

Leucemia Mielóide Crónica — A Propósito de um Caso Clínico

ABRÃO ESAGÜY*, LUÍS VIEIRA**, PAULA AMBRÓSIO**, MARGARIDA BOAVIDA**

* Serviço de Pediatria — Unidade de Hemato-Oncologia — Hospital de Santa Maria, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa

** Departamento de Genética Humana — Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge Lisboa

Resumo

Algumas considerações a propósito de um caso clínico, numa criança de sete anos de idade, com leucemia mielóide crónica (LMC) tipo adulto. As características clínicas e hematológicas, bem como a favorável resposta ao interferon $\alpha 2a$ (rIFN $\alpha 2a$), foram fortemente sugestivas do diagnóstico. A doença é rara na criança, 3 a 5% das leucemias infantis, e em 90 a 95% dos casos é caracterizada pela existência do cromossoma Philadelphia (Ph') positivo.

Na presente situação, não foi visível o cromossoma de Philadelphia nem qualquer outra anomalia cromossómica, sendo a demonstração de um rearranjo genético bcr/abl, a única evidência da translocações envolvendo os cromossomas 9 e 22. Os excepcionais casos (Ph') variantes ou negativos, bcr/abl positivos têm evolução e resposta terapêutica sobreponível aos casos clínicos (Ph') positivos, como sugere a presente descrição.

Palavras chave: Criança, leucemia mielóide crónica tipo adulto, cromossoma de Philadelphia, rearranjos bcr/abl.

Summary

Some considerations concerning a clinical case of an adult form of chronic myelogenous leukaemia (CML) in a seven years old child. The clinical features, hematological parameters and a favorable response to alpha interferon (rIFN $\alpha 2a$) bore a strong resemblance to the cases of chromosome Ph' positive CML.

The disease is rarely seen in the pediatric years, accounting for only 3 to 5% of cases of childhood leukemia. About 90 to 95% of patients are (Ph') positive. The present case had no evidence of the (Ph') or other cytogenetic abnormalities but a bcr/abl rearrangement was detected and represented the only evidence of the translocation involving chromosomes 9 and 22.

Key-words: Child, chronic myelogenous leukaemia adult form, Philadelphia chromosome, abl/bcr rearrangement

Introdução

A LMC é uma doença mieloproliferativa clonal da célula primitiva hematopoiética atingindo as diferentes linhagens sanguíneas mas excluindo os fibroblastos medulares⁽¹⁾. Ao contrário dos adultos onde constitui 25% do total das leucemias é rara na criança, 3 a 5%, e surge habitualmente após os quatro anos de idade, na forma tipo adulto, como é a do presente caso⁽²⁾.

A evolução habitual é lenta, cerca de três anos, vindo a acontecer na grande maioria dos casos uma transformação blástica final, precedida ou não de uma fase acelerada, nem sempre bem perceptível.

As características da medula óssea, pela sua hiperplasia e hiperplasia granulocítica, de diferenciação celular terminal mantida e consequente aumento do número de neutrófilos maduros circulantes, tal como a clínica, permite um diagnóstico de grande probabilidade⁽²⁾. Para a sua confirmação é necessária a identificação do cromossoma de Philadelphia possível em 90 a 95% dos casos de LMC⁽³⁾.

Na situação presente, a análise citogenética revelou um cariotipo normal sem evidência de cromossoma Ph' ou de qualquer outra anomalia. Cariotipo medular 46, XY. Nos 5 a 10% de

casos em que não é visível o Ph' é necessário efectuar estudos moleculares.

No presente caso, a análise molecular por amplificação enzimática do cDNA (RT-PCR) revelou um único fragmento de amplificação de 385 pb⁽⁴⁾; este fragmento é compatível com um dos produtos de transcrição do gene híbrido bcr/abl na junção b2 a2. A análise da sequência nucleotídica do fragmento amplificado⁽³⁾ confirmou a natureza do cDNA híbrido.

Tal como nos casos de Ph' positivo, forma clássica de translocação t(9;22) (q34;q11), o novo híbrido oncogénio produz um mRNA quimérico de 8,5kb⁽⁶⁾ responsável pela formação duma proteína de fusão (p210) de 210kd⁽⁷⁾ que é expressa tanto na fase crónica como na fase blástica, e que possui uma actividade aumentada da tirosina-kinase em relação íntima com a malignidade celular⁽¹⁾.

Não é do nosso conhecimento qualquer publicação na literatura nacional infantil da situação apresentada, em parte pela sua extrema raridade e em parte pela habitual dificuldade de acesso a estudos moleculares desta índole.

Caso Clínico

I. B. P., sexo masculino, 7 anos, raça negra, natural e residente em Angola.

Em 3/9/93 transferido do Hospital de Luanda por leucemia mielóide crónica (?). Doença actual: criança aparentemente sau-

dável até Novembro de 1992 quando inicia um quadro febril com repercussão no estado geral (astenia, anorexia e emagrecimento) e aumento do volume do abdómen. No Hospital de Luanda é observada palidez e hepatoesplenomegália e o exame do sangue periférico revela anemia acentuada e uma hiperleucocitose de 355.000 mm³. É considerada a possibilidade de uma leucemia, vindo a criança a ser transferida para o Serviço de Pediatria do HSM, onde é internada em Setembro de 1993.

O exame objectivo à entrada apresentava uma criança desnutrida, pálida e com sinais de insuficiência cardio-respiratória. Além de uma hepatomegália de 6 cm ARC, de consistência firme, superfície lisa e bordo fino, palpava-se uma esplenomegália de 18 cm ACR de consistência dura e superfície lisa e adenopatias discretas generalizadas.

No hemograma:

- Hb 8,8 g/dl
- GB 300.000 /mm³
 - Mieloblastos – 2% Promielocitos – 14%
 - Mielocitos – 30% Metamielocitos – 6%
 - Neutrófilos – 22%
- PI 408.000 /mm³

Mielograma (6/9/93): Hipérplasia medular acentuada, relação granulocítica/eritroblastica de 20: 1. série eritroide com hipoplasia absoluta e relativa. Série granulocítica com hiperplasia muito acentuada; padrão de maturação com picos de distribuição dos neutrófilos segmentados e dos mielocitos apresentando 6% de promielocitos e 1% de mieloblastos; sem dismorfismos ou assincronias maturativas. Série megacariocítica com dismorfismos acentuados e numerosos micromegacariocitos e micro-megacarioblastos; plaquetas com alterações morfológicas. Observam-se numerosos macrófagos. Medula compatível com LMC.

A análise citogenética em 3/1/94, 5/5/94 e 10/11/94 revelou a presença de um cariotipo normal, 46, XY. Nas duas últimas datas procedeu-se à análise molecular, por transcrição reversa do RNA mensageiro (RT-PCR) usando sequências dos genes bcr/abl como iniciadores (4). Os resultados indicaram a presença de um gene de fusão bcr/abl, junção b2a2. (4).

Em 7/9/93 após equilíbrio metabólico, respiratório e cardiológico iniciou o esquema terapêutico que nos pareceu mais aconselhável com citosina-arabinosido, doses baixas de 10 mg/m²/dia (10 dias/mês) e rIFN α2A, 5 megaUnidades /m²/dia.

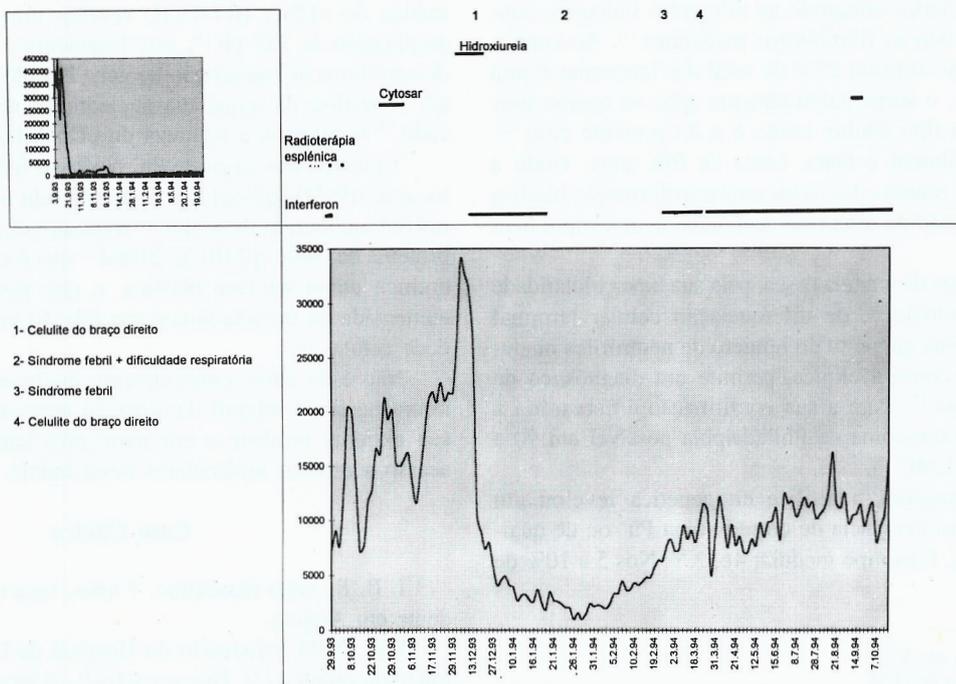
Houve uma resposta clínica e laboratorial muito favorável e rápida, em cerca de três semanas, com recuperação manifesta do estado nutricional, involução franca da hepatoesplenomegália e redução de leucocitose para valores à volta dos 10.000 leucocitos; a anemia foi igualmente resolvida e os valores das plaquetas estabilizaram à volta dos 150.000 mm³. Os medulogramas realizados em Fevereiro, Maio e Julho revelaram uma medula normocelular. Em conclusão, uma resposta clínica e hematológica que viria a ser admitida como de remissão completa. (Quadro I)

Durante a terapêutica não foram registados efeitos secundários para além de hipoplasia medular passageira em relação com a administração de citosina e dois episódios passageiros de celulite no local de administração do rIFN α2A. Tem sido esta terapêutica mantida desde o início e desde Janeiro de 1994 de modo isolado, actualmente na dose de 6 megaUnidades /m²/dia.

Houve necessidade de administrar citosina-arabinosido em 17/9/93 e 26/10/93, na dose de 10mg/m²/dia, 3 períodos de 10 dias/mês e hidróxi-ureia, na dose de 50 mg/Kg/dia, em 1/11/93 e durante 15 dias, para melhor controlo da leucocitose. Fez ainda radioterapia esplénica num total de 500 rads, distribuidos em 5 sessões.

O estudo da compatibilidade revelou para o caso de dois irmãos a partilha de apenas dois antígenos pelo que se recorreu

QUADRO I



ao Luso-Transplante tendo sido identificado um único dador em 19/5/94 nos Estados Unidos da América: A23, A29, B44, B41, D11, D13 idênticos, estando programada a MLR.

Comentário Final

Na fase inicial da doença justifica-se o diagnóstico diferencial, com reacções leucemoides, forma juvenil de LMC, síndromas mieloproliferativos crónicos diversos como a metaplasia mioeloides agnogenica ou mais raramente e em casos menos típicos com síndromas mielodisplásicos ou sarcomas granulocíticos (2, 4).

No caso descrito, o desproporcionado envolvimento da série granulocitária em conjunto com o estudo medular foram suficientemente explícitos para formular o diagnóstico de LMC. De acordo e funcionando como prova terapêutica houve uma resposta rápida ao interferon $\alpha 2a$ com abaixamento brusco inicial do número de leucocitos pela administração de citosina-arabino-sido, preferido à hidróxi-ureia pela intolerância desta à via oral.

Ao contrário do que acontece na grande maioria dos casos a citogenética não detectou a clássica translocação t(9;22) (q34;q11), nem outras anomalias cromossómicas.

Como é conhecido apenas 5 a 10% dos casos são (Ph⁺)-negativos, a eles correspondendo várias eventualidades (5). Um terço a um meio destes casos quando estudados por análise molecular (RT-PCR), demonstram rearranjos bcr/abl e têm como tal sido catalogados como bcr positivos em Ph⁺ negativos e considerados como semelhantes, senão idênticos, na evolução clínica e resposta terapêutica aos Ph⁺ positivos.

A interpretação mais apetecida é a de a translocação se ter processado a nível sub-microscópico; outra eventualidade é que haja alterações genéticas distintas. A parte restante, cerca de metade a dois terços dos (Ph⁺) negativos, incluem várias situações, como síndromas mielodisplásicos com componente mieloproliferativo, leucemia crónica mielomonocítica ou são «verdadeiros» Ph⁺- bcr/abl- (6).

O caso presente, a avaliar pelos estudos citogenéticos, identificado como de LMC Ph⁺ negativo, bcr/abl positivo, justifica a terapêutica da forma clássica, o que tem sido confirmado por dife-rentes autores (7).

Técnicas moleculares sofisticadas, permitem mesmo, um maior esclarecimento, das alterações existentes, como é o caso da hibridização do DNA «in situ» defectada por imuno-fluorescência (FISH) (5).

O estudo presente revelou a existência do gene híbrido de fusão bcr/abl correspondente a um segmento típico b2a2, (sendo a inclusão do exon b3, a outra eventualidade, b3 a 2. (Figuras 1 e 2)

A estratégia terapêutica global é comum aos casos clássicos de LMC, forma adulto, com (Ph⁺) positivos (7)

Assim, na existência de dador compatível, a indicação absoluta é de allotransplante medular, com possibilidade de cura definitiva, o que acontece em grande número de casos (5). Outros tipos de transplante medular são de considerar, inclusivé o auto-transplante com aproveitamento de células primitivas do sangue periférico.

As respostas hematológica e principalmente genética são melhor conseguidas com rIFN $\alpha 2a$ do que com as terapêuticas convencionais o que igualmente se verifica nas sobrevivências medianas, pela sua maior duração (8).

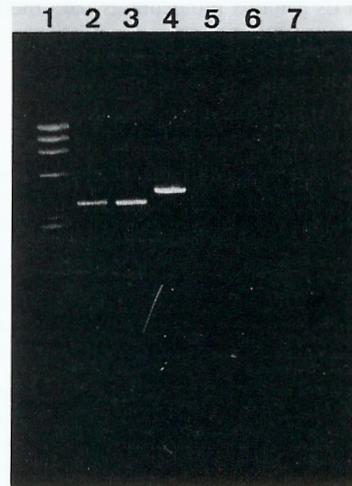


FIG. 1 — 1-Marcador de peso molecular $\phi x-174$; 2-Amplificação de cDNA de linfócitos circulantes do doente, revelando banda de 385 pb (junção b2a2); 3-Amplificação de cDNA de linfócitos da medula óssea do doente, revelando uma banda idêntica; 4-Amplificação de cDNA de linfócitos de medula óssea de outro doente revelando banda de 456 pb (junção b3a2); 5-cDNA de indivíduo saudável; 6-DNA genómico de indivíduo saudável; 7-Controlo negativo (sem DNA).

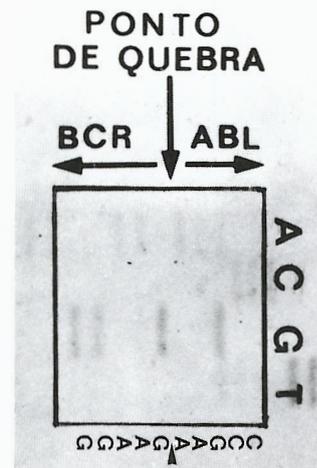


FIG. 2 — Sequenciação da junção b2a2 entre os genes BCR e ABL. As setas de ambos os lados indicam a junção dos 2 genes.

No caso presente, não existem dadores familiares compatíveis, mas existe sim um único dador e nos Estados Unidos da América. Esta oportunidade corre o risco de não aproveitamento por a criança ser estrangeira (angolana) o que não obriga a Instituição a assumir a responsabilidade financeira.

Dos contactos com a Embaixada de Angola, poderá eventualmente surgir a exequibilidade do allotransplante sendo de insistir que é a possibilidade de cura definitiva.

Nessa perspectiva, estamos tentando baixar o número de leucócitos, para impedir, na medida do possível, a aceleração do processo neoplásico enquanto se aguarda da possibilidade de aproveitamento de dador compatível.

Prosseguem os estudos moleculares para melhor compreensão do caso apresentado.

BIBLIOGRAFIA

1. Kantarjian H M, Deisseroth A, Kurzrock R, Estrov Z, Talpaz M. Chronic myelogenous leukemia: a concise update. *Blood*, 1993; 82: 691-703.
2. Altman A J. Chronic leukemias of childhood. *Pediatr Clin N Am* 1988; 35: 765-87.
3. Cross N C P, Hugues T P, Feng L, O'Shea P, Bungey J, Marks D I, Ferrant A, Martiat P, Goldman J M. Minimal residual disease after allogeneic bone marrow transplantation for chronic myeloid leukemia in first chronic phase: correlations with acute graft-versus-host disease and relapse. *Brit Journal of Haematol* 1993; 84: 67-74.
4. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR DNA Sequencing With Chain-Terminating Inhibitors. *Proc Natl Acad Sci USA* 1977; 74: 5463-5767.
5. Shtivelman E, Lifshitz B, Gale RP, Canaani E. Fused Transcript of *abl* and *bcr* genes in Chronic Myelogenous Leukaemia. *Nature* 1985; 315: 550-454.
6. Ben-Neriah Y, Daley GQ, Mes-Masson A, Witte ON, Baltimore D. The Chronic Myelogenous Leukaemia Specific P210 Protein Is the Product of the *bcr/abl* Hybrid Gene. *Science* 1986; 233: 212-244.
7. Hyun B H, Gulati G L, Ashton J K. Myeloproliferative Disorders. *Clin Lab Med* 1990; 10: 825-38.
8. Kantarjian H M, Deisseroth A, Talpaz M. Chronic myelogenous leukemia — update and future directions. *Rev Investigacion Clin* 1994; Suplemento Abril: 118-24.
9. Morris C M, Reeve A E. Genomic diversity correlates with clinical variation in Ph' negative chronic myeloid leukaemia. *Nature* 1986; 320: 281-3.
10. Shtalrid M, Talpaz M, Blick M, Romero P, Kantarjian H, Taylor K, Trujillo J, Schachner J, Gutterman J U, Kurzrock R. Philadelphia-negative chronic myelogenous leukemia with breakpoint cluster region rearrangement: molecular analysis, clinical characteristics, and response to therapy. *J Clin Oncology* 1988; 6: 1569-75.
11. Talpaz M, Kantarjian H, Kurzrock R, Gutterman J U. Interferon alpha in the therapy of CML. *Brit J Haematol* 1991; 79 Suppl.: 38-41.

Correspondência: Abraão Esagüy
Serviço de Pediatria
Hospital Universitário de Santa Maria
Av. Egas Moniz
1699 Lisboa Codex