêmicas podem estar direcionadas para células mais indiferenciadas, explicando desta forma o comprometimento de eritroblastos e megacarioblastos.
 - Podemos encontrar marcadores como CD7 (Linf.) e CD 13 (mieloide).
 - Complementa o mielograma.
 - Identifica a linhagem celular.
 - Identifica o estágio de maturação.

Diagnóstico geral



Leucemia Linfoide Aguda

- Doença primariamente da infância.
- Pico de incidência entre 3 a 7 anos.
- Caracterizada por crescimento de tecido linfoide, infiltração no SNC e testículos.
- Podem ser geradas por translocações entre o cromossomo 8 e 14, por infecções virais (HTLV-1) e alterações como Anemia de Fanconi, Síndrome de Down e Bloom.

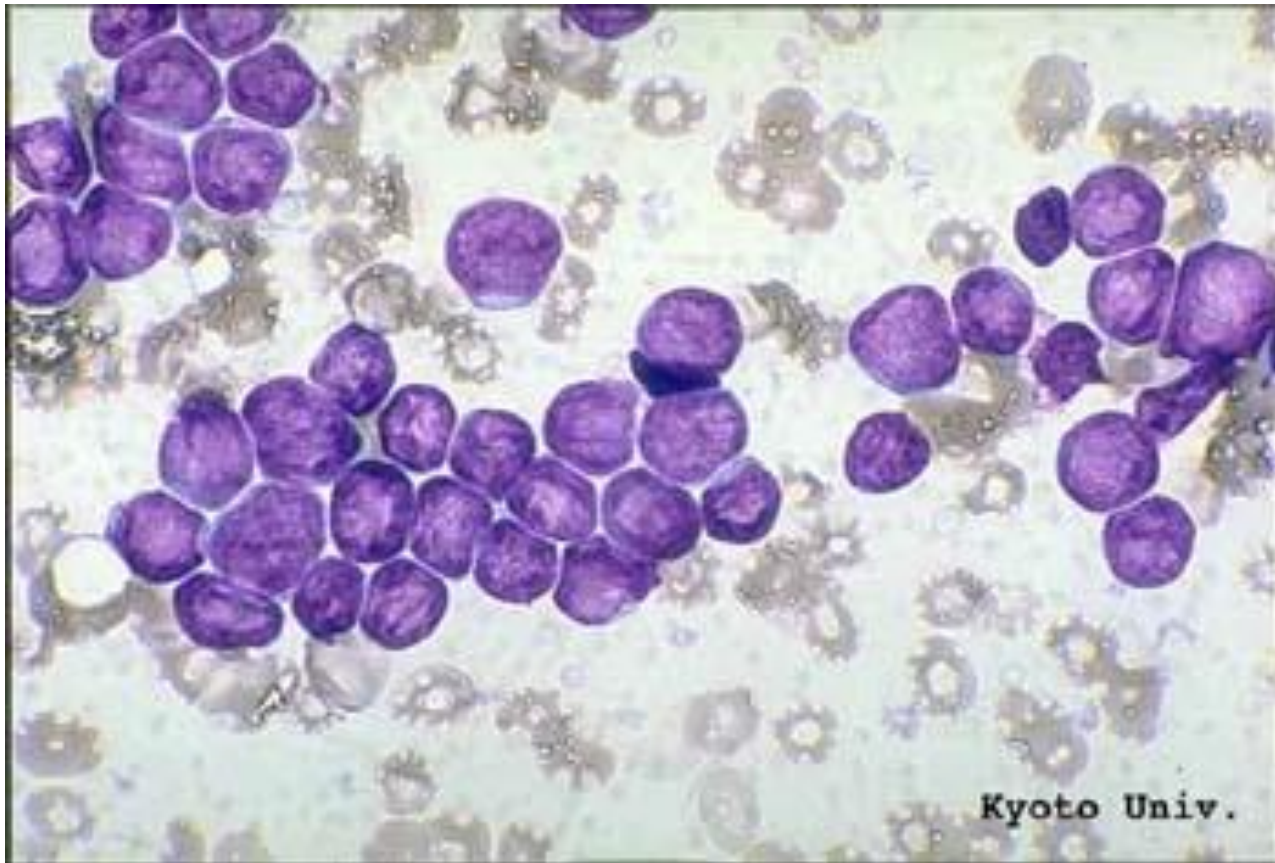
Subtipos de LLA - FAB

- L1: Linfoblastos pequenos e de forma regular. Dificuldade de visualização de nucléolos e citoplasma escasso.
- L2: Linfoblastos maiores e de forma irregular. Presença de nucléolos bem visíveis.
- L3: Linfoblastos grandes, ovais ou redondas, com citoplasma abundante, basófilo e com presença de vacúolos. Possui 1 a 3 nucléolos.

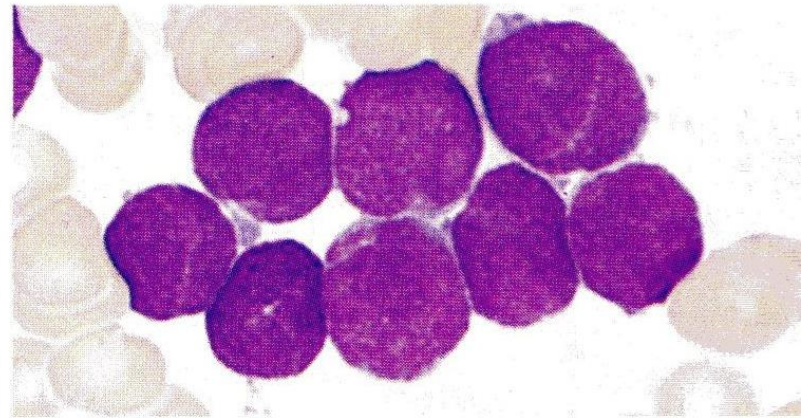
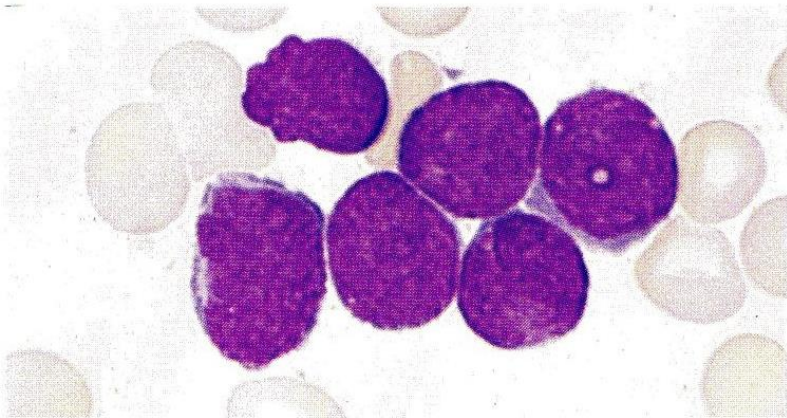
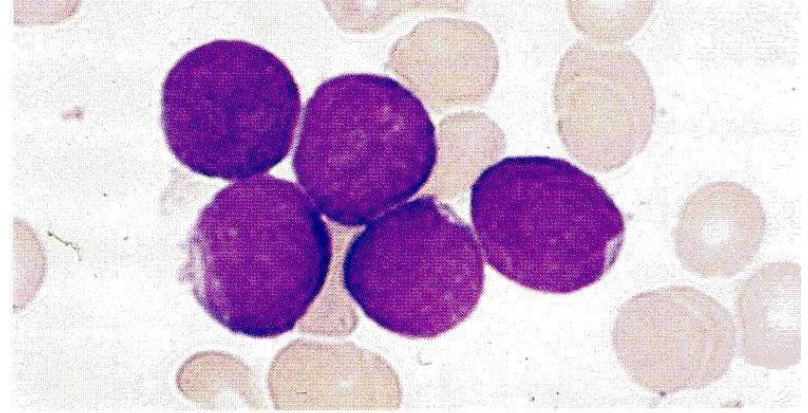
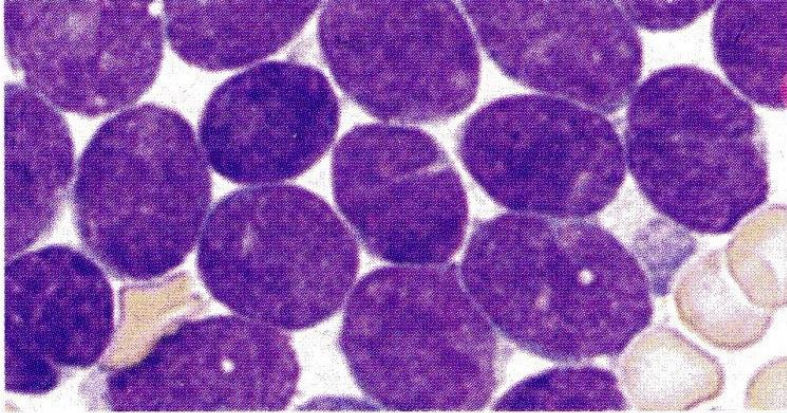
Leucemia Linfóide Aguda

- Classificação da OMS
 - LLA de células B precursoras (antigas L1 e L2 da FAB)
 - LLA de células T precursoras (antigas L1 e L2 da FAB)
 - LLA de células B maduras (antiga L3 da FAB)

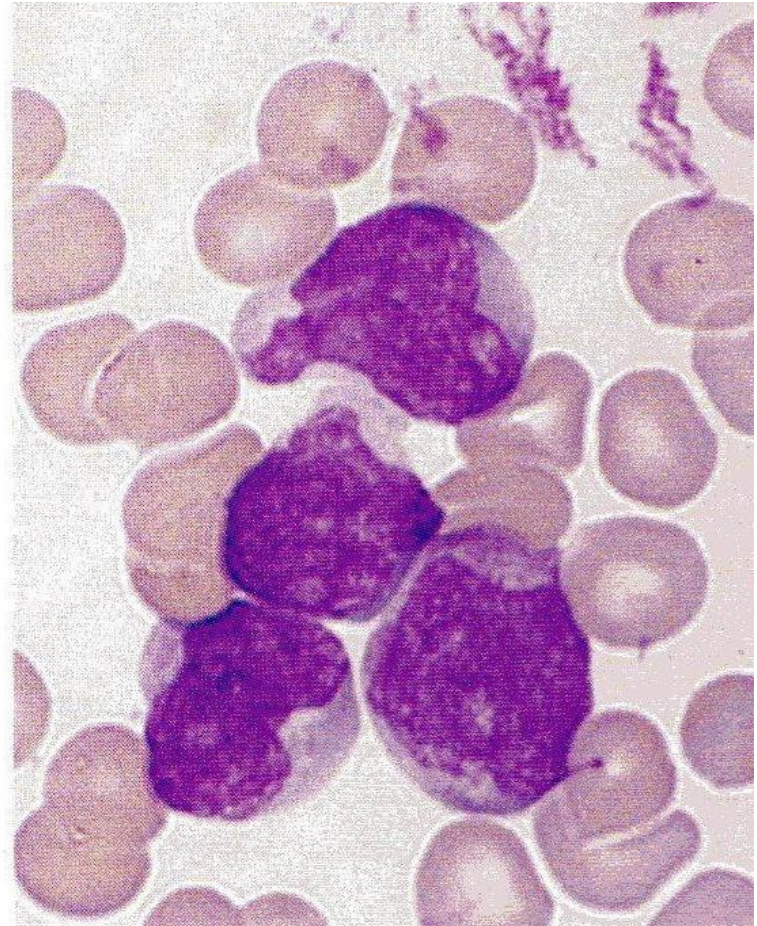
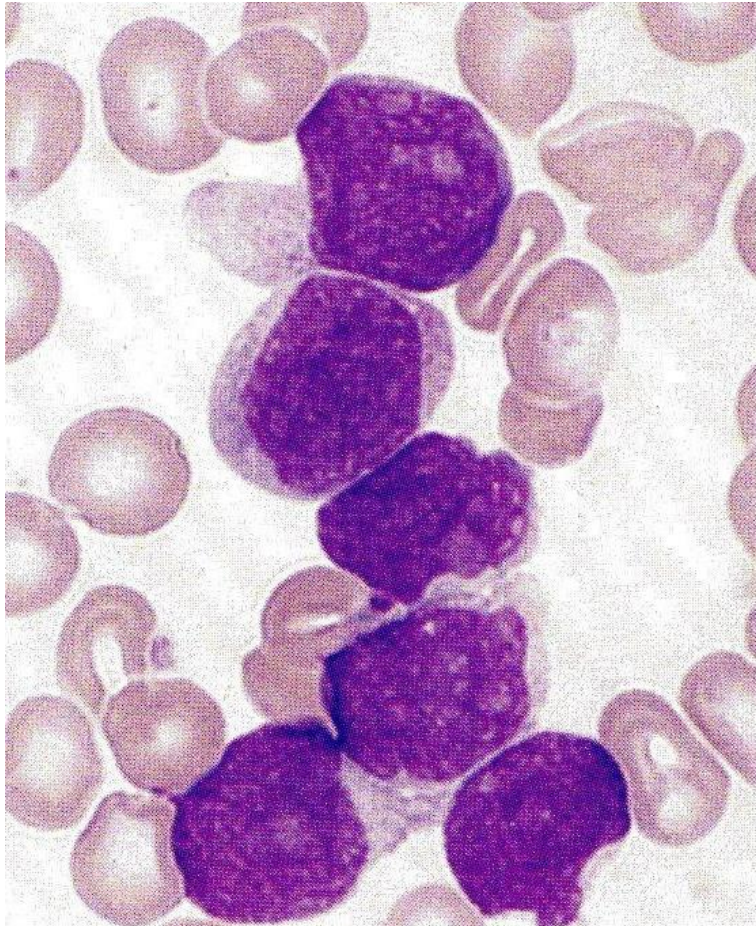
LLA – L1



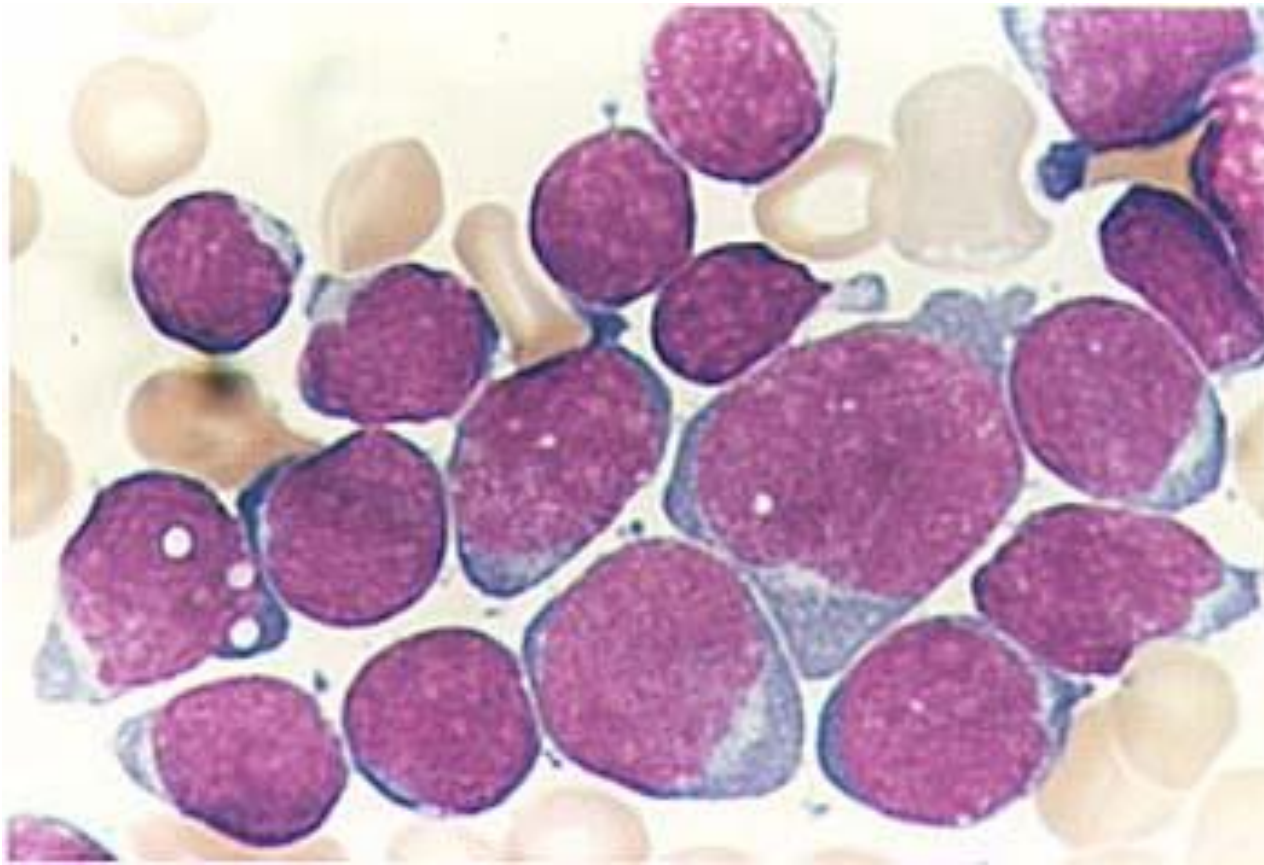
LLA – L1



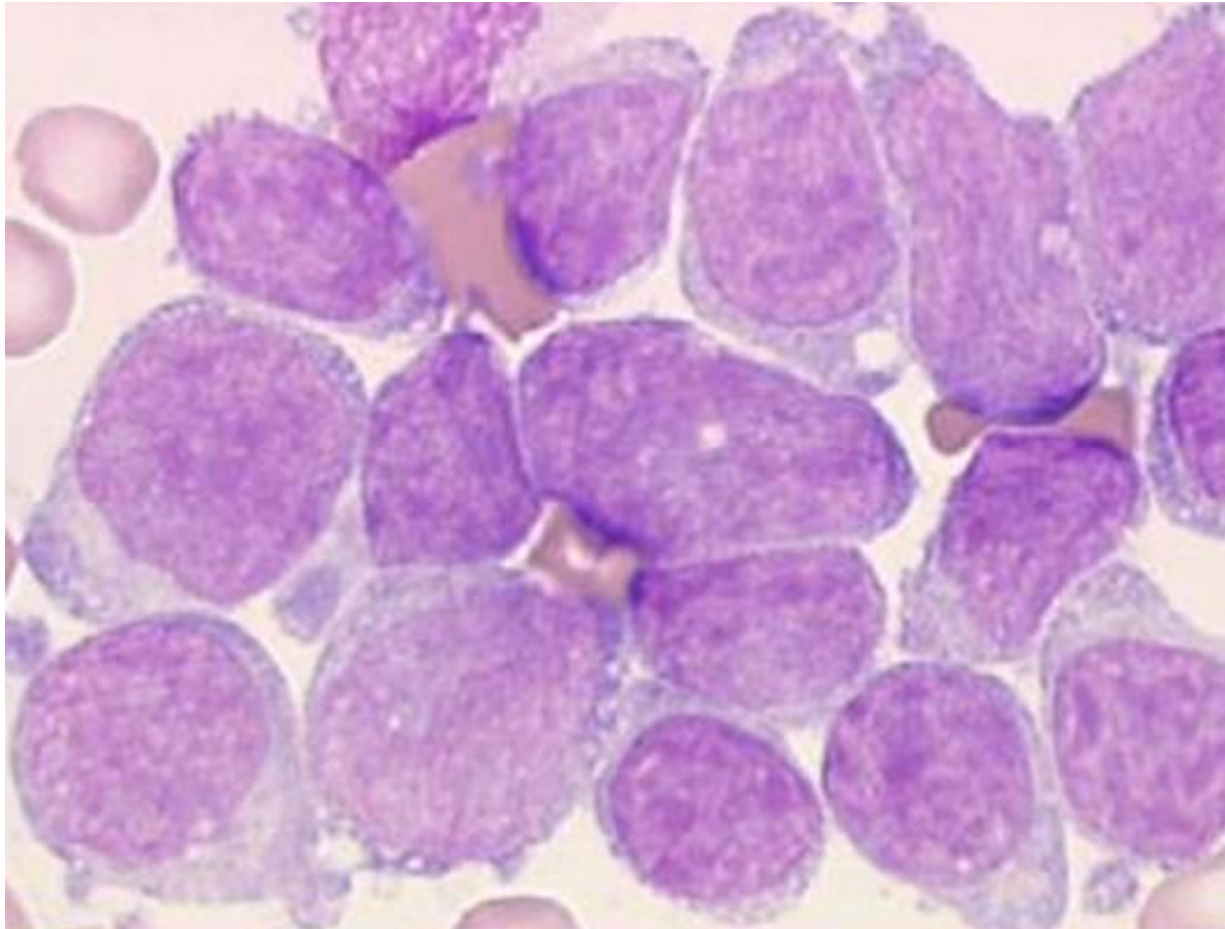
LLA – L2



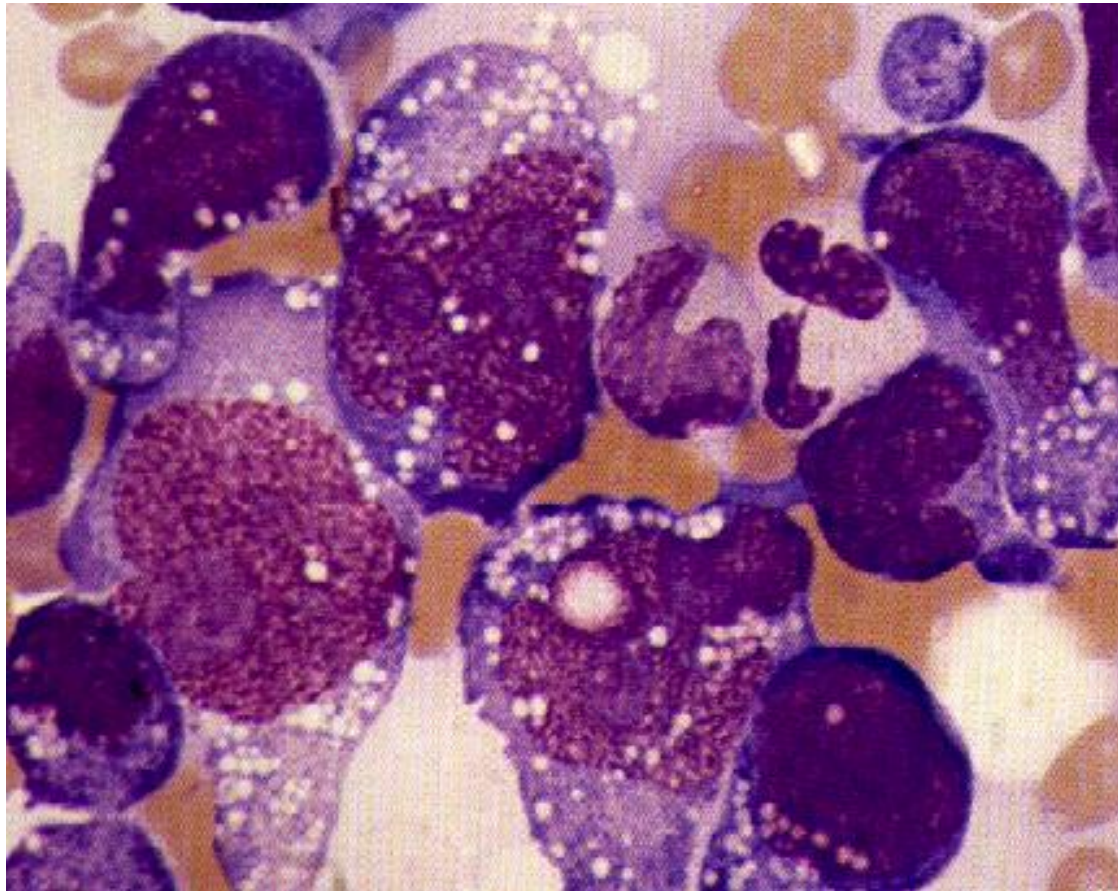
LLA – L2



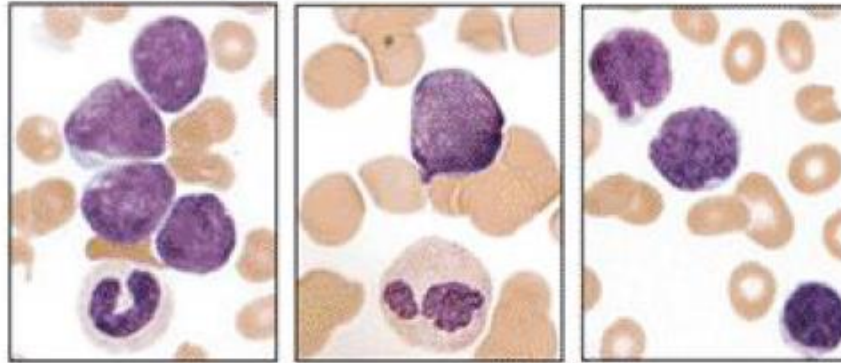
LLA – L2



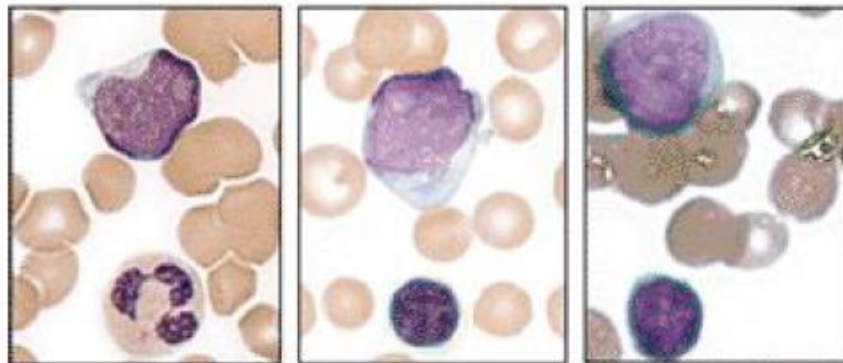
LLA - L3



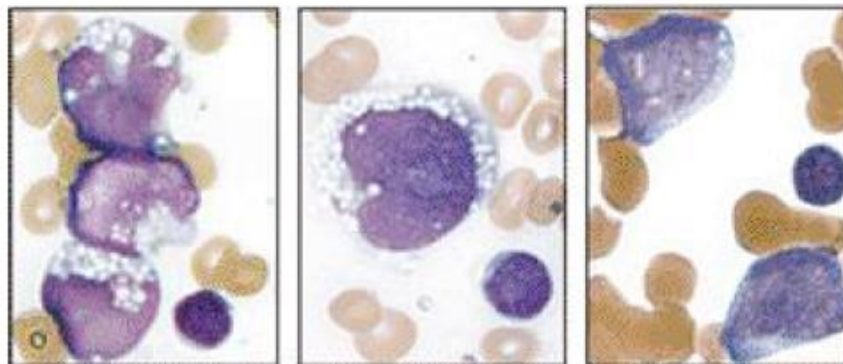
Blast morphology in ALL



L1



L2



L3

Aspecto citológico

- Presença de blastos tipo T ou B
- Maior frequência do tipo B
- Cromatina fina e uniforme
- Citoplasma escasso, azul pálido sem grânulos
- **Ausência** de Bastões de Auer

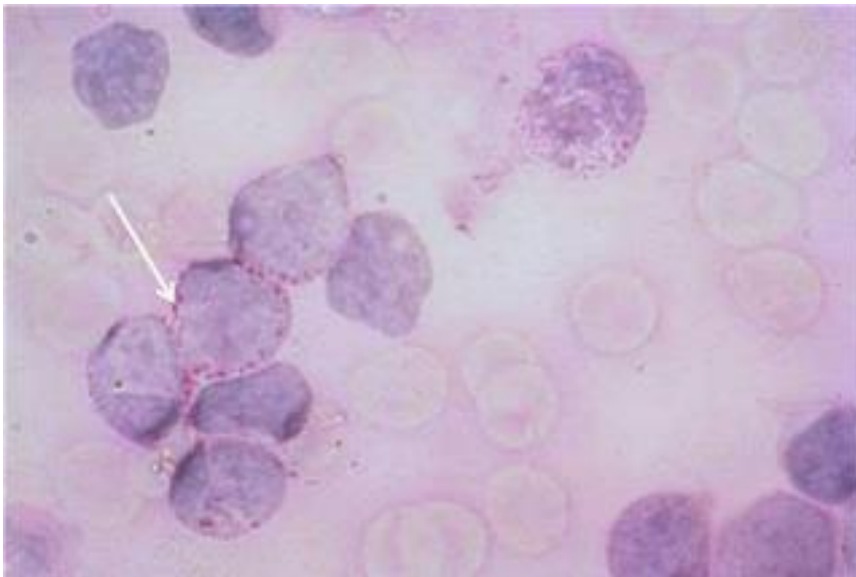
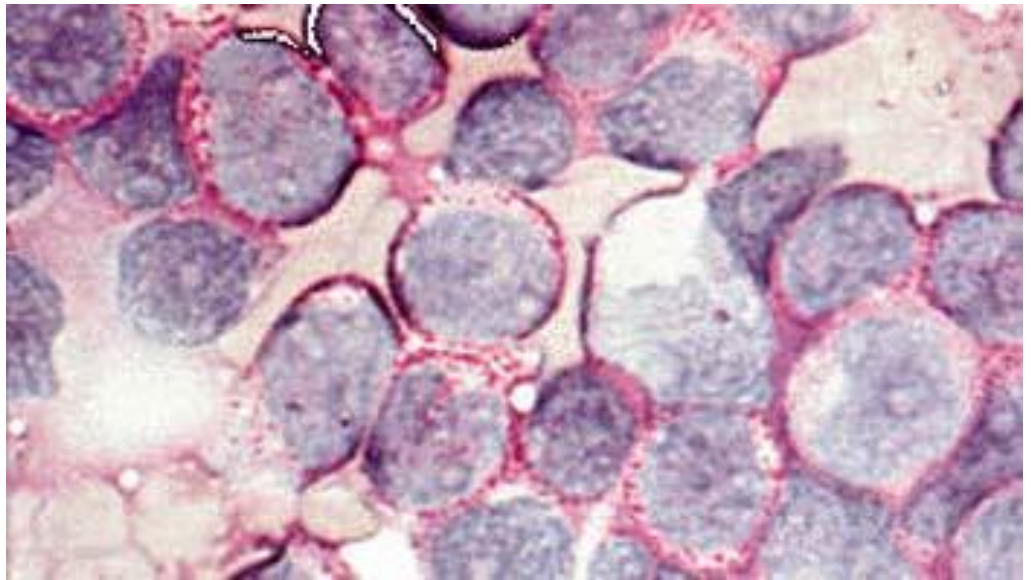
Diagnóstico laboratorial

- Mielograma : substituição das células normais pelas células leucêmicas – superior a 30%
- Provas citoquímicas
 - Negativos para peroxidase e Sudan Black
 - **Apresentam PAS e marcador nuclear TdT positivo**
 - Fosfatase alcalina dos Neutrófilos (NAP) é normal

Provas citoquímicas

- **PAS:** ácido periódico de Schiff
 - Reação positiva para presença de polissacarídeos e mucopolissacarídeos.
 - Identificação do glicogênio
 - Ácido periódico oxida os resíduos de glicose .
 - Aldeído produzido reage com reagente de Schiff produzindo coloração púrpura – magenta
 - Linfócitos e seus precursores são ricos em glicogênio citoplasmático positivando a reação com produção de coloração vermelha

PAS positivo



Diagnóstico laboratorial

- **Marcador nuclear TdT:**
 - Terminal deoxinucleotidil transferase
 - Enzima nuclear característica de precursores linfóides.
 - **Observada em células pré-B e linfoblastos T.**
Ausente em LB maduros
 - Utilização de anticorpo monoclonal marcado com fluoresceína
 - Realizada em esfregaço e examinada à fluorescência

Leucemia Linfóide Aguda

- Leucemias de bom prognóstico
 - Hiperploidia (maior 50 cromossomos)
 - Idade entre 2 a 10 anos
- Leucemias de mal prognóstico
 - Translocações: $t(8;14)$, $t(2;8)$, $t(8;22)$ e $t(4;11)$
 - $T(8;14)$ estão associadas a LLA do tipo L3
 - Idade inferior a 12 meses e adultos
 - Sexo masculino

Tratamento

- Quimioterapia:
 - Prednisona
 - Vincristina
 - L-asparaginase
- TMO

Leucemia Mieloide aguda

- Presença de mieloblasto
- Cromatina frouxa e nucléolos bem evidentes
- Ausência ou presença de poucas granulações citoplasmáticas
- Presença de Bastões de Auer que dão reações positivas com peroxidase e Sudan Black

LMA - OMS

- LMA com anormalidades genéticas recorrentes
- LMA com alterações relacionadas com mielodisplasia
- Neoplasias mieloides relacionadas com terapia
- Leucemia mieloide aguda
- Sarcoma mieloide (SM)
- Proliferações mieloides relacionadas com Síndrome de Down
- Neoplasia da célula dendrítica plasmocitoide blástica

Leucemia Mieloide Aguda

- Classificação FAB:

Leucemias Mieloblásticas Agudas

M0	LMA sem maturação nem diferenciação
M1	LMA sem maturação, com diferenciação limitada
M2	LMA com maturação parcial - GR
M3	Leucemia promielocítica aguda – GR
M4	Leucemia mielomonocítica aguda – MO
M5	Leucemia monocítica aguda - MO
M6	Eritroleucemia - ER
M7	Leucemia megacariocítica aguda - PL

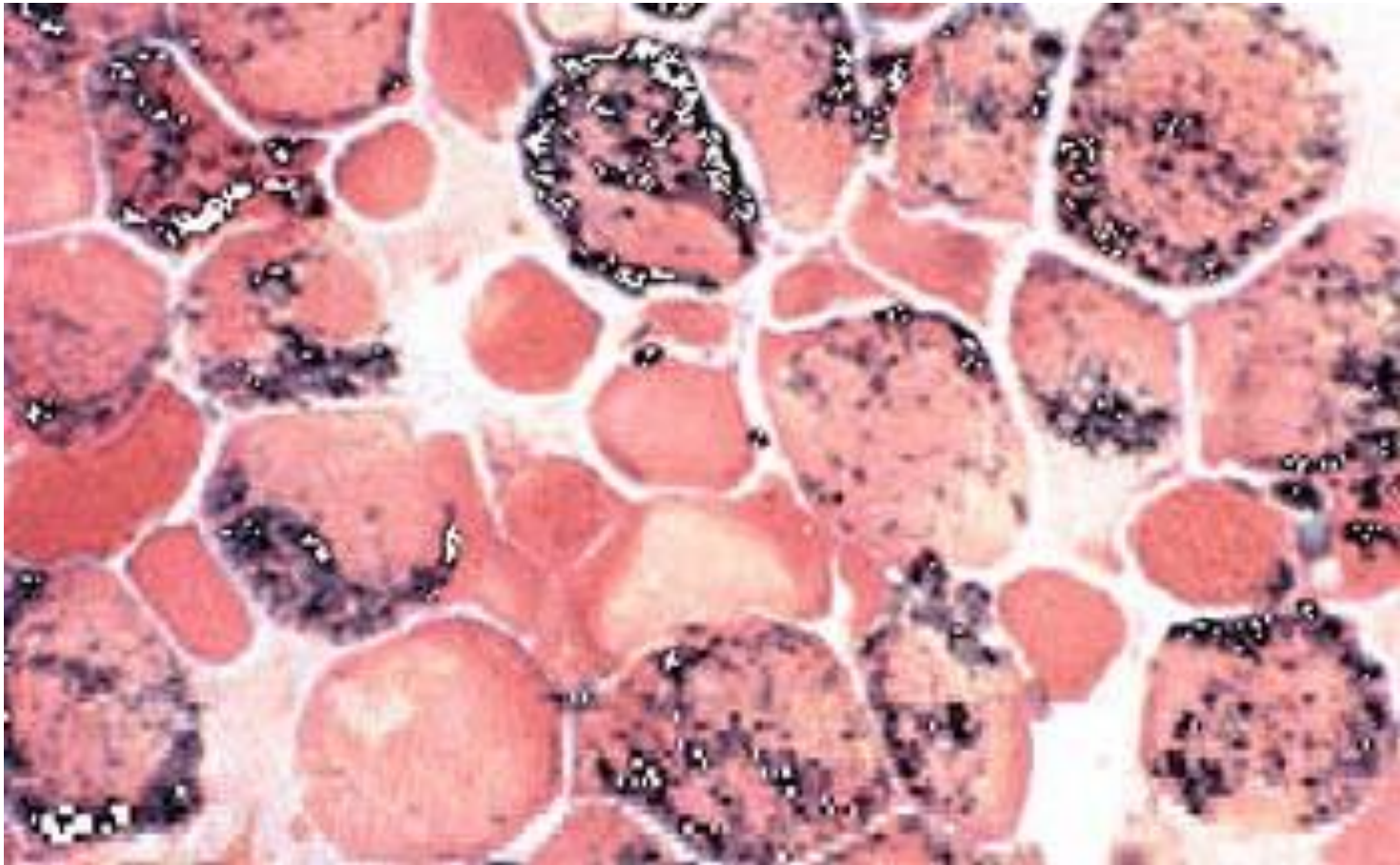
Provas citoquímicas

- **Peroxidase e Sudan Black positivos**
- PAS negativo exceto para precursores eritroides – M6
- TdT negativa
- Fosfatase alcalina dos neutrófilos é baixa (diferencia a reação leucêmica e reação leucemoide)

Provas citoquímicas

- **Peroxidase:**

- Enzima presente nas granulações primárias (azurófilas) das células da série mieloide
- Em presença de H_2O_2 , a peroxidase oxida a benzidina presente no reagente (que é incolor) tonando-a azul ou castanha .
- Realizada em esfregaço e analisada em objetiva de imersão.



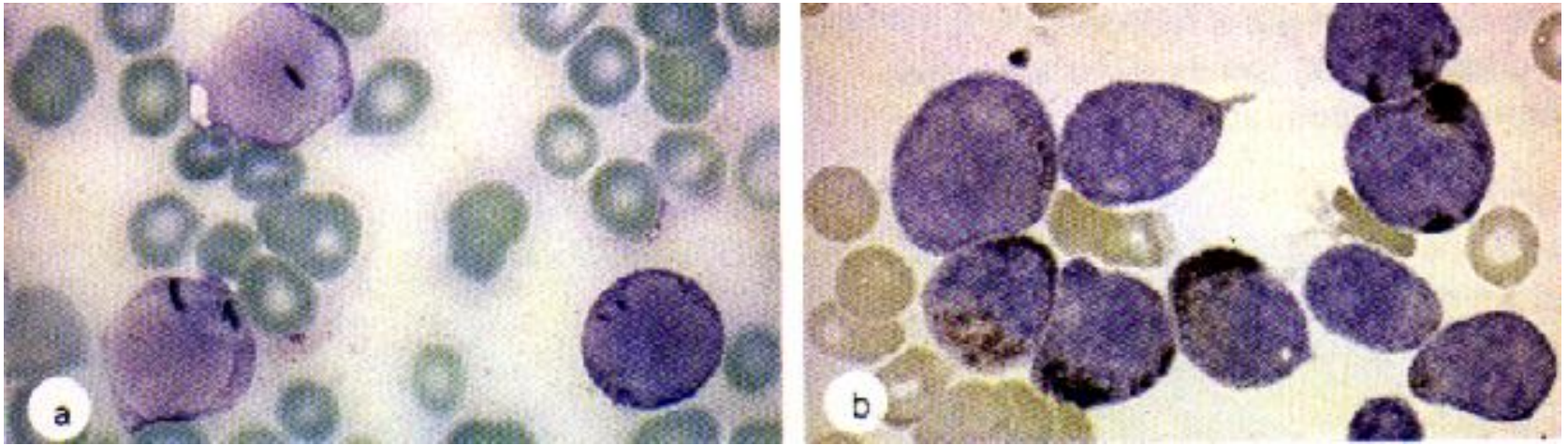
Peroxidase

Provas citoquímicas

- **Sudan Black:**

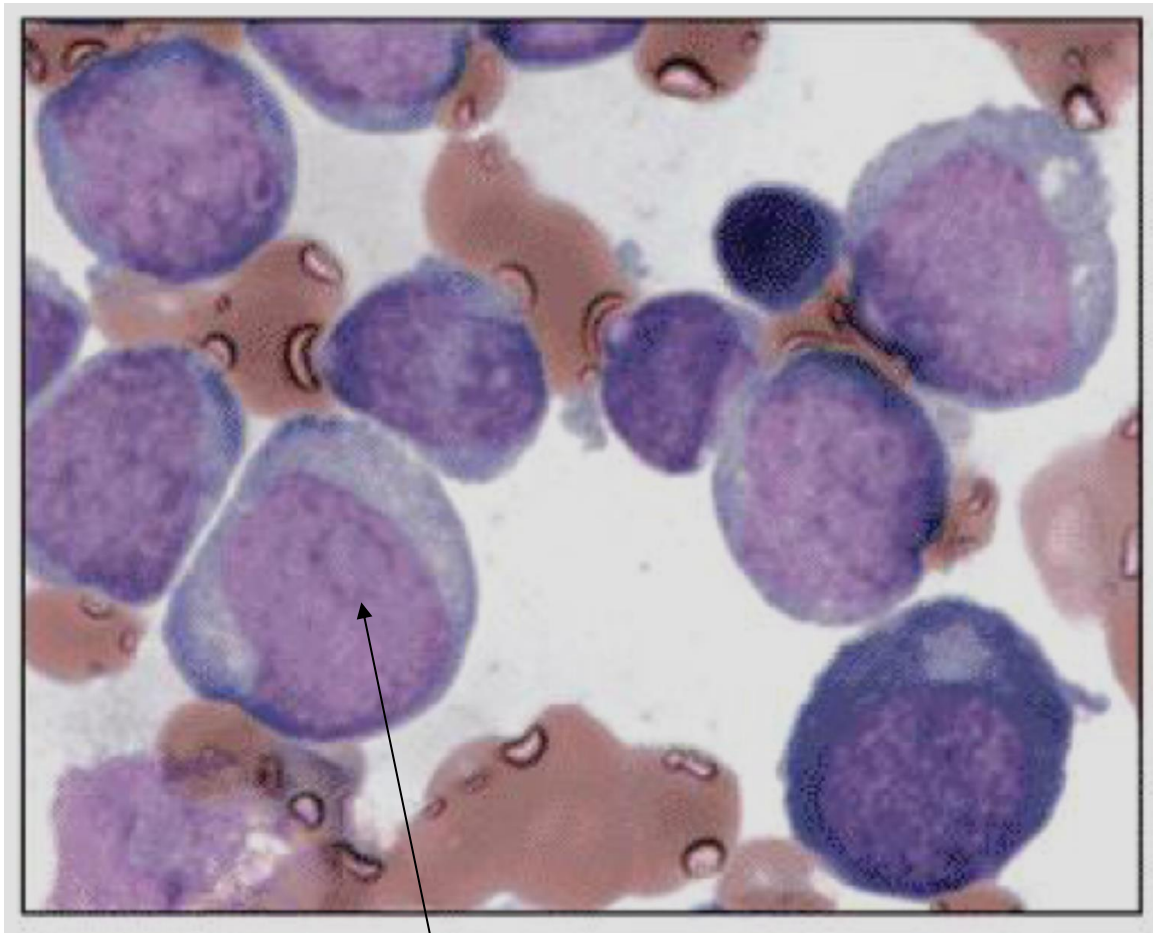
- Cora lipídeos e fosfolipídeos.
- Positivo para granulações azurófilas e específicas.
- Diferencia LLA e LMA
- Prova mais sensível do que a peroxidase
- Grânulos coram-se fracamente nos blastos e fortemente nos NE maduros

Coloração por Sudan Black



(a) Bastões de Auer

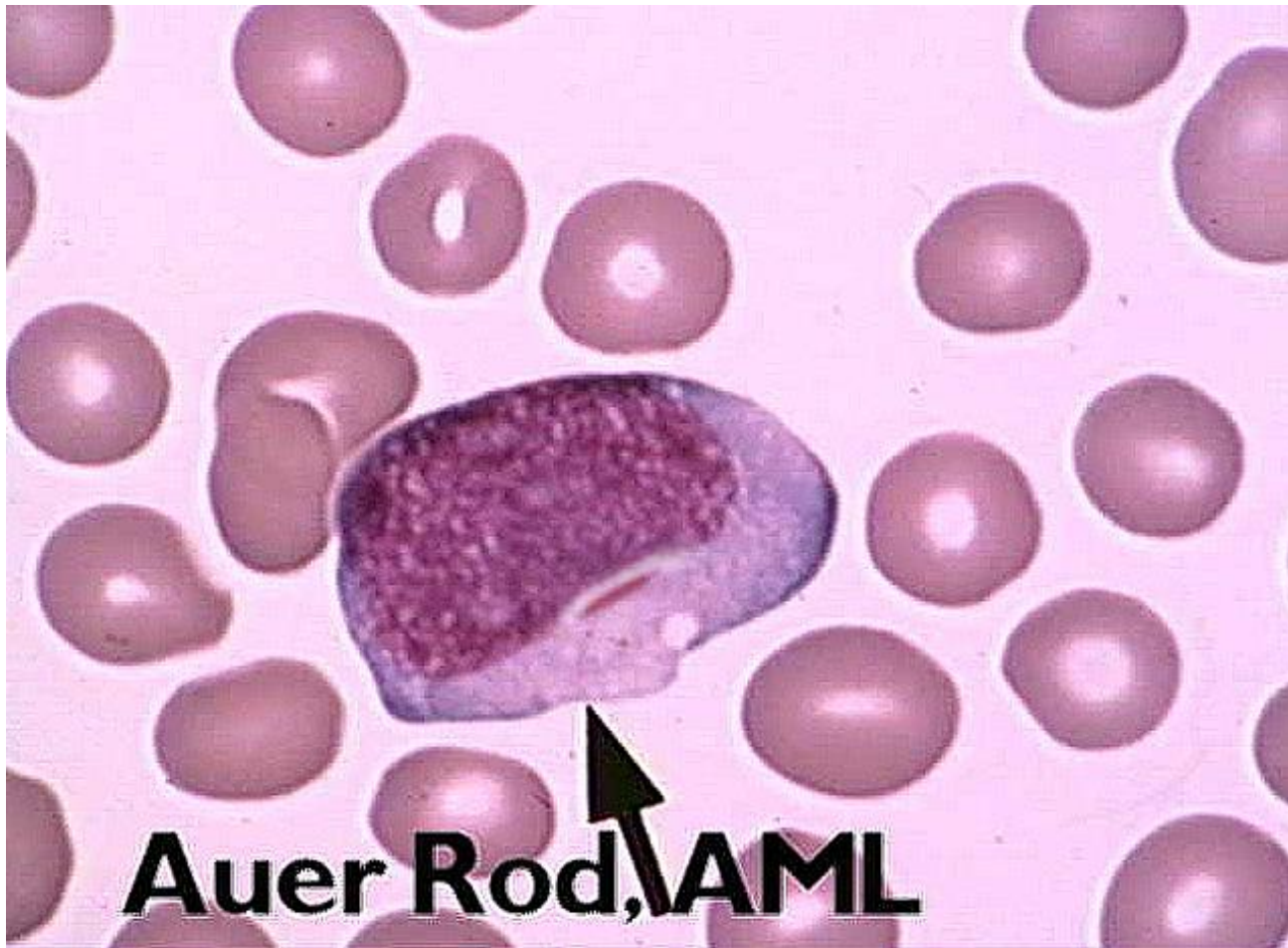
(b) grânulos citoplasmáticos



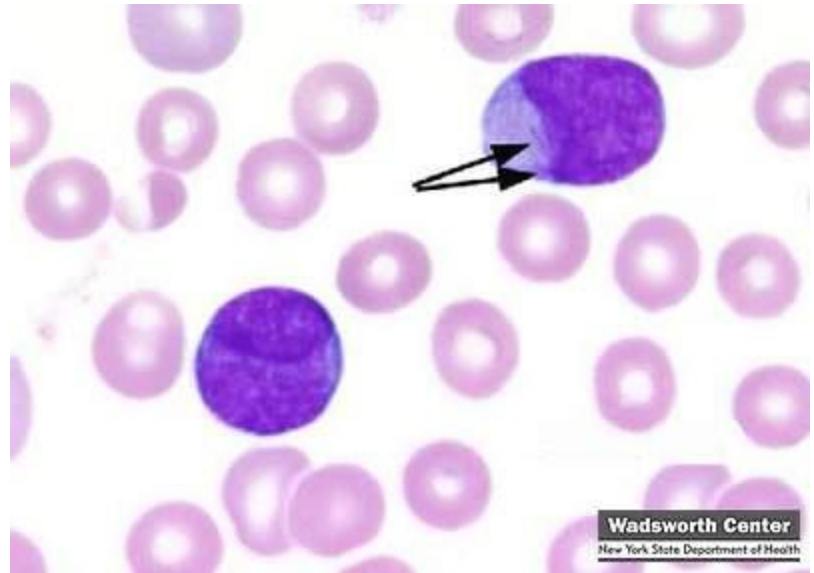
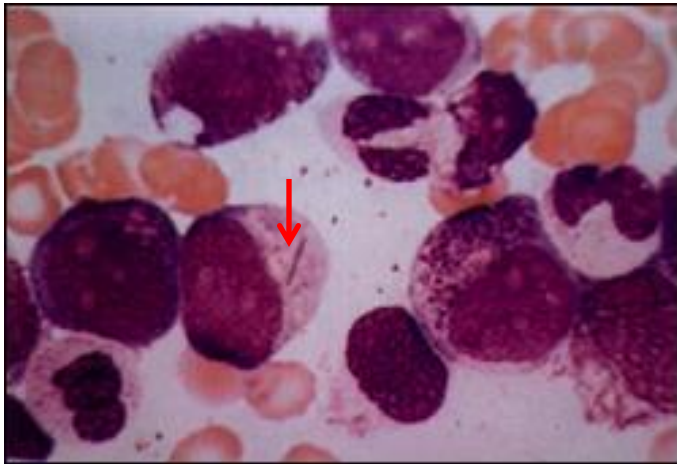
Nucléolo

Blastos (setas) na LMA

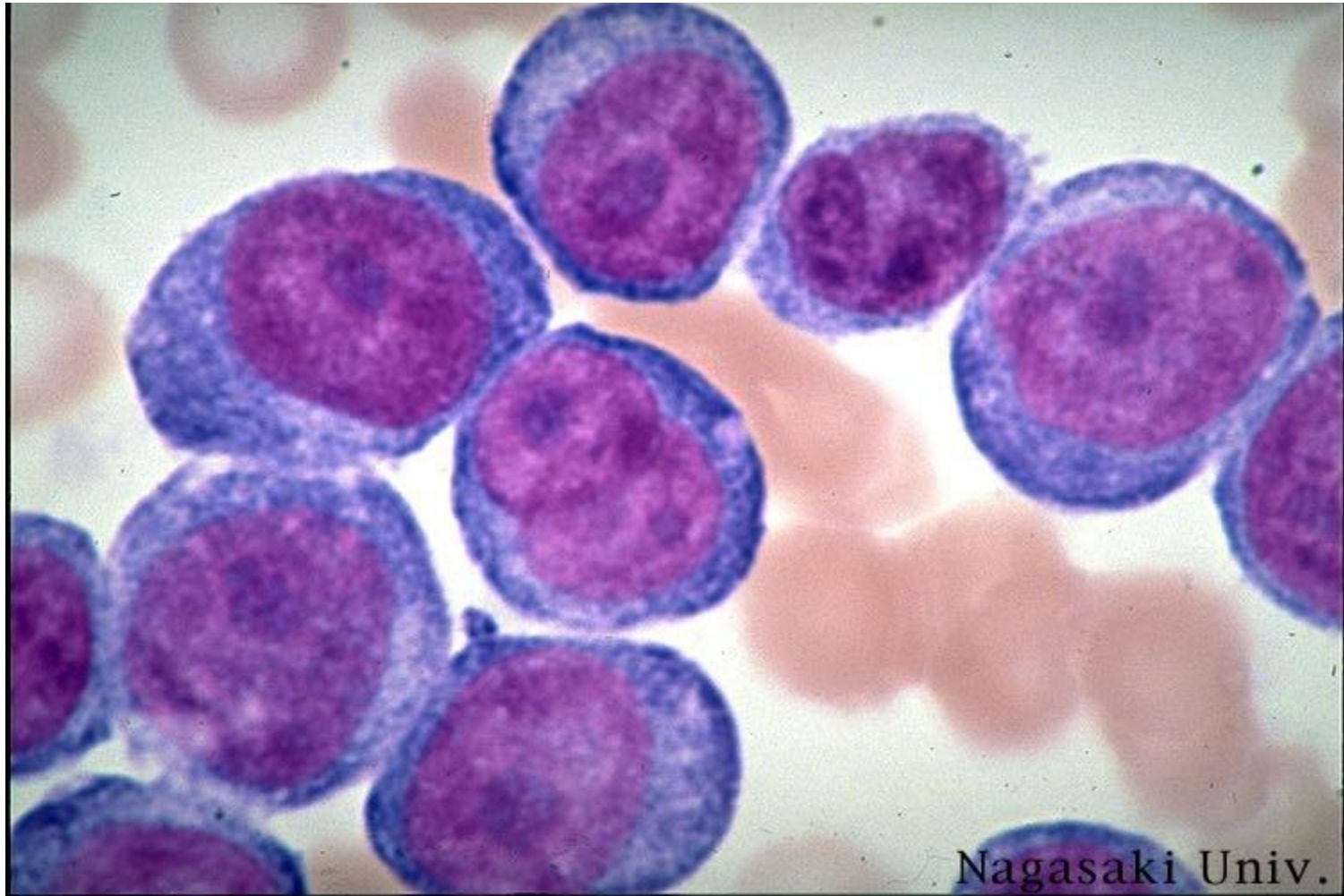
LMA



Leucemia Mieloide Aguda

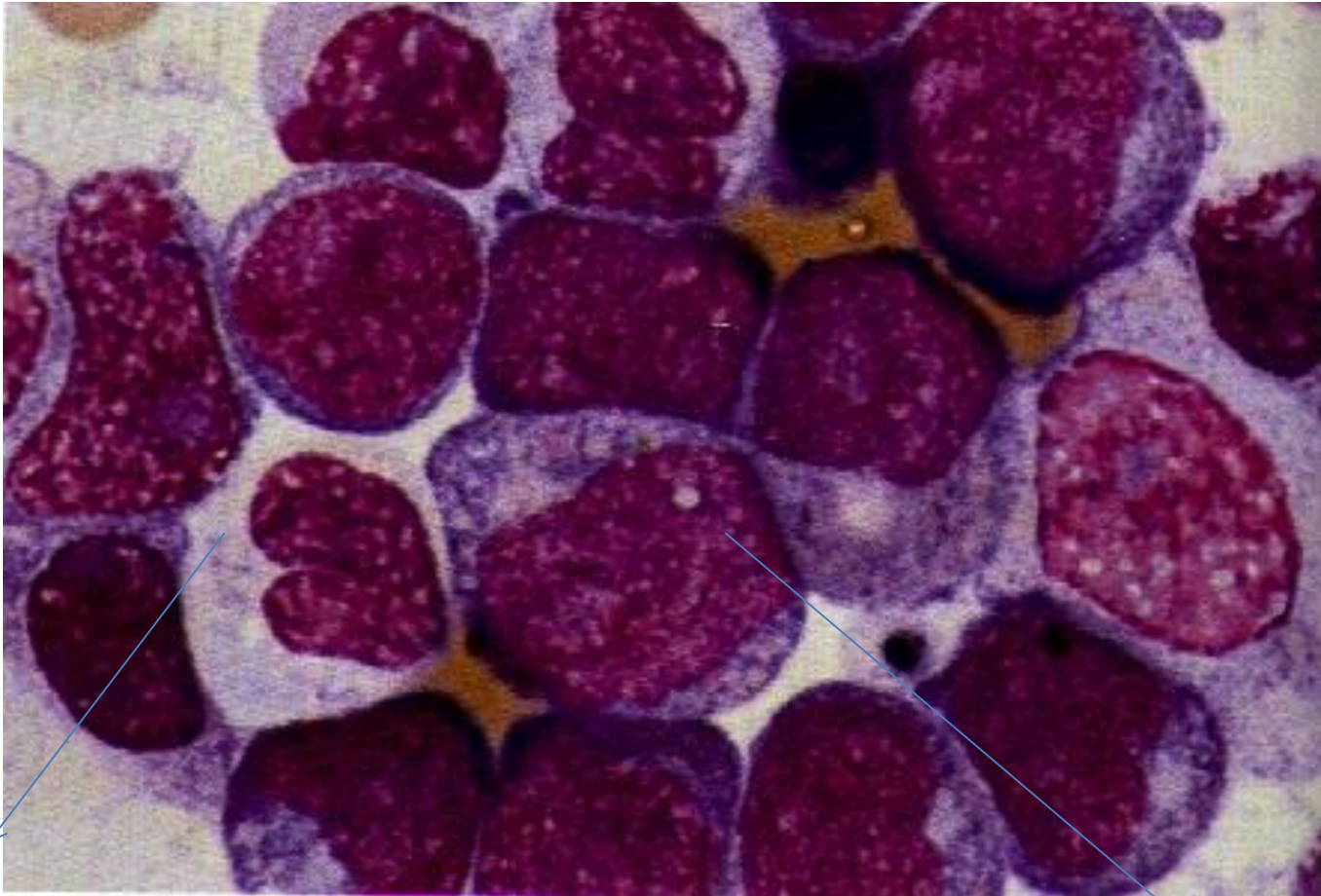


LMA



Nagasaki Univ.

Presença de grânulos e vacúolos citoplasmáticos
LMA-M2



mieloblasto

promielócito

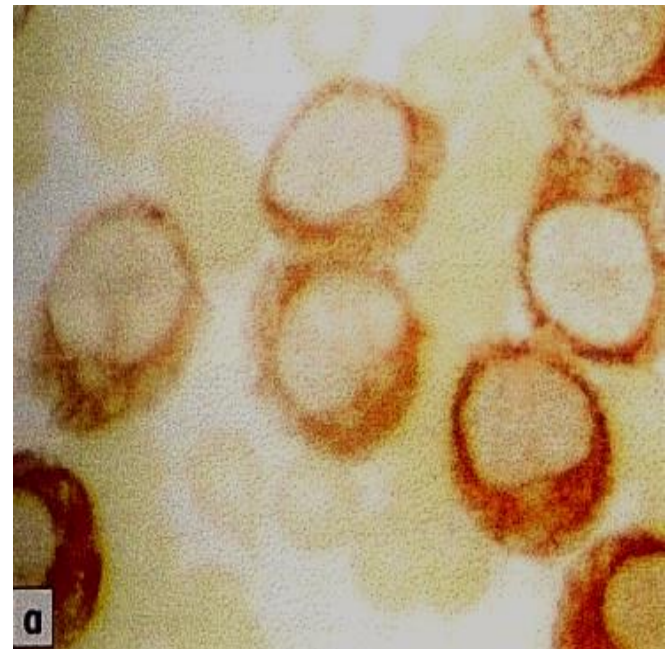
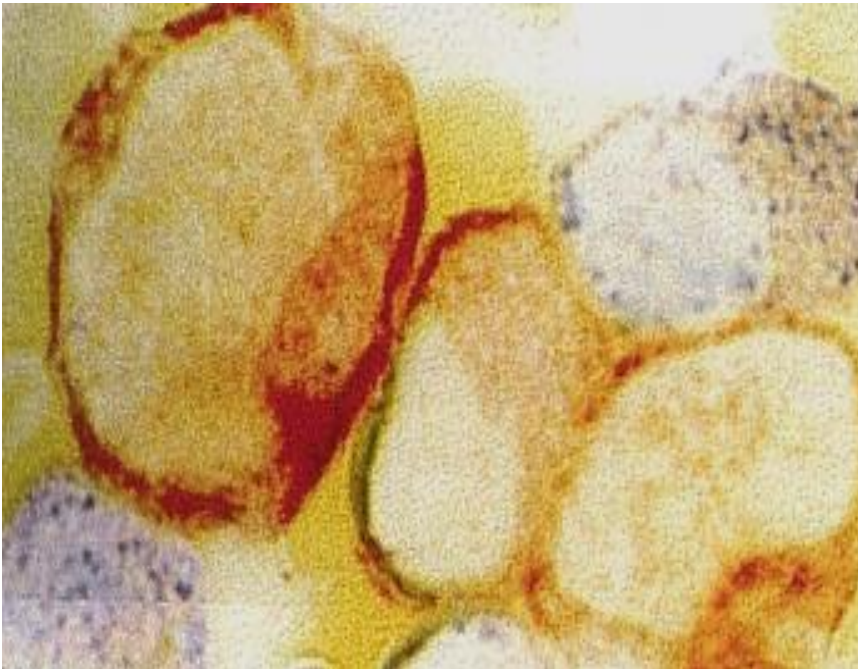
LEUCEMIAS AGUDAS

coloração	LMA	LLA
Ácido periódico de Schiff (PAS)	- (exceto M6)	+
Enzima nuclear (TdT)	-	+
Mieloperoxidase/peroxidase	+ (EXCETO M5, M7)	-
Sudan Black	+	-
Fosfatase alcalina dos neutrófilos (NAP)	baixa	normal

Citoquímica-

Esterases inespecífica e específica

- M4 presença de esterase específica para granulócitos - Cloro-acetato-esterase)
- M5 – presença de esterase inespecífica em Mo - alfa-naftil-butirato esterase



Citometria de fluxo

- Este teste é realizado em aparelhos automatizados capazes de qualificarem e quantificarem as células positivas, previamente tratadas com anticorpos monoclonais específicos. O resultado é emitido por meio de gráfico que identifica áreas compostas por diferentes células. O resultado positivo para determinado CD é identificado por uma área de cor vermelha onde se localizam as células que reagiram com os anticorpos monoclonais.

Marcadores

- Precursores hematopoéticos: CD 34, HLA-DR, Tdt e CD 45
- Linhagem B: CD10, CD 19, CD 20, CD 22 e CD 79a
- Linhagem T: CD 2, CD 3, CD4, CD 5 e CD 7
- Linhagem mieloide: CD 13, CD33, CD 15, MPO e CD 117
- Linhagem monocítica: CD14, CD11c e CD64
- Linhagem eritroide; CD71 e glicoforina A
- Linhagem megacarioblástica: CD 41 e CD42.

Tratamento

- Indução da remissão
 - Remissão total (quimioterapia): ausência de blastos no sangue periférico e 5% blastos na MO
- Tratamento pós indução
 - Manutenção da quimioterapia menos agressiva
- Consolidação da remissão:
 - 2 a 6 ciclos de quimioterapia com intervalo mínimo de 2 semanas
- **A maioria dos pacientes que atingem a remissão completa, recindiram se não receberam a quimioterapia de consolidação.**

Tratamento

- Drogas
 - Citarabina (Ara-C)
 - Daunomicina
 - Tioguanina

TMO

- Recomendado para jovens com menos 30 anos.
- TMO singênico, alogênico e autólogo (coletado na RC).
- Realizado após mielossupressão total e irradiação corpórea total.
- Transplante de células indiferenciadas do sangue periférico ou por punção medular na crista ilíaca de doador
- Realização de concentrado e administração endovenosa para receptor.

TMO

- Falha no procedimento:
 - Falha na esterilização da medula óssea pela quimioterapia com focos de células leucêmicas residuais.
 - Presença de células residuais no material a ser transplantado (autólogo).
 - Lesão do estroma medular pela quimioterapia agressiva previa ou por irradiação excessiva.

Leucemias Crônicas

- Proliferação de células maduras.
- Série linfóide ou mieloide.
- Rara antes dos 40 anos.
- Mais comum no sexo masculino.
- Sinais comuns:
 - Esplenomegalia na mieloide
 - Adenopatia na linfóide (cervical , suclavicular e axilar)
 - Anemia em ambas.
 - Desenvolvimento de quadros infecciosos por agentes oportunistas

LLC



INVASÃO DE LINFONODOS

Leucemia Linfóide Crônica

- Proliferação das células linfóides maduras , mas imunoincompetentes.
- Quadro clínico mais benigno
- Pode ser assintomática
- Evolução lenta
- Raras formas blásticas
- Células mais resistentes a morte celular

LLC

- 50% está relacionada a trissomia do 12 com produção do oncogene K-Ras
- Translocações e inversões envolvendo cromossomo 11 e 14
- Deleções do cromossomo 3
- Tipo T relacionada com HTLV-I (Leucemia de célula T do adulto - flower cells)

LLC

- Podem causar alteração nas células NK que passam a reconhecer antígenos próprios.
- Aumento da incidência de ac antieritocitários, antileucocitário e antiplaquetário.
- 90% do tipo B.
- Diminuição da produção de anticorpos pelo aumento da produção da cadeia leve com diminuição na produção das cadeias completas.

Leucemia Linfoide Crônica

- Estadiamento segundo Rai (1975)
 - **Estádio O:** Linfocitose absoluta ($\geq 15.000/\text{mm}^3$) sangue periférico. MO: $>40\%$ linfócitos maduros
 - **Estádio I:** linfocitose e aumento linfonodos
 - **Estádio II:** linfocitose e aumento fígado. Linfonodos podem ou não estar aumentados
 - **Estádio III:** Linfocitose e anemia ($\text{Hb} < 11 \text{ mg/dL}$ e $\text{Ht } 33\%$). Linfonodos, baço e fígado podem ou não estar aumentados
 - **Estádio IV:** Linfocitose e plaquetopenia. Anemia e organomegalia podem estar presentes.

Leucemia Linfoide Crônica

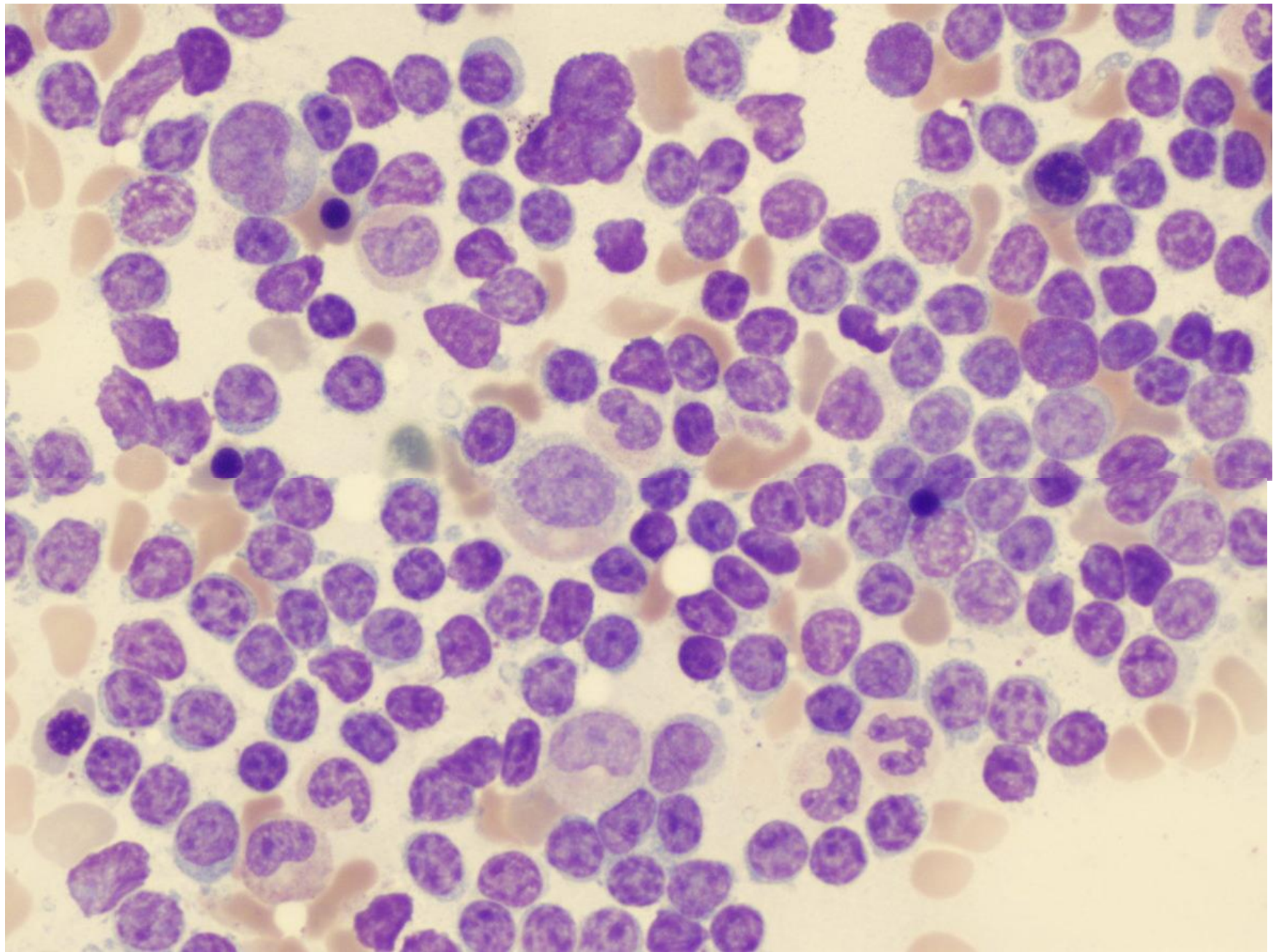
- Estadiamento segundo Binet e Cols – 1981
 - Baseado nos níveis de hemoglobina, contagem de plaquetas e número de áreas ganglionares aumentadas de tamanho.
 - **Estádio A** :Hb $\geq$ 10mg/dL; Plaq. $\geq$ 100.000 e crescimento de 0 a 2 áreas linfóides
 - **Estádio B** :Hb $\geq$ 10mg/dL; Plaq. $\geq$ 100.000 e crescimento de 3 a 5 áreas linfóides
 - **Estádio C**: Hb $<$ 10mg/dL, Plaq. $<$ 100.000 e crescimento de qualquer número de áreas linfóides

Diagnóstico

- Hemograma:
 - Leucócitos aumentados: 30 a 200.000/mm³
 - Raros pró-linfócitos ou linfoblastos
 - Anemia
 - Trombocitopenia e granulocitopenia
- Mielograma:
 - Infiltração medular de linfócitos – 40% das células
 - Pode apresentar edema intersticial, necrose e hemorragias.

Diagnóstico

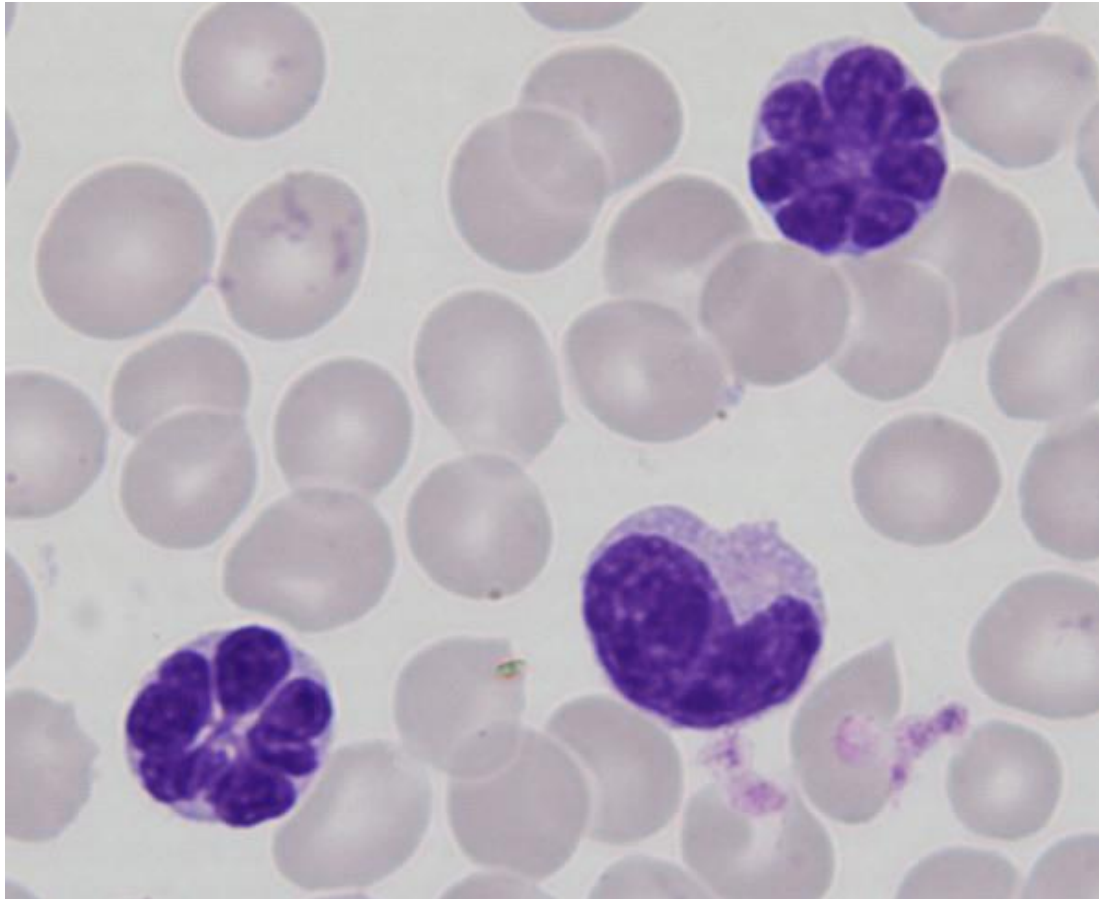
- Dosagem de imunoglobulinas
 - Imunoglobulinemia
 - Produção exagerada de cadeia leve pode ser visualizada no interior das células.
- Marcadores imunológicos (diferenciação de T e B)
 - Pesquisa de antígenos de superfície para diferenciação entre as linhagens T e B
 - Marcadores da linhagem B: SIg (imunoglobulina de superfície), CD19, CD 24
 - Marcadores da linhagem T: CD2 e CD5



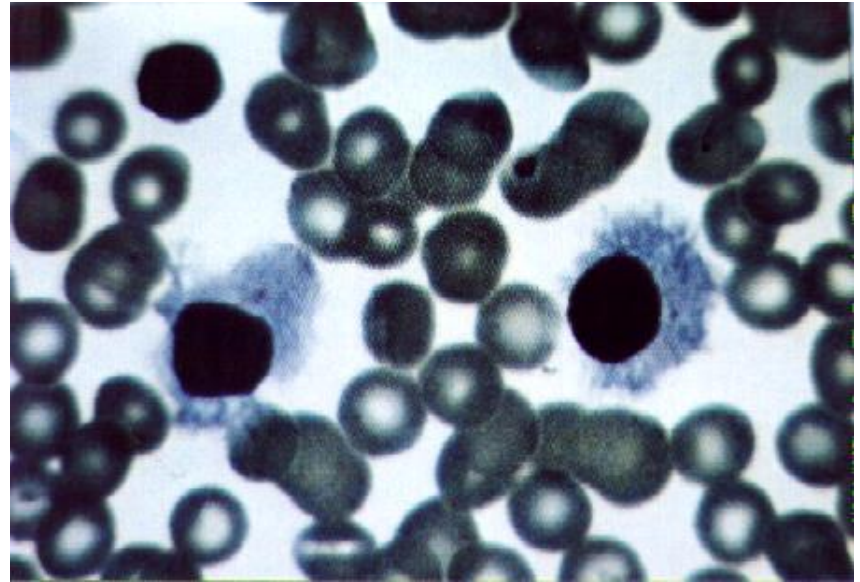
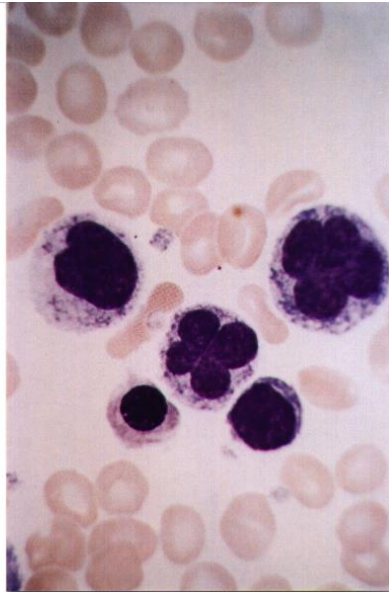
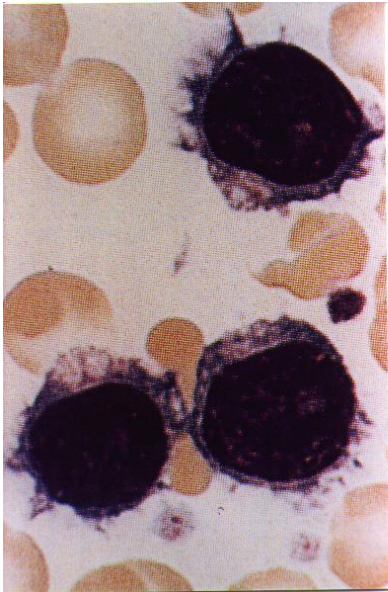
Outras LLC

- Diferenciam-se da LLC através de marcadores encontrados na imunofenotipagem ou histologia de biópsia linfonodal.
 - Leucemia de linfoma de células T do adulto
 - Leucemia das células cabeludas, Hairy cell ou leucemia de células pilosas – LB
 - Síndrome de Sézary – LT (núcleo cerebelar)
 - Leucemia de linfócitos granulares - LT

Leucemia de linfoma de células T do adulto Flower Cell

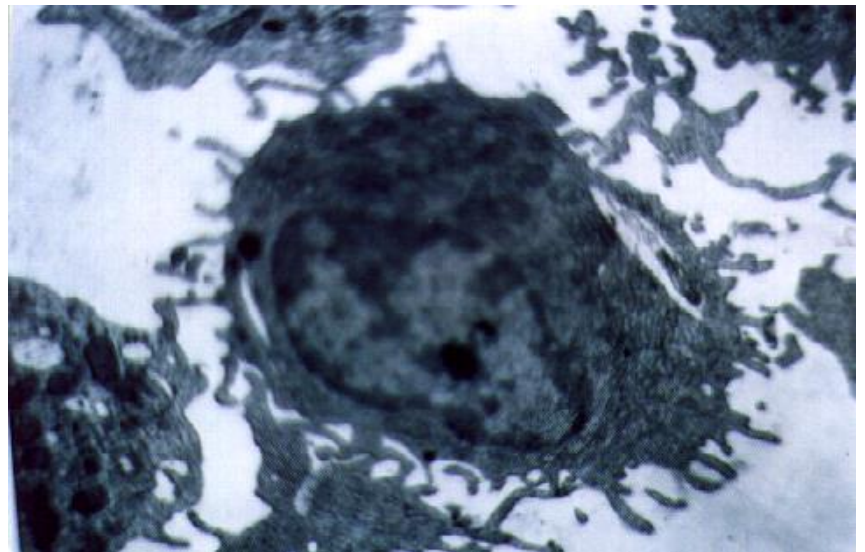


Relacionada a infecção por HTLV-1

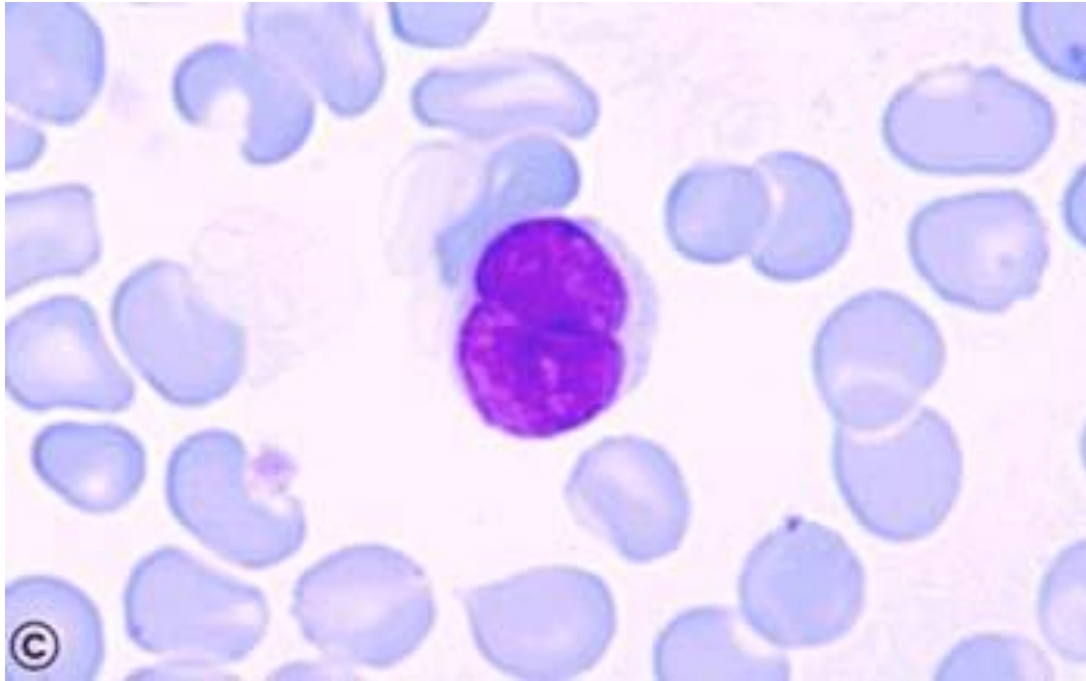


**Leucemia de Células pilosas
ou cabeludas**

**Prova da fosfatase ácida tartarato
resistente**

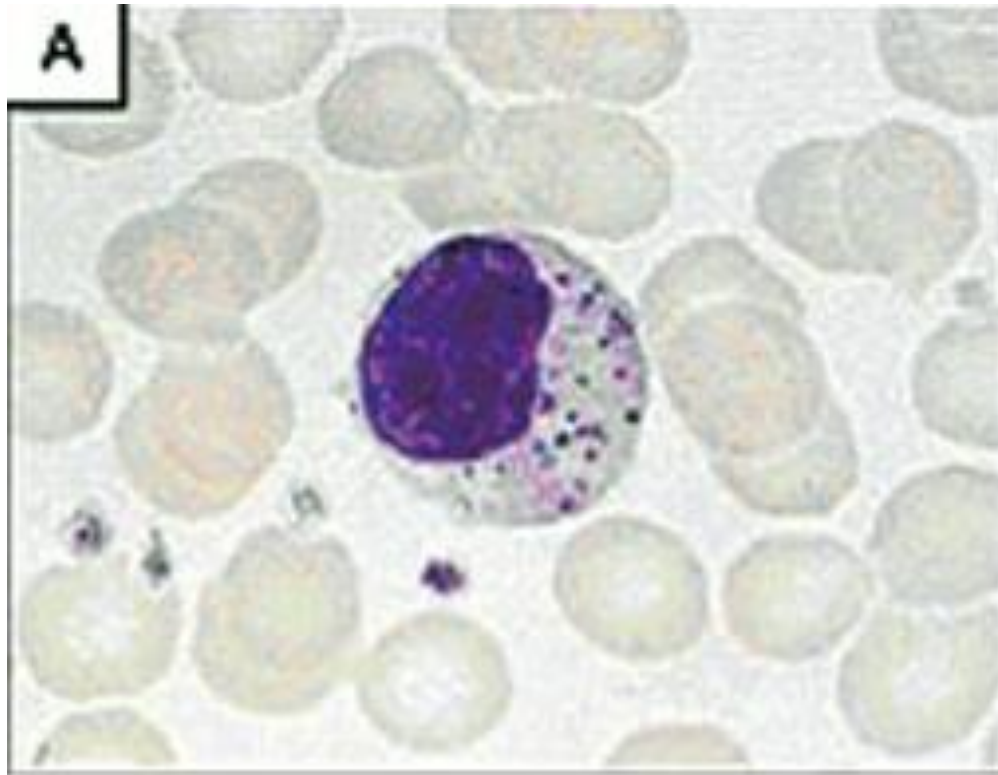


Síndrome de Sézary



Núcleo em forma cerebelar e cromatina de coloração azul escuro

Leucemia de linfócito granulares



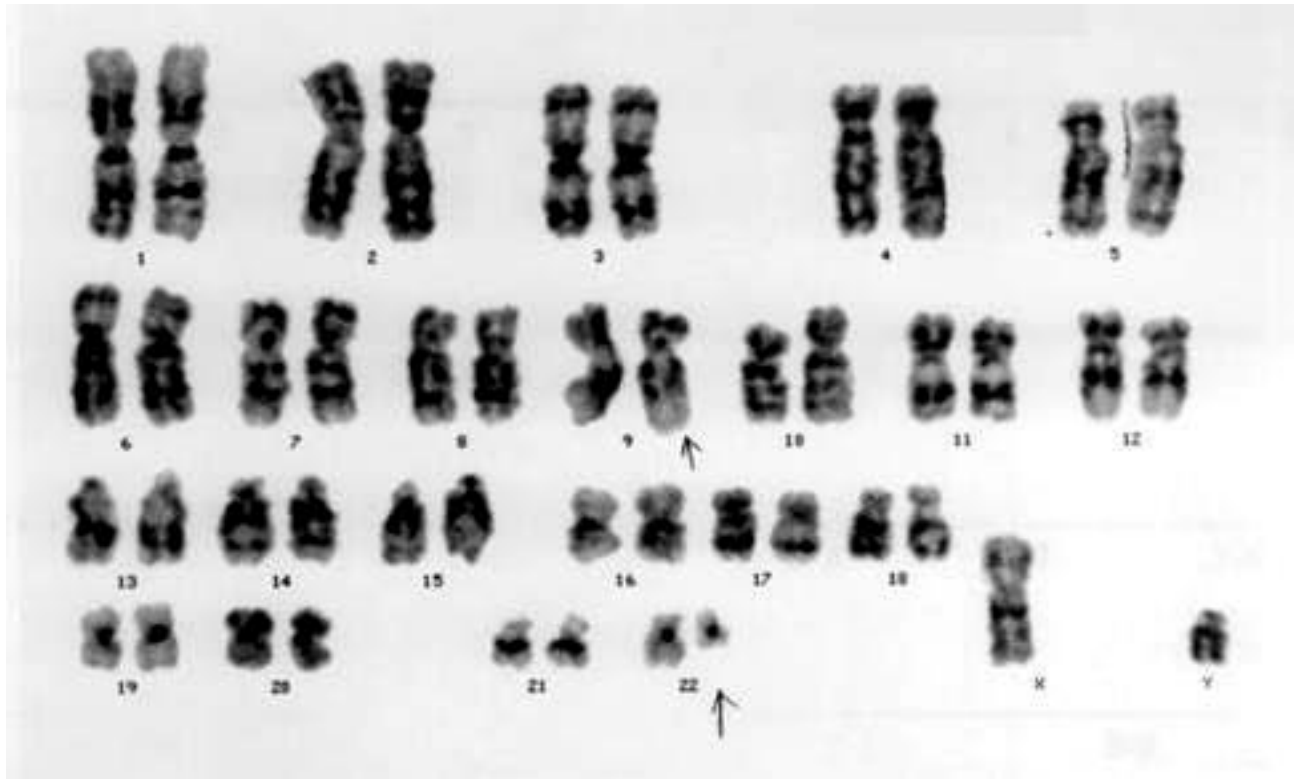
Leucemia mieloide crônica

- 95% pacientes apresentam o cromossomo Philadélfia
- Translocação $t(9;22)(q34.1;q11.21)$
- Produção de gene híbrido (bcr-abl) que codifica proteína tirosina quinase – p190 e p210
- Interferência no ciclo celular com proliferação e diferenciação descontrolada.

Leucemia mieloide crônica

- São responsáveis aos fatores estimulantes da diferenciação.
- Possuem sobrevida mais longa.
- As células exibem citoplasma maduro , mas núcleo jovem com presença de nucléolos.

Cromossomo Philadelphia (Ph)



LMC

- Características da **LMC**:
 - Dividida em 3 fases:
 - Fase crônica
 - Fase de aceleração
 - Crise blástica

Fase crônica

-  leucócitos (10-100x) de células maduras
-  Fosfatase alcalina
- Cromossomo Philadelphia
- *Bcr-Abl – tirosina quinase*
-  LDH, ácido úrico e vit B12.
- Hiperplasia granulocítica e megacariocítica
– 50.000 a 300.000 leucócitos / mm³
- Responsividade a terapia

Fase acelerada

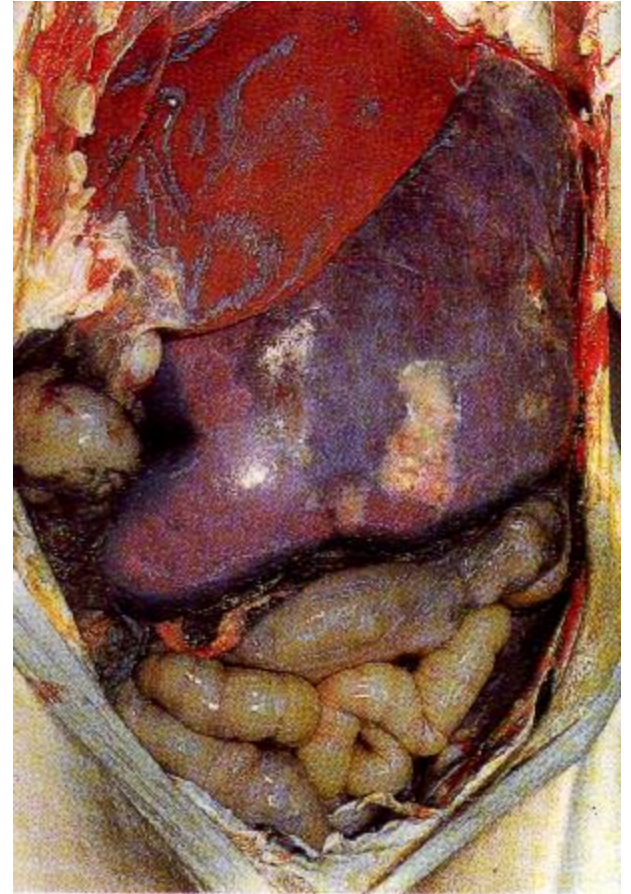
- Perda da capacidade de diferenciação
- Presença de blastos na circulação
- Hepato-esplenomegalia
- Sintomas acentuados
- Resistência à terapêutica

Fase blástica

- Crise blástica ou transformação em aguda
 - Refratária ao tratamento;
 - ~ 30% blastos;
 - Invasão de órgãos.

LMC

Invasão de massa tumoral leucêmica no
Baço de paciente com Leucemia
Mielóide Crônica (LMC)



Diagnóstico laboratorial

- Hemograma
 - Hiperleucocitose – 50.000 a 200.000/mm³
 - Pseudo desvio a esquerda sem ordem de maturação
 - Predominância de neutrófilos e mielócitos
 - Falta do metamielócito – hiato leucêmico
 - Anemia
 - Trombocitose

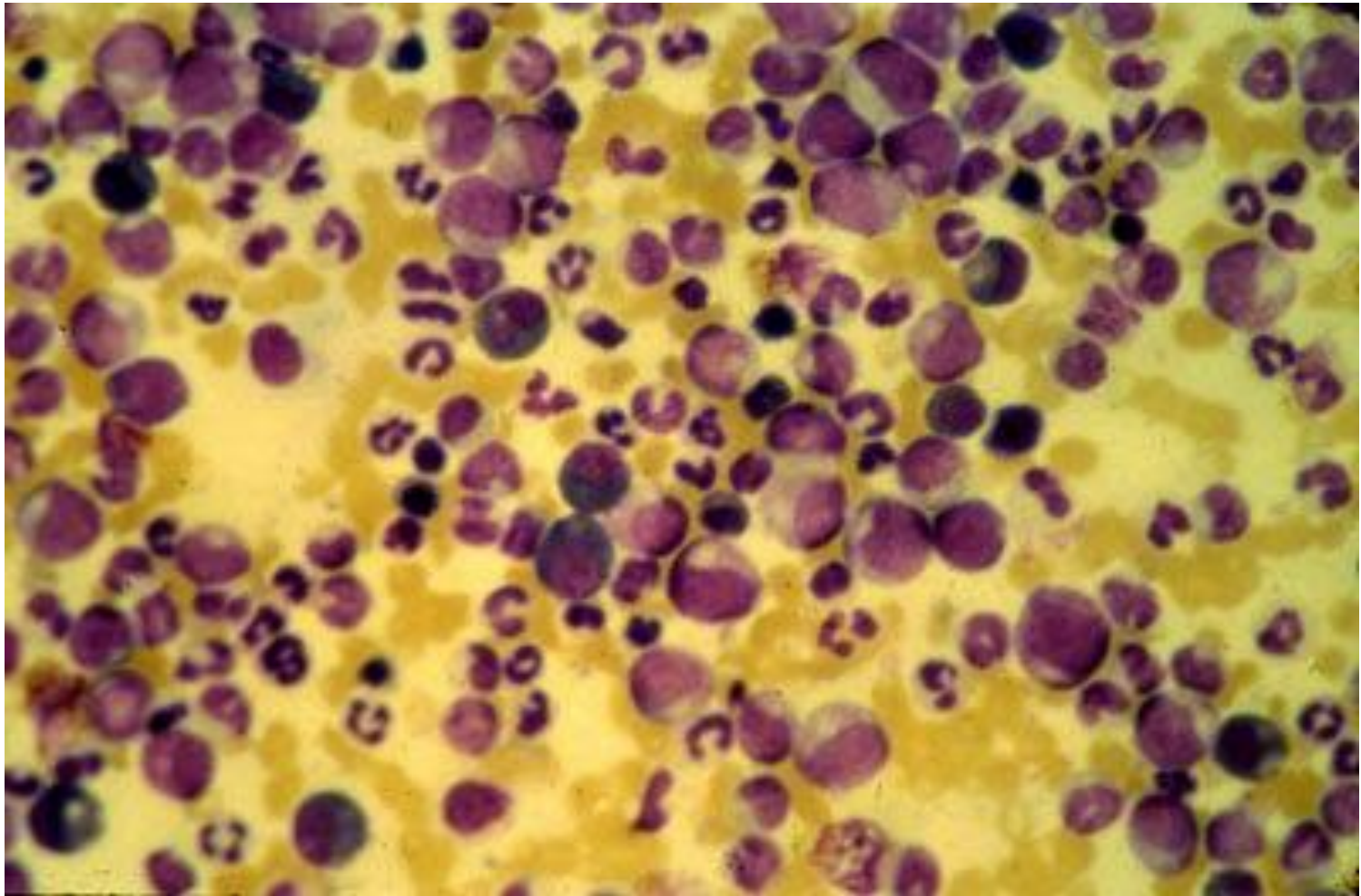
Diagnóstico laboratorial

- Mielograma
 - Hiperplasia granulocítica (80 a 95%)
 - Menos de 20% de pró-mielócitos e mielócitos
- Fosfatase alcalina dos neutrófilos baixa ou ausente
- Aumento da vitamina B12 sérica.

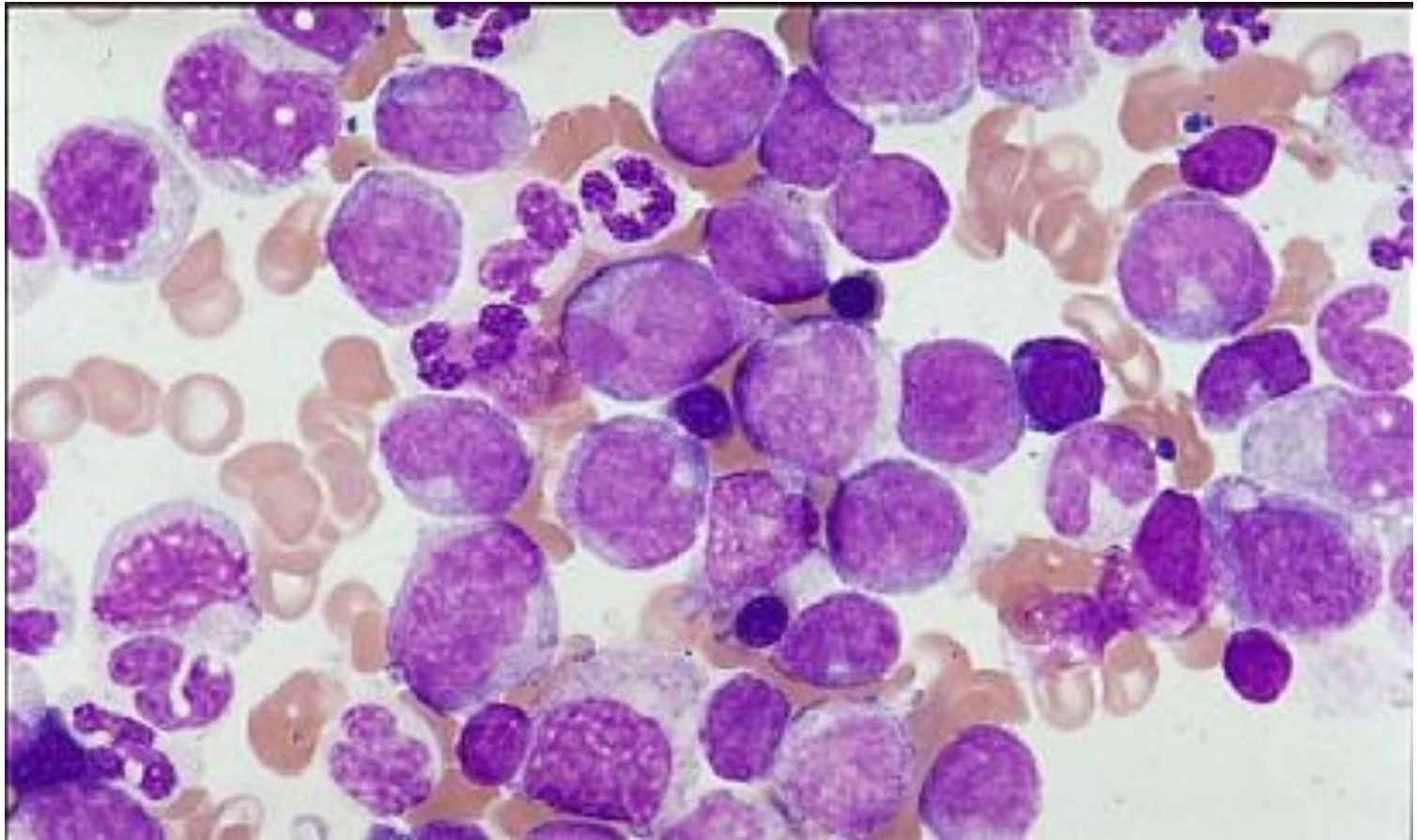
Tratamento

- Utilização de drogas antiproliferativas:
 - Hidroxiuréia para mielossupressão– inibição da síntese de DNA
 - IFNa: supressão do cromossomo Philadelphia
 - Mesilato de imatinibe / **Gleevec** (comercial)
 - **Nilotinib**
 - remissão completa hematológica e citogenética, mesmo em pacientes na fase acelerada ou crise blástica da doença.
 - é um **inibidor da tirosina quinase** induzida pelo gene bcr/abl.
- TMO – transplante de medula óssea

LMC



LMC



REAÇÃO LEUCEMOIDE

- GB: 30 a 60.000/ mm³
- Neutrófilos: D.E. escalonado
Granulações tóxicas
Fosfatase alcalina **aumentada**
- Eosino**penia** e baso**penia**
- Anemia quando presente: normocítica e normocrômica
- Trombocito**penia** ou trombocitose
(morfologia normal)

REAÇÃO LEUCÊMICA

- GB: 20 a 500.000/ mm³
- Neutrófilos: D.E. não escalonado
Granulações tóxicas
Fosfatase alcalina reduzida ou ausente
- Eosinofilia
- Basofilia
- Anemia normocítica e normocrômica
- Trombocitose ou normal (morfologia gigante)

Acabou?



Até a próxima aula!