



Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade da Beira Interior



**LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA/LINFOMA NÃO
HODGKIN LINFOCÍTICO DE CÉLULAS PEQUENAS**
**Um caso clínico: diagnóstico hemato-oncológico
e revisão laboratorial**

Marta da Silveira Botelho Grade Mendes

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

Junho 2010



Faculdade de Ciências da Saúde
Universidade da Beira Interior



**LEUCEMIA LINFÁTICA CRÓNICA/LINFOMA NÃO
HODGKIN LINFOCÍTICO DE CÉLULAS PEQUENAS**

**Um caso clínico: diagnóstico hemato-oncológico
e revisão laboratorial**

Por

Marta da Silveira Botelho Grade Mendes

Orientador

Dr^a Maria Margarida Veiga da Silveira Botelho da Silveira

Co-Orientador

Professor Doutor António Lourenço Marques

Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina

Junho 2010

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	6
RESUMO	7
<i>ABSTRACT</i>	8
LISTA DE SIGLAS	9
ÍNDICE DE TABELAS	10
ÍNDICE DE FIGURAS	11
INTRODUÇÃO	12
1 OBJECTIVOS	14
2 METODOLOGIA	15
3 CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1 Perspectiva histórica da Leucemia linfática crónica/LNH linfocítico.....	16
3.2 Definição actual de LLC/LNH linfocítico.....	19
3.3 Classificação das neoplasias linfáticas.....	19
3.4 Linfocitose monoclonal de células B: o potencial precursor da LLC/LNH linfocítico.	22
3.5 Epidemiologia da LLC/LNH linfocítico.....	22
3.6 Etiologia da LLC/LNH linfocítico.....	23
3.7 Fisiopatologia da LLC/LNH linfocítico	24
3.8 Factores de risco da LLC/LNH linfocítico	26
3.8.1 Radiação ionizante e não-ionizante.....	26
3.8.2 Exposição química	28
3.8.3 Condições médicas e tratamentos	28

3.8.4	Hábitos tabágicos	29
3.8.5	Factores genéticos	29
3.9	Manifestações clínicas da LLC/LNH linfocítico	29
3.10	Diagnóstico de LLC/linfoma linfocítico de células pequenas	30
3.11	Diagnóstico hemato-oncológico.....	31
3.11.1	Biópsia	31
3.11.2	Estudo morfológico.....	32
3.11.3	Estudo citogenético	32
3.11.4	Estudo molecular.....	33
3.11.5	Fenotipagem.....	34
3.12	Diagnóstico hemato-oncológico de LLC/LNH linfocítico	36
3.12.1	Biópsia	36
3.12.2	Estudo morfológico.....	36
3.12.3	Estudo citogenético	41
3.12.4	Fenotipagem.....	42
3.13	Diagnóstico diferencial	42
3.14	Tratamento.....	44
3.14.1	Tratamento de primeira linha	47
3.14.2	Tratamento de segunda linha.....	50
3.14.3	Consolidação das remissões.....	52
3.14.4	Doentes imunodeprimidos.....	53

3.14.5	Novos agentes terapêuticos	54
3.15	Complicações.....	54
3.15.1	Infecções.....	54
3.15.2	Hipogamaglobulinémia.....	55
3.15.3	Citopenias	55
3.15.4	Síndrome de Richter	56
3.15.5	Tumores secundários.....	57
3.16	Prognóstico e factores preditivos.....	57
3.17	Seguimento.....	59
4	CAPÍTULO II – CASO CLÍNICO.....	60
5	CAPÍTULO IV – TESTES LABORATORIAIS.....	63
5.1	Introdução	63
5.2	Utilidade dos testes.....	64
5.3	Valor Anormal.....	65
5.4	Que testes são úteis	65
5.5	Estratégia do pedido.....	65
6	CAPÍTULO III – REVISÃO DO PONTO DE VISTA LABORATORIAL DE 57 NOVOS CASOS NO ANO DE 2009	66
6.1	Estratificação segundo a idade.....	66
6.2	Estratificação segundo o sexo dos doentes.....	67
6.3	Número de leucócitos	67
6.4	Número de linfócitos.....	68

6.5	Valor de hemoglobina	68
6.6	Valor de reticulócitos.....	69
6.7	Valor de plaquetas.....	69
6.8	Função renal	70
6.9	Função hepática.....	70
6.10	Imunoglobulina M	71
6.11	Biópsia óssea	71
6.12	Conclusões.....	71
7	CAPÍTULO V – CONCLUSÕES.....	74
8	CAPÍTULO VI – TEMAS PARA FUTURAS INVESTIGAÇÕES RELACIONADAS COM O TEMA ABORDADO.....	76
	BIBLIOGRAFIA E REFERÊNCIAS.....	77
	ANEXOS.....	84

“O papel da ciência na prática clínica é hoje em dia absolutamente insubstituível. A publicação permanente de estudos e ensaios clínicos produz evidência, prova científica, de boa qualidade sobre a qual é possível o médico tomar decisões sólidas, mesmo que num contexto de incerteza e risco. Para além disso, a combinação entre a gestão de recursos cada vez mais escassos e dispendiosos por um lado, com responsabilização dos médicos por parte da sociedade na prestação de cuidados eficazes mas custo-efectivos, por outro, cria novas exigências de rigor e racionalização da prática médica. Hoje em dia, a evidência científica proveniente de estudos clínicos pode caracterizar-se em três pontos: 1) existe muito maior quantidade de estudos; 2) a qualidade destes é muito melhor; 3) estes podem ser rápido e eficazmente localizados através dos meios informáticos.”

ANTÓNIO VAZ CARNEIRO, *Conferência: “Como avaliar a investigação clínica. O exemplo da avaliação crítica de um ensaio clínico”.*

AGRADECIMENTOS

Quero expressar aqui os meus sinceros agradecimentos a todos aqueles que, directa ou indirectamente, contribuíram para a concretização desta Dissertação de Mestrado.

À Dr^a Margarida Silveira, orientadora desta dissertação, agradeço o empenho, as ideias criativas, a disponibilidade, o entusiasmo com que sempre me contagiou e o trabalho dispendido.

Ao Professor Doutor Lourenço Marques por ter aceite prontamente ser o meu co-orientador e por toda a disponibilidade que demonstrou.

Agradeço à minha mãe toda a força, trabalho e apoio incondicional, sendo o meu grande modelo e inspiração em tudo o que faço.

Agradeço ao meu marido a ajuda em todos os momentos e o facto de estar sempre disponível para mim.

Agradeço à Faculdade de Ciências da Saúde da Beira Interior, em especial ao Professor Doutor Miguel Castelo Branco e à Dr^a Manuela do Gabinete de Educação Médica, todo o apoio e consideração neste ano atribulado.

Agradeço à minha prima Sara toda a ajuda, disponibilidade e amizade.

Agradeço em geral ao meu pai, irmãos, sogra, tios, primos, avós e amigos que, apesar de não terem contribuído directamente para a realização desta dissertação de mestrado, são imprescindíveis e estão sempre presentes na minha vida e no meu pensamento.

RESUMO

Os médicos anseiam por diagnósticos infalíveis que os façam ganhar tempo face à astúcia das malignidades. Os doentes querem respostas poderosas, concisas, que os salvem. A medicina deve ser a união da arte ao engenho e os médicos devem utilizar habilmente todos os reforços que a Ciência lhes proporciona.

Hoje em dia a prática da Medicina baseada na evidência permite-nos esta abordagem.

No presente trabalho pretendemos estudar a Leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico de células pequenas (LLC/LNH linfocítico), uma doença hemato-oncológica, focando a importância de um diagnóstico pluridisciplinar que nos possibilite diagnosticar, seguir e tratar de forma correcta um doente. Nesse âmbito foi estudado um caso clínico e foram revistos do ponto de vista laboratorial, cinquenta e sete novos casos, admitidos no ano de 2009 no Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil.

Como o número de testes laboratoriais cresce exponencialmente, ao longo dos tempos, gostávamos de sensibilizar para a importância da aplicação dos mesmos de uma forma mais pragmática, em vista da confirmação do diagnóstico provável.

PALAVRAS CHAVE: Leucemia linfática crónica, diagnóstico hemato-oncológico, testes laboratoriais, linfócitos, cromossomas

ABSTRACT

Doctors yearn for infallible diagnoses that make them gain time against the cunning of malignancies. Patients want answers powerful, concise, to rescue them. The medicine should be the union of art to the ingenuity and physicians must skillfully use all the reinforcements that science provides.

Today the practice of evidence-based medicine allows us to approach this.

In this paper we will study the chronic lymphatic leukemia (CLL), an oncologic disease, focusing on the importance of a multidisciplinary diagnosis that enables us to diagnose, track and treat a patient properly. In this connection a case has been studied and were reviewed from the standpoint of laboratory, fifty-seven new cases were admitted in 2009 in the Department of Pathology of the Portuguese Institute of Oncology Francisco Gentil de Lisboa.

As the number of laboratory tests grows exponentially over time, we would like to raise awareness of the importance of their application to be made in a more pragmatic way, in order to confirm the diagnosis likely.

KEY WORDS: chronic lymphatic leukemia, hemato-oncological diagnosis, laboratory tests, lymphocyte, chromosomes

LISTA DE SIGLAS

BQ- bioquímica

Del- deleção

EDTA- ácido etilenodiaminotetracético

FMC7- Anticorpo monoclonal

H&E- Corante hematoxicilina e eosina

IGHV- genes das cadeias pesadas das imunoglobulinas

IPOFG- Instituto Português de Oncologia Francisco Gentil

LNH linfocítico- linfoma não Hodgkin linfocítico de células pequenas

LLC- leucemia linfática crónica

MO- medula óssea

PCR- polymerase chain reaction

ZAP 70- cadeia zeta associada à proteína quinase 70

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Estadiamento de Rai e Binet (6)	45
Tabela 2 – Factores importantes de prognóstico (6) (16) (32) (33) (34) (35) (36).....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

Imagem 1 – Diferenciação B (4).....	21
Imagem 2 – Técnica de Fish (5).....	34
Imagem 3 – Citometria de fluxo (5).....	35
Imagem 4 – Esfregaço de sangue periférico (obtido a partir de um caso real do IPOFG)	38
Imagem 5 – Infiltração linfocitária de um gânglio linfático. a) H&E b) CD3	40
Imagem 6 – Diagnóstico diferencial entre LLC/LNH linfocítico e outros linfomas de células B (7)	43
Imagem 7 – Algoritmo de tratamento. AIHA – Anemia hemolítica autoimune. FCR – Fludarabina + Ciclofosfamida + Rituximab. PCR – Pentostatina + Ciclofosfamida + Rituximab. FC - Fludarabina + Ciclofosfamida. FR – Fludarabina + Rituximab (29).....	50
Imagem 8 – Síndrome de Richter (5).....	57
Imagem 9 – Situação ideal vs situação real no âmbito das características de desempenho dos testes laboratoriais (44).....	64

INTRODUÇÃO

A Leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico de células pequenas é o tipo de leucemia mais frequente nos adultos e afecta cerca de sete mil novos indivíduos por ano em Portugal. É o tipo de leucemia mais comum no mundo Ocidental, abrangendo cerca de 40% de todas as leucemias em indivíduos com mais de sessenta e cinco anos de idade. A sua incidência mundial é cerca de aproximadamente 3 casos por 100000 por ano.

É uma doença neoplásica linfática, caracterizada pela infiltração de células B monoclonais maduras na medula óssea e no sangue periférico. Quando atinge os gânglios linfáticos, adopta a denominação de linfoma linfocítico de células pequenas. As duas entidades são assim consideradas diferentes manifestações da mesma doença.

A Leucemia linfática crónica foi reconhecida como entidade nosológica independente no final da década de sessenta e os estudos epidemiológicos e ensaios clínicos, acerca da mesma, só tiveram início a partir de 1970. Durante a última década um considerável progresso tem sido conseguido, no sentido de se terem definido novos marcadores de prognóstico, parâmetros diagnósticos e opções terapêuticas. Alguns modelos etiológicos têm sido propostos e vários estudos têm sido feitos com o intuito de clarificar a patogenia da doença.

Para o diagnóstico desta doença é fundamental a existência de uma linfocitose absoluta, um estudo morfológico, através da realização de um hemograma e mielograma e um estudo do imunofenótipo, através da citometria

de fluxo, dos linfócitos B intervenientes. Todavia, é fundamental para a caracterização da doença, seguimento da sua evolução, instituição de terapêutica, acompanhamento da resposta ao tratamento e avaliação da progressão ou remissão da mesma, um diagnóstico hemato-oncológico completo. Neste contexto, além das já mencionadas, são utilizadas várias técnicas. Entre elas, a biópsia, através da qual se consegue avaliar a alteração estrutural de um dado órgão infiltrado por células malignas, as técnicas de citogenética que permitem o estudo dos cromossomas, sua estrutura e sua herança e detectam alterações e técnicas de biologia molecular que detectam mutações.

Em relação ao tratamento, o transplante alogénico é o único potencialmente curativo, no entanto, apenas uma minoria pode ser sujeito a este tipo de tratamento. Deste modo, face à heterogeneidade da doença, muitos tratamentos são propostos, entre eles, a utilização de análogos de purina, corticoesteróides, imunoquimioterapia e transplante autólogo.

1 OBJECTIVOS

A presente dissertação pretende constituir uma pesquisa alargada da literatura científica acerca da Leucemia linfática crónica/ linfoma linfocítico de células pequenas, tendo como base um caso clínico do Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil, admitido em Dezembro de 2009 em particular e uma amostra de cinquenta e sete doentes, registados no mesmo serviço e no mesmo ano em geral.

Pretendemos realizar um levantamento dos aspectos históricos relacionados com a Leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico de células pequenas e abordar os aspectos epidemiológicos, clínicos e os exames complementares relevantes à investigação diagnóstica desta patologia. A pesquisa realizada tem ainda por objectivo investigar as hipóteses fisiopatológicas possivelmente subjacentes à LLC/LNH linfocítico, as opções terapêuticas actualmente disponíveis para o tratamento e as perspectivas futuras de investigação nesta área.

Temos também como objectivo abordar a temática do valor dos testes laboratoriais e reflectir sobre a sua verdadeira função enquanto instrumentos de investigação clínica.

Partindo da investigação alargada da literatura científica acerca da Leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico de células pequenas e da investigação do caso clínico exemplificativo da doença, das dificuldades diagnósticas e terapêuticas associadas a esta patologia, pretende-se tirar conclusões quanto à forma de diagnosticar e tratar esta doença.

2 METODOLOGIA

Como metodologia para este trabalho de investigação bibliográfica, utilizámos o motor de busca “PubMed” (disponível em www.pubmed.gov). A pesquisa foi efectuada utilizando a seguinte palavra-chave: “chronic lymphocytic leukemia”. Não foram utilizadas quaisquer limitações na pesquisa e posteriormente, procedeu-se a uma selecção dos artigos mais relevantes para cada uma das vertentes do trabalho.

Recorremos ainda a literatura pertinente e a livros publicados no âmbito da temática abordada.

Consultámos os processos dos doentes in loco, através dos registos informáticos do Serviço de patologia Clínica do IPOLFG e elaborámos os gráficos exemplificativos no programa Microsoft Office 2007. Recolhemos a história clínica abordada com base no processo do doente e analisámo-la e discutimo-la à luz da investigação bibliográfica anteriormente realizada.

3 CAPÍTULO I – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Perspectiva histórica da Leucemia linfática crónica/LNH linfocítico

A leucemia foi reconhecida como nova entidade mórbida em 1845 por Virchow que anos mais tarde identificou um segundo tipo, diferente da leucemia “esplénica” original, com gânglios linfáticos superficiais e profundos menores, baço de menor tamanho e coloração do sangue circulante mais homogénea. O sangue apresentava um grande número de glóbulos não granulados pequenos e incolores, semelhantes aos que podiam ser obtidos raspando-se os gânglios linfáticos (1).

Nas décadas seguintes foram reconhecidas variantes da leucemia “esplénica” e a ocorrência de leucemia aguda, mas houve pouco progresso nos conhecimentos sobre a LLC. Em 1893 Kundrat introduziu o nome de linfossarcoma para descrever um distúrbio crónico que afectava os gânglios linfáticos de modo algo similar à LLC. O comprometimento ganglionar, porém, tendia a ser mais localizado, sendo localmente invasivo, mas não produzindo quadro sanguíneo leucémico. Em 1903 Turk, revendo problemas nosológicos relativos a linfomatoses, chamou a atenção para a semelhança entre linfossarcomas e LLC, especialmente, a variedade subleucémica e julgou haver transições entre as duas entidades. No ano seguinte, Sternberg introduziu a denominação de leucossarcoma, que foi depois abandonada (1).

A primeira descrição minuciosa da LLC comparada com a de outros cancros hematológicos foi feita por Minot e Isaacs em 1924. Estes, baseando-

se numa série de noventa e oito doentes, registaram a incidência em idade e sexo, elementos clínicos e hematológicos relacionados com o prognóstico, sobrevivência global e os efeitos com o tratamento de Raios X e rádio. A hipertrofia dos gânglios e do baço podia ser controlada mas, o comprometimento da função da medula óssea devido ao aparecimento de anemia, trombocitopenia e/ou neutropenia resultantes da doença ou da terapêutica com irradiação, posteriormente, tornaram-se um grande problema clínico. Alguns anos depois, quando os medulogramas se tornaram usuais, foi possível verificar que a infiltração da medula óssea e a substituição por linfócitos anormais era uma característica da LLC, que podia ocorrer mais cedo ou mais tarde no curso da doença (1).

O agente terapêutico mais utilizado era o fósforo 32 (32P), no entanto, surgiam conseqüentes efeitos adversos como citopenias. As perspectivas terapêuticas melhoraram com a introdução em 1949 e 1954 de derivados da mostarda nitrogenada administrados por via oral e com a utilização da hormona adrenocorticotrópica e esteróides adrenais após 1950. O desenvolvimento da reacção de antiglobulina de Coombs em 1945, foi um grande progresso que facilitou o reconhecimento de auto-anticorpos na LLC. No fim da década de 1940, quando os métodos isotópicos para medição da sobrevivência dos eritrócitos se tornaram mais acessíveis, muitos pesquisadores verificaram que essa sobrevivência estava diminuída nos doentes anémicos (1).

Na década de 50-60, assistiu-se a uma mudança de significado dos pequenos linfócitos constituintes da LLC. Antes eram considerados um “tipo deficiente de célula” pequena, frágil e terminal, e passaram a ser

caracterizados como elemento celular pluripotencial altamente organizado, mas com respostas imunológicas deficientes. A doença era descrita como “doença de acumulação de linfócitos imunologicamente incompetentes” (1).

Apenas no final da década de 60, com a adopção da Classificação internacional de doenças (International classification of diseases ICD), se distinguiram as duas formas da Leucemia linfática, a aguda e a crónica. Os estudos epidemiológicos e os ensaios clínicos, acerca desta doença, só tiveram início a partir de 1970. As propostas de estadiamento por Rai e Binet em 1975 e 1977, seguidas pela instituição de recomendações baseadas no estudo de casos clínicos, facilitaram os avanços no tratamento e compreensão da doença. As investigações clínicas e epidemiológicas também beneficiaram da implementação da classificação “French-American-British” (FAB) de leucemias crónicas B e T, que incorporaram morfologia e fenótipo com a classificação de Kiel que, baseando-se no grau de diferenciação, agrupou a LLC nos linfomas de células B de baixo grau. O maior conhecimento da diferenciação de células B e T e das alterações genéticas, levou ao aparecimento da “Revised European and American Lymphoma classification” na década de 90, seguida pela “WHO classification” de todas as doenças linfoproliferativas e hematopoiéticas. A ICD tinha algumas limitações porque não incorporava as características imunofenotípicas, citogenéticas e moleculares de cada doença. Em contraste surgiu a meio da década de 70, sendo revista em 1990 e 2000 a “ICD for Oncology” (ICD-O), incluindo informação sobre a linhagem das células, imunofenótipo, citogenética e características clínicas. Actualmente já existe a ICD-O-3, actualizada

considerando todavia, a LLC e o Linfoma linfocítico de células pequenas como duas entidades separadas, como o faziam as versões anteriores (2).

A classificação WHO é a mais utilizada hoje em dia, revista pela última vez em 2008 e classifica a LLC e o linfoma linfocítico de células pequenas como manifestações diferentes da mesma patologia, baseando-se na sua idêntica citologia, histopatologia, imunofenótipo e características citogenéticas (2).

3.2 Definição actual de LLC/LNH linfocítico

A LLC é uma neoplasia linfática, caracterizada pela infiltração de linfócitos B monoclonais, pequenos e redondos na medula óssea e no sangue periférico, misturados com prolinfócitos e paraimunoblastos (3).

O LNH linfocítico partilha características patológicas e clínicas com a LLC, sendo indistinguíveis morfológica e imunofenotipicamente, no entanto, a infiltração linfocitária, neste caso, predomina nos gânglios linfáticos (3).

3.3 Classificação das neoplasias linfáticas

No córtex do gânglio linfático existem folículos linfóides; estes são constituídos por células B, com um componente pequeno de células T e células dendríticas. Os folículos primários são constituídos por linfócitos maduros, pequenos, redondos e com escasso citoplasma. A exposição a algum antigénio resulta na formação de folículos secundários, caracterizados por terem centralmente um centro germinativo que contém linfócitos, macrófagos e células dendríticas, todos activados. Ambos os folículos, primários e

secundários, são rodeados, perifericamente, por uma camada, pequena e compacta, de linfócitos B, designada por zona do manto. Os linfócitos B do centro germinativo formam outra área periférica à zona do manto, designada por zona marginal. Estes linfócitos são células distintas, com citoplasma proeminente e núcleo oval ou dentado (4).

A zona paracortical situa-se na área entre os folículos e estende-se até à medula ou centro do gânglio linfático. Aqui as células são predominantemente células T com interdigitações de células dendríticas e vénulas endoteliais (4).

Os cordões medulares situam-se no hilo do gânglio linfático e contêm uma mistura de células, incluindo linfócitos, imunoblastos e células plasmáticas (4).

As neoplasias das células B são tumores clonais de células B imaturas e maduras, em vários estadios de evolução, que parecem recapitular a sua normal diferenciação. Esta inicia-se com o precursor de células B, progenitor das células B/ linfoblastos B, que sofre maturação na medula óssea e se diferencia em imunoglobulinas maduras e imaturas de superfície e linfócitos nativos recirculantes, CD5+, que circulam no sangue periférico e se encontram nos folículos linfóides primários e zona do manto. Quando se deparam com o seu antígeno específico, estes linfócitos sofrem uma transformação e proliferação, diferenciando-se em células plasmáticas de vida curta ou entrando no centro germinativo do folículo. No centro germinativo, mediante hipermutação somática e translocação de cadeias pesadas, ocorre uma transformação dos linfócitos em centroblastos. Estes podem sofrer apoptose ou

diferenciarem-se em centrócitos. Na zona marginal, os centrócitos diferenciam-se em células B de memória e células plasmáticas de vida longa (Imunoglobulinas G, A, E, M e D). Assim, fundamentalmente, os tumores linfóides podem aparecer nestes quatro estadios de evolução linfóide, ocorrendo cronologicamente, na medula óssea, na zona paracortical, na área folicular ou na zona marginal. Consoante a etapa evolutiva onde têm origem, são caracterizados por células imaturas ou maduras (4).

A LLC/LNH linfocítico surge na área do manto, pós centro germinativo, o que caracteriza as suas células como sendo linfócitos maduros. Estas células não sofrem mais mutações e possuem a habilidade de regressar aos tecidos onde sofreram a exposição antigénica (4).

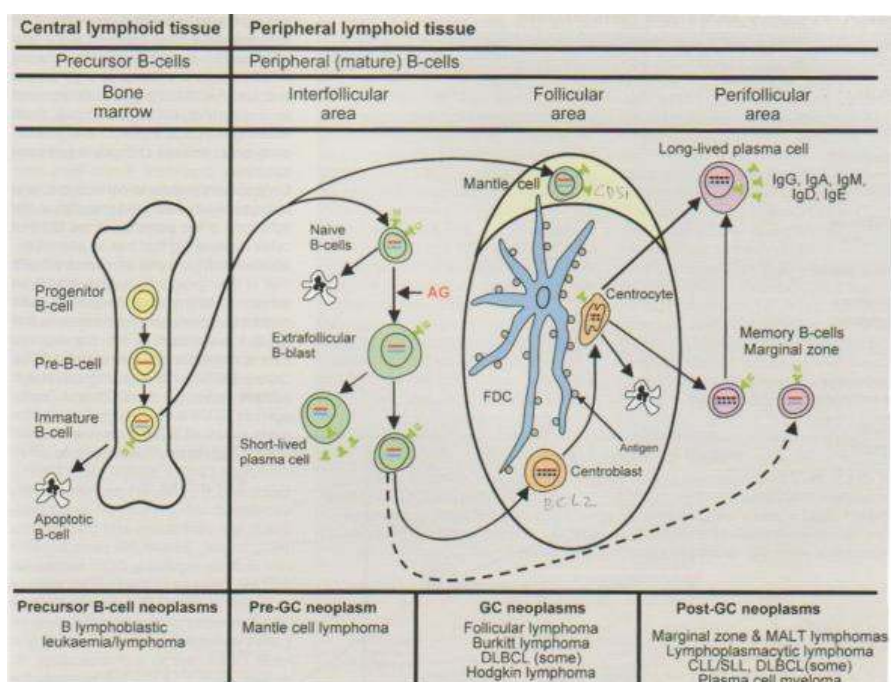


Imagem 1 – Diferenciação B (4)

3.4 Linfocitose monoclonal de células B: o potencial precursor da LLC/LNH linfocítico

Alguns investigadores identificaram muitos clones de células B circulantes, pequenos, com o fenótipo de superfície similar à LLC/LNH linfocítico em algumas pessoas saudáveis. Surgiu assim a definição de LMB (linfocitose monoclonal de células B), “presença de uma população monoclonal de células B detectada por citometria de fluxo em pessoas que não têm critérios de diagnóstico para outras doenças linfoproliferativas B” (2). A frequência da LMB na população geral é de cerca de 3% mas, é significativamente superior ou igual a 17%, em familiares próximos de doentes com LLC. (5) Os factores de risco para a LMB são desconhecidos e a sua história natural ainda não foi sistematicamente examinada. Apesar desta situação, têm sido propostos modelos que relacionam a LMB e a LLC. Neste âmbito, o surgimento da LMB pode ter quatro consequências como sendo, progressão para LLC/LNH linfocítico ou para outras doenças linfoproliferativas e hematológicas; persistência de LMB sem progressão; resolução gradual da LMB com manifestações de senescência imune ou regressão da LMB sem aparente evidência de um declínio associado da resposta imune (2).

3.5 Epidemiologia da LLC/LNH linfocítico

A LLC/LNH linfocítico é o tipo de leucemia mais comum no mundo Ocidental, abrangendo cerca de 40% de todas as leucemias em indivíduos com mais de sessenta e cinco anos de idade (6).

O rácio masculino-feminino em todas as populações é cerca de 2:1 (6).

A média de idade no diagnóstico é cerca de setenta anos para o sexo masculino e setenta e quatro anos para o sexo feminino. (7) Uma idade mais avançada na altura do diagnóstico relaciona-se com uma taxa de sobrevivência mais baixa (8).

A sua incidência é de aproximadamente 3 casos por 100000 por ano, a nível mundial e tem vindo a diminuir (6).

É cerca de 20 a 30 vezes mais comum na Europa, Áustria e América do Norte do que na Índia, China e Japão. Constitui cerca de 30% da totalidade de doenças malignas de células B maduras. É mais prevalente na raça caucasiana, do que nas outras raças (6).

A probabilidade de invasão da medula óssea é de 72% e a percentagem de sobrevivência aos 5 anos é de 51%.

O fenómeno de antecipação, no qual a doença se apresenta previamente e numa forma mais severa ao longo das diferentes gerações, é constatado em muitas famílias com esta doença (6).

3.6 Etiologia da LLC/LNH linfocítico

Agentes infecciosos, como o vírus Epstein Barr , foram mencionados muitas vezes no passado, como possíveis agentes etiológicos no âmbito de muitos linfomas de células B maduras, afectando, sobretudo, indivíduos imunodeprimidos. Contudo, têm surgido muitos estudos que refutam esta teoria por haver pouca evidência comprovada nesse sentido (16).

O que tem sido sugerido recentemente como possível factor etiológico é a ocorrência de uma lesão genética inicial numa célula B imatura da medula óssea. A estimulação antigénica subsequente repetitiva leva provavelmente a lesões genéticas adicionais que resultam na transformação neoplásica que leva à ocorrência de leucemia. Esta lesão inicial pode também ocorrer em células B imaturas que circulam no sangue periférico ou noutras, maduras, que retornaram aos gânglios linfáticos ou ao baço (2).

3.7 Fisiopatologia da LLC/LNH linfocítico

Existem três tópicos fundamentais para a compreensão da fisiopatologia da LLC/LNH linfocítico: O receptor das células B, as anomalias genéticas reveladas na interfase citogenética e o balanço entre a proliferação e a apoptose (7).

O receptor das células B é um complexo multimérico formado por uma imunoglobulina de superfície homodímera e a sua ligação não covalente heterodímera $Ig\alpha/Ig\beta$ (CD79A/CD79B). A baixa expressão destes receptores é a grande alteração que caracteriza os linfócitos da LLC/LNH linfocítico. Essa baixa expressão relaciona-se com a actividade diminuída da tirosina quinase e a consequente falha a nível da mobilização do cálcio e fosforilação da tirosina devido a uma mutação no CD79B (7).

Existe um defeito adquirido no CD79A relacionado com a fraca expressão da molécula CD22 no contexto desta doença (7).

Podemos diferenciar dois subtipos da LLC/LNH linfocítico, baseando-nos na ocorrência de mutações a nível das IGHV dos receptores de células B. A

doença indolente com mutações somáticas associadas ao gene IGHV, e a doença agressiva, sem essa mutação. No caso em que esta mutação está ausente, as células expressam anticorpos fortemente polirreactivos e CD38, estando associados a um pior prognóstico, pois favorecem a proliferação dos linfócitos. Neste caso, a molécula sinalizadora ZAP-70 é expressa anormalmente nestas células, o que aumenta o sinal aquando da activação deste receptor. No entanto, todas as formas de LLC/LNH linfocítico partilham uma expressão genética comum, o que sugere uma origem celular e um mecanismo de transformação comum (7,12).

Em relação às anomalias genéticas, sugere-se que estas sejam mais importantes do que os factores ambientais na patogenia da LLC/LNH linfocítico. Nesta doença são frequentes mutações, deleções ou trissomias. As deleções do braço curto do cromossoma 17 (del17p13) observada em 7% dos doentes, que codifica o gene supressor tumoral TP53 e as do braço comprido do cromossoma 11 (del11q23), observadas em 16% dos doentes, que codificam o gene da telangiectasia atáxica mutada (ATM), constituem factores preditivos de resistência ao tratamento clássico da LLC. As alterações na via ATM/TP53, fazem com que o TP53, factor de transcrição activado, perca a sua função de manter a integridade do genoma, e, prevenir a progressão clonal. Os mecanismos de apoptose são impedidos e o ciclo celular mantém-se (7,9,10).

No que diz respeito aos defeitos na apoptose e proliferação, estes vão fazer com que haja uma acumulação de células B maduras na fase G0/G1 do ciclo celular. A LLC/LNH linfocítico é assim uma doença dinâmica que resulta fundamentalmente de um mecanismo cumulativo, onde a maioria das células

não são proliferativas, mas exibem anomalias a nível dos fenómenos apoptóticos. São expressas proteínas anti-apoptóticas como as proteínas da família da bcl-2, factor básico do crescimento dos fibroblastos, ciclina D2 e a sintase de óxido nítrico. (13)

Alguns modelos animais têm sido utilizados para elucidar a patogénese, clarificar os mecanismos genéticos e identificar o efeito de agentes genéticos e exógenos que iniciam ou promovem a LLC/LNH linfocítico. Nomeadamente os modelos de ratos providenciam a evidência da desregulação de três vias genéticas importantes, a via Tcl-1-Akt, a via do factor de necrose tumoral-factor nuclear (NF)- κ B e a via anti-apoptótica mediada pelo bcl2 na LLC. Foi reportada recentemente que a expressão alterada de micro-RNAs (na 13q14 região cromossómica) em humanos, parece ser a lesão molecular que ocorre na LLC. O rato transgénico TCL1 desenvolve uma doença linfoproliferativa que serve de modelo para as formas agressivas da LLC/LNH linfocítico, mas não para a forma mais frequente da doença, a indolente. (7) Outro modelo é o rato transgénico April, que desenvolve tumores linfóides CD5+. Neste contexto, o April, ligando indutor da proliferação, foi considerado protector da célula B em relação aos fenómenos de apoptose. (11)

3.8 Factores de risco da LLC/LNH linfocítico

3.8.1 Radiação ionizante e não-ionizante

Tem sido praticamente axiomático pressupor que a LLC/LNH linfocítico não é causada por radiação ionizante. No entanto, surgem cada vez mais estudos que vêm refutar esta suposição. Um estudo realizado em Chernobyl,

comparou as formas da LLC/LNH linfocítico nas pessoas que limpavam os destroços eram mais agressivas do que nas que não tiveram contacto com os mesmos (14,15).

Alguns estudos de radioterapia médica, inclusive aqueles de doentes com Espondilite anquilosante (Weiss *et al*, 1995; Wick *et al*, 1999) e os de mulheres tratadas devido à ocorrência de hemorragia uterina (Inskip *et al*, 1990, 1993) reportaram riscos elevados de LLC/LNH linfocítico ou leucemia linfática inespecífica, apesar de nem todos demonstrarem relações dose-resposta e alguns serem limitados por números pequenos e incompleta especificação dos subtipos de leucemia. “Foi feita apenas uma investigação relacionada com a relação entre a radiação ultravioleta e a LLC/LNH linfocítico. Esta encontrou efeitos protectores e uma relação inversa de dose-resposta (Smedby *et al*, 2005)” (2).

Contudo, apesar de haver alguns estudos nesta área, existem muitas dificuldades biológicas, epidemiológicas e metodológicas inerentes à realização destes (2).

No que diz respeito às radiações não-ionizantes, a informação é ainda mais limitada. Recentemente foi publicado um estudo caso-controlo acerca da incidência de leucemia num grupo de mineiros de urânio, cujas conclusões reflectiram uma associação positiva entre uma exposição cumulativa e a ocorrência de LLC/LNH linfocítico. (Rericha *et al*, 2006) (2,14).

3.8.2 Exposição química

Diversos estudos têm sido realizados nesta área e, apesar de não haver ainda conclusões definitivas tem sido sugerida a possível relação entre a exposição a químicos, pesticidas e solventes orgânicos e a ocorrência de LLC/LNH linfocítico. Existem estudos que relacionam esta doença com químicos específicos utilizados na agricultura (Brown *et al*, 1990; Nanni *et al*, 1996; Miligi *et al*, 2003), mas a maioria não avalia as exposições químicas específicas. (2)

3.8.3 Condições médicas e tratamentos

Recentes estudos escandinavos (Landgren *et al*, 2007b) e americanos (Landgren *et al*, 2007a) sugerem que a ocorrência de um ou mais episódios de pneumonia nos cinco anos que antecedem o diagnóstico de LLC/LNH linfocítico serve como catalisador do seu desenvolvimento, embora a pneumonia seja uma possível consequência da deficiência imune, pode ser vista como uma manifestação pré-diagnóstica da doença. É também de sublinhar que estes estudos concluem que existe um risco reduzido de aparecimento de LLC/LNH linfocítico entre indivíduos que têm antecedentes pessoais de doença cardíaca valvular não reumática ou doença cardíaca reumática crônica, ambas com profilaxia antibiótica (2). Outro estudo veio provar que existe um risco aumentado de desenvolver LLC/LNH linfocítico nos indivíduos que têm um polimorfismo a nível dos dois alelos do gene que codifica a flavoproteína NQO1. Este torna os indivíduos mais resistentes ao tratamento, aumentando a taxa de mortalidade e morbidade (13).

3.8.4 Hábitos tabágicos

Os efeitos carcinogénicos do fumo do cigarro são reconhecidos há décadas, no entanto, a sua ligação à LLC/LNH linfocítico é apenas documentada desde 1986. Alguns estudos coorte (Kinlen & Rogot, 1988; Garfinkel & Boffetta, 1990; Linet et al, 1991) confirmam uma associação entre o fumo do cigarro e a LLC/LNH linfocítico, mas nem todos (Friedman, 1993; Adam et al, 1998). O mesmo se observou nalguns estudos caso-controlo (Brown et al, 1990). No estudo caso-controlo (Stagnaro et al, 2001) não foi confirmada esta associação. Alguns investigadores concluíram que quanto maior a duração dos hábitos tabágicos, maior o risco de ocorrência de LLC/LNH linfocítico (2).

3.8.5 Factores genéticos

Tendo como base as investigações reportadas nos passados sessenta anos, a história familiar de LLC/LNH linfocítico e de outras doenças linfoproliferativas e hematológicas, é um dos maiores factores de risco para esta doença (Videbaek, 1947; Gunz et al, 1975; Linet et al, 1989; Goldin et al, 2004) (2).

3.9 Manifestações clínicas da LLC/LNH linfocítico

A maior parte das vezes, em 70 a 80% dos doentes, esta é uma doença assintomática, cuja primeira manifestação consiste na alteração dos parâmetros analíticos, no contexto de um hemograma e análises bioquímicas de rotina (6).

Na sua fase sintomática, podem surgir sintomas como linfadenopatias, astenia, os intitulados sintomas B (febre, fadiga, sudorese noturna, perda de peso e prurido), trombocitopenia, hipogamaglobulinemia, infecções recorrentes ou persistentes, equimoses, palidez ou icterícia associada a anemia, edema ou tromboflebite por obstrução ganglionar e aumento da dor óssea à palpação. Pode surgir uma diarreia persistente, como sinal de infiltração intestinal e nalguns doentes pode surgir anemia hemolítica auto-imune, com aparecimento de auto-anticorpos (6,17,18).

3.10 Diagnóstico de LLC/linfoma linfocítico de células pequenas

O diagnóstico de LLC é definido por uma linfocitose absoluta, caracterizada por uma contagem de linfócitos igual ou superior a $5 \times 10^9/L$, constituída por linfócitos B maduros, caracterizados por um imunofenótipo específico (6). Se a contagem de linfócitos for inferior a esse valor, o diagnóstico pode ser baseado na morfologia e imunofenótipo típicos dos linfócitos circulantes ou na presença de citopenia causada por um infiltrado típico na medula óssea.

O diagnóstico de LNH linfocítico pode ser estabelecido histologicamente na ausência de um envolvimento da medula óssea e sangue periférico. É necessária a presença de linfadenopatias e a ausência de citopenias causadas pela invasão clonal da medula óssea. O número de linfócitos B no sangue periférico não deve exceder os $5 \times 10^9/L$ e o diagnóstico deve ser confirmado por uma avaliação histopatológica da biopsia de gânglios linfáticos (7).

Como avaliação adicional, útil na apresentação da doença ou durante o seu curso, podem ser utilizados, o teste de antiglobulinas directo (DAT), a contagem de reticulócitos, análises bioquímicas renais e hepáticas, imunoglobulinas séricas e radiografia torácica (6).

3.11 Diagnóstico hemato-oncológico

O diagnóstico hemato-oncológico consiste num conjunto de procedimentos que leva à caracterização de determinada doença, seguimento da sua evolução, instituição de terapêutica, acompanhamento da resposta ao tratamento e avaliação da progressão ou remissão da doença. Neste contexto são utilizadas várias técnicas que, apesar da sua totalidade não ser imprescindível ao diagnóstico, no seu todo são necessárias para o conhecimento da doença e cuidado do doente (19).

3.11.1 Biópsia

Nos casos em que a manifestação primária consiste na existência de linfadenopatias, faz-se uma biópsia do gânglio. Não se utilizam substâncias fixadoras e os cortes devem ter espessura de 1-2mm. Observa-se o exterior e o interior do gânglio, assim como áreas de necrose e hemorrágicas. Utilizam-se montagens em lâminas de vidro. Para uma observação morfológica utiliza-se a coloração Wright-Giemsa. A fixação com formalina é a indicada para observar a arquitectura do gânglio e para estudos imunohistoquímicos, e a fixação com mercúrio B5 é utilizada quando se pretende a preservação do detalhe nuclear. A infiltração de células pode ser difusa ou não difusa (19).

3.11.2 Estudo morfológico

Consiste na realização de um mielograma e hemograma com observação de um esfregaço de sangue periférico. O mielograma é um exame importante para o diagnóstico, avaliação da resposta ao tratamento e seguimento. A identificação das células malignas e a avaliação da reserva hematopoiética da medula óssea são o objectivo deste exame. É feito sob anestesia local e consiste na aspiração de medula óssea seguida da execução de esfregaços em lâminas de vidro, para exame ao microscópio óptico. O local preferencial para a aspiração é a crista póstero-superior do osso íliaco (19).

3.11.3 Estudo citogenético

Os tecidos utilizados para a análise cromossómica podem ser células da medula óssea ou linfócitos do sangue periférico. Mitógenos, como a fitohematoglutina são adicionados à cultura de sangue periférico e vão estimular a divisão das células. O crescimento celular é prolongado durante a metafase, pela adição de colchicina. A cultura celular é depois tratada com uma solução hipotónica para dilatar as células, seguindo-se a imersão numa solução fixadora de metanol e ácido acético para endurece-las e remover as proteínas. As células são depois colocadas num ambiente frio para se conseguir a dispersão dos cromossomas. As amostras são montadas em lâminas de vidro e observadas no microscópio óptico. Primeiro é analisado o número de cromossomas e depois cada cromossoma é estudado individualmente. Pelo menos vinte células em metafase são analisadas de cada cultura de leucócitos. As técnicas fotográficas são utilizadas para confirmar e gravar a análise microscópica (19).

3.11.4 Estudo molecular

As técnicas moleculares iniciam-se com o isolamento do DNA e RNA da amostra do doente. O DNA é preferível ao RNA devido à sua maior estabilidade. As amostras para o isolamento de DNA incluem sangue periférico, medula óssea, biopsia tecidual e aspirado ganglionar. Todas as células nucleadas normais contêm um DNA idêntico. A diferenciação celular resulta do tipo de genes activos no DNA (19).

O Isolamento do DNA de uma amostra de sangue periférico anticoagulado com EDTA, obtém-se separando os glóbulos brancos das outras células. Uma solução de lise vai provocar a ruptura dos glóbulos brancos e a precipitação da solução visa remover as proteínas, deixando o DNA em solução. A adição de isopropanol precipita o DNA. Depois lava-se com etanol e coloca-se o DNA numa solução tampão, estando este agora preparado para o teste molecular. Para amplificar a sequência de DNA utiliza-se a PCR que vai produzir biliões de cópias. Para detectar o DNA amplificado podem utilizar-se diversos métodos: electroforese em gel, o uso de enzimas endonucleases restritivas ou a técnica de hibridização de Southern Blot. Actualmente a técnica de Fish (uso de *probes* que detectam especificamente as alterações cromossómicas) substitui a citogenética convencional, dado que as neoplasias de baixo grau e particularmente a LLC/LNH linfocítico, têm um baixo índice mitótico, o que torna difícil este exame. A LLC/LNH linfocítico não tem uma assinatura genética em termos de anomalias cromossómicas. O Fish investiga neste caso a presença de translocações, sendo as mais comuns: del13q14.3; trissomia 12, e ainda as deleções 11q22-23; 17p13.

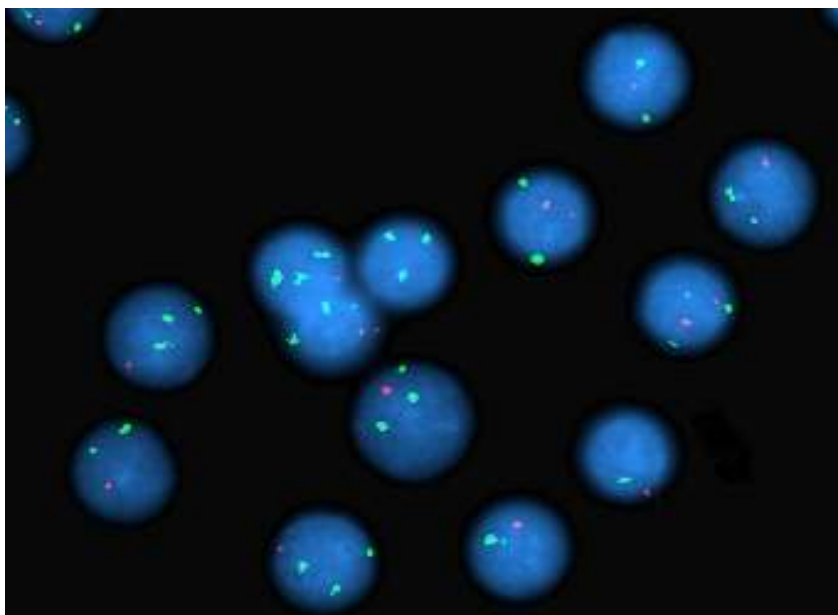
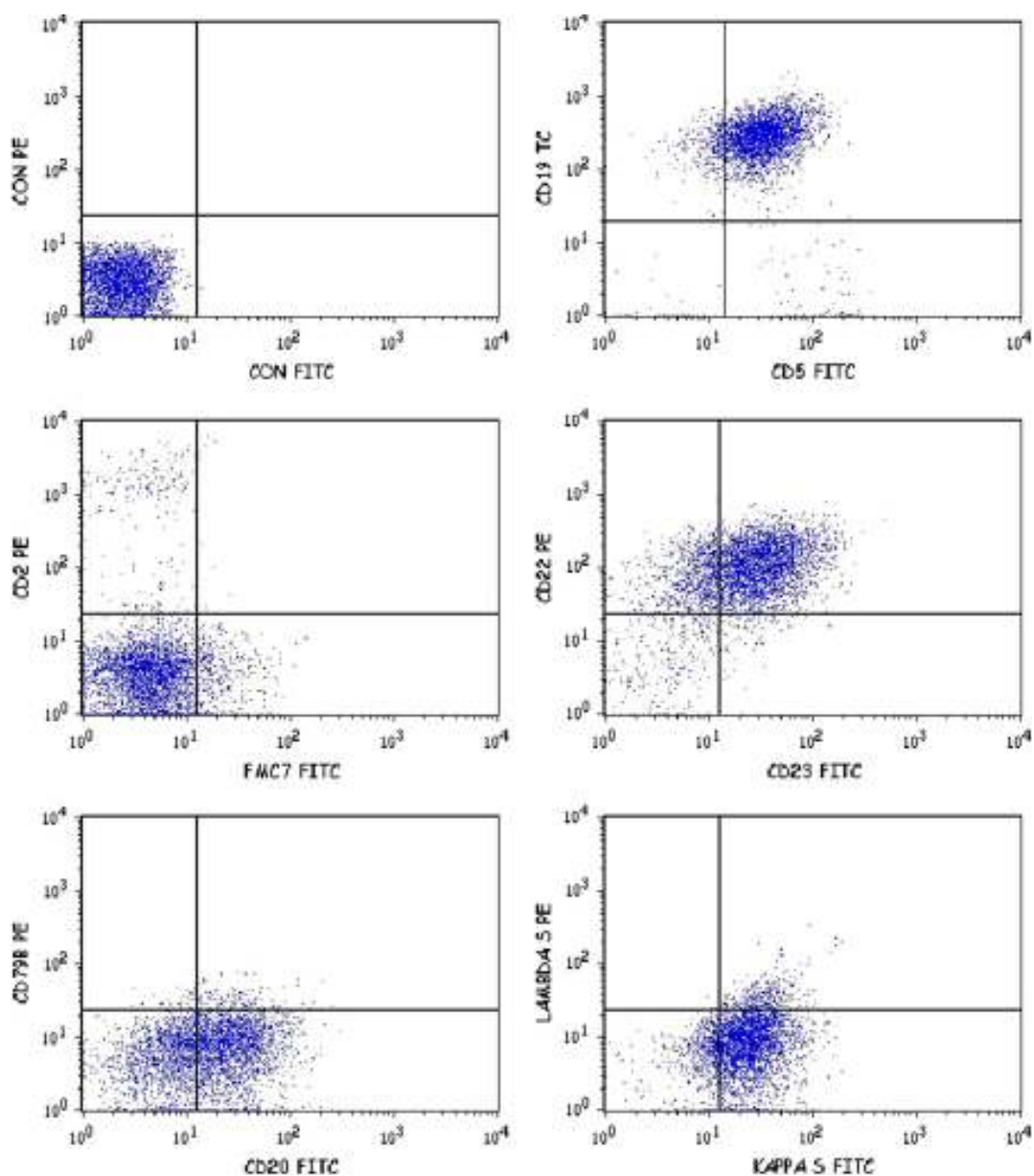


Imagem 2 – Técnica de Fish (5)

3.11.5 Fenotipagem

Caracteriza o imunofenotipo das células, que consiste em antigénios de superfície celular, citoplasmáticos e nucleares. Tem várias vantagens como uma rápida execução, uma elevada precisão e exactidão, permite a quantificação das células e a avaliação simultânea de vários antigénios na mesma célula. É um método fundamental para a confirmação do diagnóstico morfológico e indicação do prognóstico. A análise dos imunofenotipos é feita com o auxílio da técnica de citometria de fluxo. Esta utiliza, através de uma fonte de laser, com árgon, hélio ou néon, anticorpos monoclonais marcados com fluorocromos para caracterizar os antigénios de superfície celular de uma dada célula. Consiste no encadeamento de quatro tipos de sistemas de transporte, sistema de transporte do fluido celular, sistema óptico, sistema electrónico e sistema computadorizado. A suspensão de células é assim encaminhada através de um conjunto de tubos, até uma fonte luminosa que

provoca alterações na resistência eléctrica do fluido sendo gerados sinais ópticos consequentes. São então originados fótons de luz que passando por um sistema de filtros e lentes, são captados por detectores que os convertem em electrões. Finalmente, estes são analisados electronicamente sob a forma de gráficos de cor ilustrativa(19-21).



Citometria de fluxo com um perfil fenotípico característico de LLC CD19- CD5- CD23- FMC7- CD79-.

Imagem 3 – Citometria de fluxo (5)

3.12 Diagnóstico hemato-oncológico de LLC/LNH linfocítico

3.12.1 Biópsia

3.12.1.1 Medula óssea

Ao diagnóstico o padrão de infiltração da medula óssea pode ser nodular, intersticial ou difuso, no entanto, o padrão mais comum é o nodular associado a um componente intersticial. Os nódulos podem ter colecções centrais de prolinfócitos ou paraimunoblastos, formando centros de proliferação ou infiltrados predominantemente compostos por pequenos linfócitos B. Podem também estar presentes clusters de células eritroides e mieloides residuais. É possível a existência de megacariócitos, misturados no infiltrado celular neoplásico. Durante o tratamento, o componente intersticial desaparece e a doença torna-se confinada aos nódulos intertrabeculares. Estes frequentemente associam-se à quantidade aumentada de reticulina, o que resulta na ausência destas células do aspirado celular. A biópsia pode ter outros papéis adicionais como o cálculo da estimativa da hematopoiese residual no estágio C de Binet e o de auxílio na etiologia das citopenias (22-23).

3.12.1.2 Gânglio linfático

A biópsia neste caso é utilizada para investigação da linfocitose no contexto da LLC/LNH linfocítico e em doentes com linfadenopatias sem linfocitose significativa, como no caso de um linfoma linfocítico de células pequenas. É também extremamente importante para a confirmação do síndrome de Richter (5).

3.12.2 Estudo morfológico

Os linfócitos que caracterizam esta doença são linfócitos B maduros, pequenos, monomórficos, redondos, organizados em característicos centros de proliferação pseudofoliculares, designados por pseudofolículos, em várias secções tecidulares (5,16).

3.12.2.1 Medula óssea

Na infiltração da medula óssea os pseudofolículos são menos comuns. Pode ocorrer uma transformação para um linfoma de grandes células (Síndrome de Richter), no qual, morfológicamente, se observam um grande aglomerado de grandes células confluentes. Quando há uma associação entre a leucemia linfática crónica e o linfoma de Hodgkin, são visíveis células de Reed-Sternberg. (5)

Podem distinguir-se neste contexto dois tipos de LLC/LNH linfocítico: Com morfologia típica ou atípica.

3.12.2.2 LLC Típica

Neste caso, o mais comum, a maioria das células tem um tamanho reduzido a médio, com citoplasma escasso e núcleo regular com cromatina condensada.

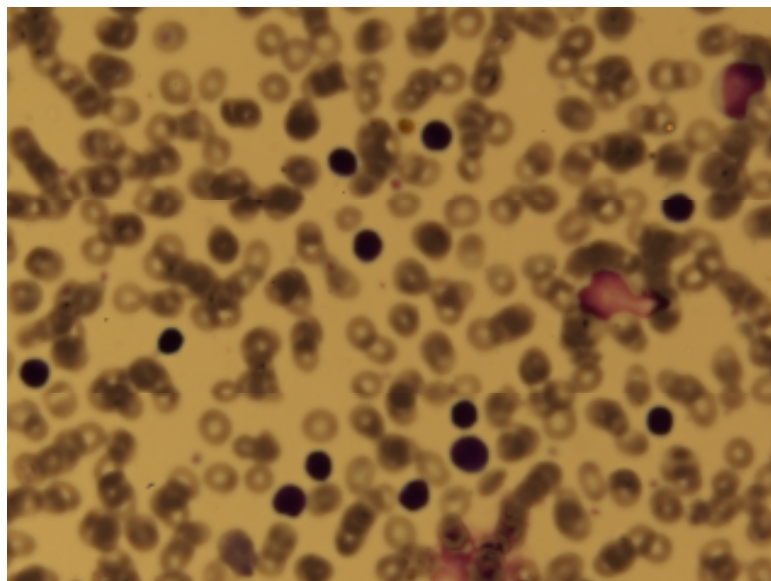


Imagem 4 – Esfregaço de sangue periférico (obtido a partir de um caso real do IPOFG)

3.12.2.3 LLC Atípica

Neste tipo, podem distinguir-se dois subtipos:

No primeiro subtipo, para além dos linfócitos, estão presentes mais de 10% de prolinfócitos e paraimunoblastos no sangue periférico, que são células de grandes dimensões nucleadas, o que vai dar origem a uma transformação prolinfocítica da LLC (LLC/PL). Os critérios diagnósticos de LLC/PL são a presença de um número superior a 10% de prolinfócitos e inferior a 55%, cujas manifestações clínicas são linfocitose, esplenomegalia e a expressão do Ki-67, marcador proliferativo (5).

No segundo subtipo, tipo celular misto de LLC/LNH linfocítico ou atípico, estão presentes células atípicas, com citoplasma basofílico e irregularidades nucleares, com características morfológicas sugestivas de diferenciação linfoplasmocitária e células clivadas (5).

A LLC/PL e a LLC/LNH linfocítico atípica progridem mais rapidamente do que a LLC/LNH linfocítico típica e necessitam sempre de tratamento. Por outro lado, estão associadas mais frequentemente à trissomia 12 e à não mutação da região variável da imunoglobulina, o que confere uma menor sobrevivência e têm uma taxa de proliferação maior. A deleção 13q14 é rara na LLC atípica (5).

Por ser o caso mais frequente, incidiremos na LLC/LNH linfocítico de morfologia típica. Esta doença caracteriza-se por uma infiltração clonal de linfócitos B a vários níveis, havendo características morfológicas específicas de acordo com a zona infiltrada.

3.12.2.4 Gânglios linfáticos

Quando a infiltração de linfócitos ocorre nos gânglios linfáticos, estes apresentam-se com um tamanho aumentado com padrão pseudo-folicular, com áreas pálidas embebidas num fundo escuro constituído por pequenos e redondos linfócitos. Podem estar presentes no infiltrado prolinfócitos e paraimunoblastos, formando centros de proliferação. Nalguns casos os linfócitos podem apresentar uma moderada irregularidade nuclear, podendo ser confundidos com linfoma do manto. No entanto, o diagnóstico mantém-se se estiverem presentes os pseudofolículos. 95% das células têm origem em células B, os restantes têm origem em células T (5,16).

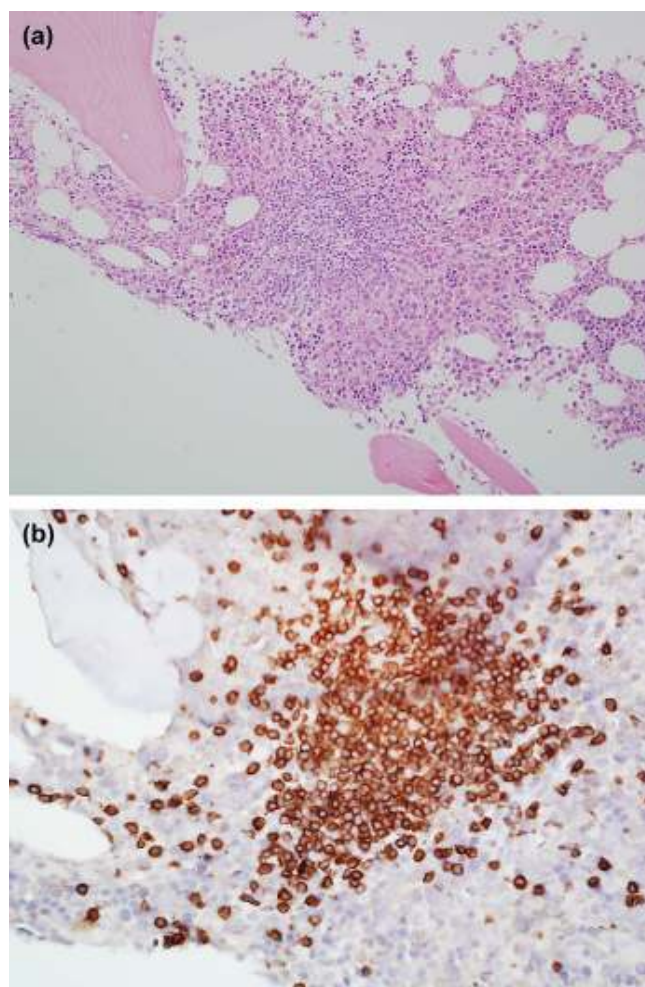


Imagem 5 – Infiltração linfocitária de um gânglio linfático. a) H&E b) CD3

3.12.2.5 Baço

Se a infiltração ocorre no baço, afecta ambas as polpas, branca e vermelha, sendo visíveis os centros de proliferação ao nível da polpa branca (5,16).

3.12.2.6 Sangue periférico

Quando há infiltração do sangue periférico, os linfócitos, responsáveis pela mesma, são maduros, pequenos de morfologia banal e escasso citoplasma. São células frágeis, destruídas facilmente na realização do esfregaço sanguíneo, o que origina artefactos designados por sombras

nucleares de Gumprecht . Estas células podem estar misturadas com células maiores ou atípicas, células clivadas ou prolinfocitos (16).

3.12.2.7 Mielograma

Cerca de 70 a 75% dos doentes apresentam comprometimento da medula óssea e há um predomínio de linfócitos B monoclonais circulantes (19).

3.12.2.8 Hemograma

O diagnóstico de uma leucemia linfática crónica baseia-se numa linfocitose (contagem de linfócitos superior ou igual a $5 \times 10^9/L$) presente, durante pelo menos três meses, com envolvimento da medula óssea e sangue periférico. A percentagem de leucócitos é muito elevada, com grande proporção de células maduras (23).

3.12.3 Estudo citogenético

Neste âmbito existem dois tipos distintos de leucemia linfática crónica, relacionados com a existência ou não de mutações somáticas, ao nível dos genes das cadeias das imunoglobulinas. 40 a 50 % não sofrem mutações somáticas, o que é consistente com os linfócitos B nativos. 50 a 60 % demonstram mutações somáticas, consistentes com a diferenciação das células B pós centro germinativo (24).

No que diz respeito a anomalias citogenéticas, a trissomia do cromossoma12 pode estar presente em cerca de 25 a 30 % dos doentes. Também se observam deleções do cromossoma13 (del13q14) em 50% dos casos e deleções a nível do cromossoma 11(del11q23), que codifica o gene da telangiectasia atáxica (ATM), quinase reguladora da TP53, que ocorrem em

cerca de 16% dos doentes. A deleção a nível do cromossoma 17p (del17p13), que codifica a proteína TP53, gene supressor tumoral, é mais rara, afectando apenas 7% dos doentes (4,5,16,23).

3.12.4 Fenotipagem

Imunofenotipicamente as células tumorais da medula óssea ou do sangue periférico expressam imunoglobulinas de superfície fracas Ig M com ou sem Ig D, com cadeias λ e κ , CD5, CD19, CD20, CD23, CD79b, FMC7 e ZAP70. O CD79b e o CD23 são marcadores de agudização e o FMC7 e ZAP70 são marcadores de prognóstico. O FMC7 reconhece um epítipo particular de complexo CD20 multimérico.

As células dos gânglios linfáticos expressam CD20+, CD79a+ e coexpressam bcl-2. Expressam também fracamente o CD5+ (4,5,16,23).

3.13 Diagnóstico diferencial

É muito importante, através de um diagnóstico hemato-oncológico correcto, diferenciar a LLC/LNH linfocítico de outras doenças linfoproliferativas.

No caso de linfomas, nomeadamente, na tricoleucemia, linfoma do manto ou linfoma folicular, é indispensável o estudo do imunofenótipo, para o diagnóstico diferencial com a LLC/LNH linfocítico (7). Especificamente, em relação ao linfoma do manto está a ser estudado um novo marcador, CD200, que está presente na LLC/LNH linfocítico e não no linfoma do manto. Este é útil porque vai tornar mais rápido e preciso o diagnóstico (25).

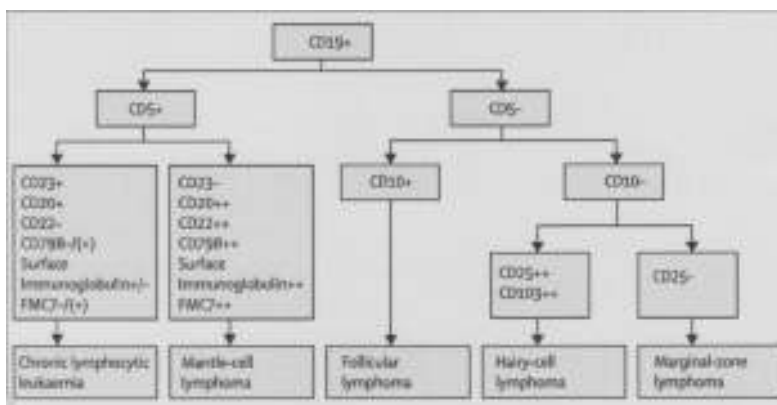


Imagem 6 – Diagnóstico diferencial entre LLC/LNH linfocítico e outros linfomas de células B (7)

A distinção entre a LLC/LNH linfocítico e as patologias de células T é, à semelhança dos anteriores, facilmente instituída pela imunofenotipagem (5,16,23).

Considerando as leucemias de células B, é necessário distinguir entre LLC/LNH linfocítico, LLC/PL (transformação prolinfocítica) e B-PLL (leucemia prolinfocítica de células B). Para isso, podemos utilizar maioritariamente estudos morfológicos. A LLC/PL é caracterizada por ter uma população de pequenos linfócitos e prolinfócitos, contrariamente à B-PLL cujo componente de células pequenas é pouco evidente, sendo a grande maioria de células presentes prolinfócitos com cromatina condensada e um único nucléolo proeminente (5,16,23).

Se a taxa absoluta de linfócitos estiver abaixo de 5000/L e as células forem relativamente normais e maduras ou definitivamente pleomórficas, devem ser consideradas, outras hipóteses de diagnóstico como viroses e outras infecções. Neste contexto, pode também ocorrer uma duplicação do número de

linfócitos que além de uma característica da LLC/LNH linfocítico, também é frequente depois da vacinação ou mediante tratamento com corticoterapia (5,16,23).

Os pacientes com micose fungóide apresentam, com frequência, grandes gânglios linfáticos com leucocitose e linfócitos imaturos no sangue periférico. O Síndrome de Sézary é uma eritrodermatite pigmentada esfoliativa crónica, possivelmente uma variante de micose fungóide ou de tumor linforreticular, caracterizada por linfócitos atípicos no sangue periférico não patognomónicos (5,16,23).

Como outras causas possíveis de linfocitose, existe uma panóplia de doenças que podemos referir: as infecções agudas, nomeadamente, a mononucleose infecciosa, as doenças exantemáticas como o sarampo, rubéola, varicela, brucelose, febre tifóide e paratifóide; as infecções crónicas; as reacções alérgicas e medicamentosas; as doenças auto-imunes; a tireotoxicose e a insuficiência renal (5,16,23).

3.14 Tratamento

As formas de tratamento existentes no âmbito da LLC/LNH linfocítico geralmente induzem remissão, no entanto, a maioria dos doentes tem recaídas e esta doença continua a ser incurável. Actualmente o transplante alogénico (dador compatível) é a única forma de tratamento potencialmente curativa, contudo, face à heterogeneidade da LLC/LNH linfocítico, existem muitas estratégias paliativas de tratamento para esta doença (6,7).

ESTADIOS DE BINET	CARACTERÍSTICAS
A	< 3 ÁREAS LINFÓIDES
B	> 3 ÁREAS LINFÓIDES
C	HEMOGLOBINA < 10g/dL OU PLAQUETAS < 100X10 ⁹ /L
ESTADIOS DE RAI	
0	APENAS LINFOCITOSE
I	LINFADENOPATIAS
II	HEPATO OU ESPLENOMEGALIA +/- LINFADENOPATIA
III	HEMOGLOBINA < 11 g/dL
IV	PLAQUETAS < 100x10 ⁹ /L

Tabela 1 – Estadiamento de Rai e Binet (6)

As cinco áreas linfóides do estadiamento segundo Binet consistem em área cervical unilateral ou bilateral, linfadenopatias axilares e inguinais, hepatomegalia e esplenomegalia. O estágio 0 e I de Rai são considerados de baixo risco, o estágio II de risco intermédio e o III e IV de alto risco.

Geralmente, os doentes recentemente diagnosticados, com doença assintomática, no estágio Rai 0 e Binet A, devem ser monitorizados sem instituição de terapêutica, se não evidenciarem progressão da doença. “Estudos realizados nesse âmbito, como o estudo do French Cooperative Group on CLL, the Cancer and Leukemia Group B, The Spanish Group

Pethema e estudos realizados pelo Medical Research Council no Reino Unido, em doentes num estágio prévio de doença, confirmam que o uso de agentes alquilantes, nestes casos, não prolongam a sobrevivência dos mesmos. Este resultado foi confirmado por uma meta-análise (23).

Os doentes num estágio intermédio da doença, estágio Rai II e aqueles que estão num estágio avançado da mesma, estágio Rai III e IV, ou no estágio B ou C de Binet, usualmente beneficiam da introdução de tratamento (23).

As indicações para o tratamento de doentes com LLC/LNH linfocítico são as seguintes: progressiva falência da medula óssea ou agravamento da anemia e/ou da trombocitopenia; linfadenopatias massivas, superiores a 10 cm, ou progressivas; esplenomegalia massiva, superior a seis centímetros, ou progressiva; presença de linfocitose progressiva, aumento de 50% do número de linfócitos em dois meses ou tempo de duplicação linfocitária inferior a seis meses; presença de sintomas sistémicos como perda de peso superior a 10% em seis meses, febre superior a 38°C durante duas ou mais semanas, sem evidência de outra infecção, fadiga extrema, suores nocturnos, durante mais de um mês, sem evidência de outra infecção e, finalmente, citopenias autoimunes, que respondem fracamente a terapêutica corticoesteróide ou outra. Os doentes que desenvolvem anemia hemolítica auto-imune ou púrpura trombocitopénica imune, devem ser tratados devido à sua citopenia auto-imune mas, muitas vezes, não necessitam terapêutica anti-leucémica (6).

3.14.1 Tratamento de primeira linha

3.14.1.1 Agentes alquilantes

O Clorambucil é um derivado da mostarda e é muito utilizado neste contexto, podendo ser utilizado num esquema terapêutico contínuo ou intermitente. Os doentes intolerantes podem responder a baixas doses diárias de Ciclofosfamida, agente nitrogenado do grupo das oxazoforinas. Como efeitos tóxicos do Clorambucil podemos referir valores de neutrófilos inferiores a $1 \times 10^9/L$, e ocorrência de diarreia (6,7,26).

Vários estudos compararam o uso do Clorambucil a outros esquemas terapêuticos, como por exemplo o COP (Ciclofosfamida, Vincristine e Prednisolona), concluindo que este último, resultava em respostas maiores e mais rápidas, por parte dos doentes, com uma taxa de sobrevivência idêntica aos doentes tratados com Clorambucil. Outro regime modificado em oposição ao Clorambucil foi o CHOP (Ciclofosfamida, Adriamicina, Vincristine e Prednisolona), mas não foi confirmado um aumento da taxa de sobrevivência. Foi também constatado que com uma dose diária alta de Clorambucil, 15 mg/dia, se consegue uma taxa de sobrevivência maior, do que com uma dose intermitente, 75 mg de quatro em quatro semanas (6,7,26).

3.14.1.2 Análogos de Purina

A Fludarabina produz uma taxa de resposta de 70-80%, das quais 30% atingem uma resposta completa. Quando é administrada em monodoses de 25 mg/m², intravenosamente, durante cinco dias, mensalmente, o índice de sobrevivência é de cerca de 73 meses. Os efeitos adversos deste fármaco são o risco de infecções severas, mielotoxicidade e o síndrome de lise tumoral. As

contra-indicações absolutas são a insuficiência renal grave e a citopenia auto-imune. Pode utilizar-se Fludarabina com Ciclofosfamida, agente nitrogenado do grupo das oxaforinas, combinação que se comprovou resultar em taxas de resposta completa e maior sobrevivência livre de progressão da doença. É também possível a utilização de Mitoxantrone com Fludarabina e Ciclofosfamida, na LLC/LNH linfocítico resistente ou na qual houve uma recaída (6,7,26).

A Cladribina produz uma taxa de resposta de aproximadamente 75% com 38% de respostas completas. A duração de resposta é de cerca de dois anos. Foi realizado um estudo comparativo entre a utilização de um esquema composto de Cladribina associada a Prednisona e Clorambucil e Prednisolona, cujos resultados demonstraram uma maior taxa de resposta, maior frequência de ocorrência de remissão completa e maior sobrevivência livre de progressão de doença para os doentes que utilizaram o primeiro esquema terapêutico (6,7,26).

A Pentostatina é usualmente combinada com Ciclofosfamida e Rituximab em doentes nunca tratados com LLC/LNH linfocítico. Existem estudos que confirmam ser um esquema menos tóxico do que a combinação entre Fludarabina , Ciclofosfamida e Rituximab (6,7,26).

3.14.1.3 Corticoesteróides

Não existe evidência estatística em relação ao benefício para o tratamento inicial da LLC/LNH linfocítico, da utilização de doses pequenas, intermédias ou elevadas de corticosteróides. No entanto, é recomendado que

os doentes no estágio C da doença recebam uma pequena dose de Prednisolona antes do tratamento com Clorambucil (7). A Metilprednisolona é mais eficaz em doentes que sejam ZAP 70 +, induzindo mecanismos de apoptose mais rapidamente (27).

3.14.1.4 Anticorpos monoclonais

Alemtuzumab é o mais utilizado. A terapêutica com este fármaco resulta numa elevada taxa de resposta, mas num curto tempo de seguimento. Ainda não foi comprovada a existência de um maior benefício desta terapêutica em relação à convencional (7) porque o mecanismo de citotoxicidade do Alemtuzumab ainda não é bem compreendido (27). Todavia, parece ser o único agente capaz de matar as células leucémicas com mutações ou deleções a nível do gene TP53. O uso de factores de crescimento pode beneficiar os doentes com citopenias consequentes do tratamento com este fármaco (6,7,26,28).

Rituximab é outro anticorpo monoclonal, o quimérico monoclonal anti-CD20 e é moderadamente efectivo apenas se utilizado na 1ª linha de tratamento, cuja utilização induz respostas parciais breves, não sendo por isso recomendado em monoterapia na LLC/LNH linfocítico. Normalmente é utilizado com Fludarabina ou Fludarabina e Ciclofosfamida (6,7,26,28).

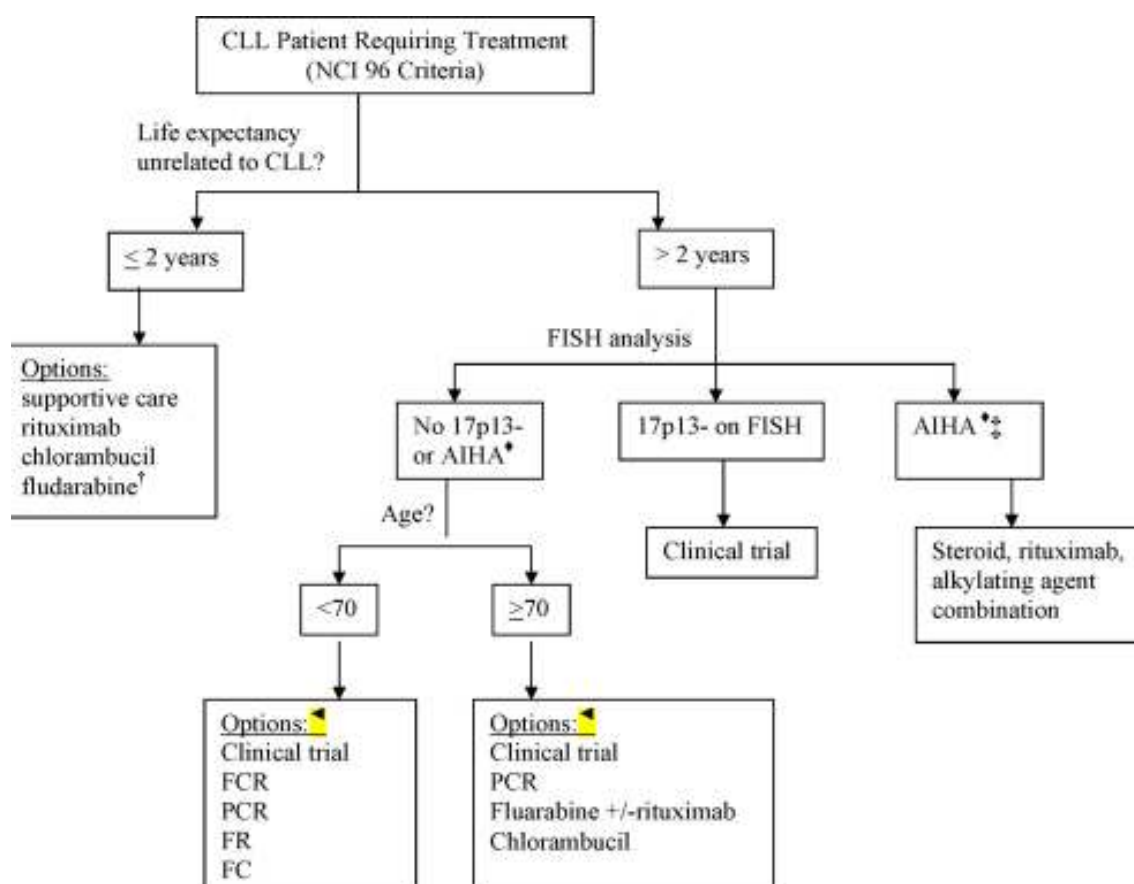


Imagem 7 – Algoritmo de tratamento. AIHA – Anemia hemolítica autoimune. FCR – Fludarabina + Ciclofosfamida + Rituximab. PCR – Pentostatina + Ciclofosfamida + Rituximab. FC - Fludarabina + Ciclofosfamida. FR – Fludarabina + Rituximab (29).

3.14.2 Tratamento de segunda linha

Os doentes com doença resistente, com progressão da doença num curto espaço de tempo depois do primeiro tratamento e com células leucémicas portadoras da del17p, normalmente não respondem à quimioterapia usual e têm uma pequena taxa de sobrevivência. Para estes doentes devem ser propostas outras alternativas de tratamento ou repetição do tratamento anterior.

Doentes que têm uma recaída depois de um tratamento inicial com Clorambucil devem ser tratados com um segundo ciclo do mesmo fármaco. Os doentes refractários às doses de Clorambucil devem ser tratados com Fludarabina. Se esta estiver contra-indicada devem utilizar o esquema CHOP.

Os doentes com doença progressiva após um ano de terapêutica com Fludarabina, mas cuja resposta inicial ao fármaco tiver sido favorável, devem receber um segundo ciclo de Fludarabina. Os doentes ainda refractários devem ser tratados com Fludarabina e Ciclofosfamida (6,7,26).

Os doentes resistentes à Fludarabina têm pior prognóstico e outras opções de tratamento devem ser instituídas: Uma delas consiste na utilização de altas doses de metil prednisolona, cujas contra-indicações absolutas são a existência de úlceras gástricas ou duodenais activas e as contra-indicações relativas são a presença de Diabetes Mellitus ou insuficiência cardíaca. Este tratamento é muito eficaz nos casos em que existe linfadenopatias e anomalias do p53. Se não houver linfadenopatias, o Alemtuzumab é recomendado, principalmente nos doentes previamente tratados com agentes alquilantes (6,7,26). Outra alternativa baseia-se no transplante.

3.14.2.1 Transplante de células estaminais

Esta opção justifica-se apenas para doentes mais jovens, com idade inferior a sessenta e cinco anos, cujo tratamento com agentes alquilantes e análogos das purinas não se revelou eficaz. Existem duas formas de transplante: autólogo e alogénico.

3.14.2.1.1 Transplante autólogo

Em relação ao primeiro tipo, os doentes são transplantados após obtenção de uma taxa de resposta favorável ao tratamento com quimioterapia, usualmente Ciclofosfamida e irradiação corporal total, e a fonte de células tronco é a medula óssea manipulada “in vivo” com os anticorpos monoclonais B5, anti CD-10 e anti CD20. Diversos estudos têm sido realizados neste âmbito mostrando taxas de mortalidade de 4-10% e cerca de 65-94% dos doentes estão vivos quatro anos após o transplante. A evidência do benefício desta alternativa terapêutica comparativamente ao obtido com outros tratamentos de 2ª linha, consiste na observação de remissões mais duradouras após o transplante autólogo. No entanto, é ainda desconhecida a melhor altura para o realizar e origina ainda uma grande quantidade de síndromes mielodisplásicos secundários (6,7).

3.14.2.1.2 Transplante alogénico

Em relação ao segundo tipo de transplante, o transplante alogénico, este é o único procedimento potencialmente curativo, com a maior taxa de sobrevivência, imunologicamente mediada e obtenção de remissão completa. É utilizado nas LLC/LNH linfocítico de alto risco, cuja doença é refractária à terapêutica com análogos de purina ou ao transplante autólogo de células tronco. Neste procedimento as células estaminais são obtidas através do antigénio leucocitário humano (HLA) compatível (6,7).

3.14.3 Consolidação das remissões

É habitualmente realizada através de altas doses de quimioterapia, nomeadamente Alemtuzumab subcutâneo em doses de 10mg e por vezes recorrência ao transplante autólogo de células estaminais (7).

Pode ainda ser considerada esplenectomia para o alívio sintomático e melhoria das citopenias periféricas secundárias ao hiperesplenismo ou presença de autoanticorpos (7).

3.14.4 Doentes imunodeprimidos

Deve-se ter em atenção as infecções concomitantes dos doentes com LLC/LNH linfocítico, antes de ser administrado o tratamento. Os doentes infectados com VIH têm um risco muito aumentado de desenvolver supressão imune, ao serem utilizadas terapêuticas anti-leucémicas. Da mesma forma, têm uma maior probabilidade de apresentar mielotoxicidade, durante o tratamento anti-retroviral.

Os doentes infectados com CMV têm uma probabilidade aumentada de sofrer reactivação da infecção, se forem utilizados agentes terapêuticos como o Alemtuzumab ou o transplante alogénico. No entanto, esta seropositividade não representa uma contra-indicação aos tratamentos acima referidos, impõe sim uma monitorização contínua destes doentes. Uma PCR aumentada constitui a indicação para o tratamento concomitante da infecção por CMV, pressupondo reactivação da mesma.

De modo semelhante, os doentes com infecções por vírus da hepatite B e vírus da hepatite C podem sofrer reactivação das mesmas durante a terapêutica com fármacos mielossupressivos ou imunossupressivos. Os doentes portadores de uma infecção por HBV crónica, durante o tratamento com agentes quimioterápicos, devem receber terapêutica profilática com análogos de nucleósidos (23).

3.14.5 Novos agentes terapêuticos

Muitos outros agentes terapêuticos têm surgido, entre eles, Lenalidomida que pode interferir na relação entre o tumor e o estroma; Ofatumumab que é um anticorpo monoclonal CD20; Lumiliximab, um anti-CD23. As deleções 11q23 têm se mostrado sensíveis ao inibidor polimerásico oral 4-amino-1,8-naftalamida e a resistência ao tratamento mediada pela deleção ATM pode ser diminuída pelo Nutlin3a (7). Linfócitos T efectores geneticamente manipulados, podem ser utilizados no tratamento da LLC/LNH linfocítico, devido ao facto de expressarem receptores antigénicos de superfície, específicos das células B (30).

3.15 Complicações

3.15.1 Infecções

A ocorrência de infecções decorrentes da LLC/LNH linfocítico, é uma das suas maiores complicações, tendo uma incidência de 0,26 a 0,47 por doente por ano, ocupando 50% das causas de morte relacionadas com a doença. A susceptibilidade aumentada à infecção resulta de inúmeros factores, entre eles, hipogamaglobulinemia, neutropenia, função alterada das células “Natural Killer” e sistema complemento defeituoso. A maioria das infecções são bacterianas, por pneumococcus, haemophilus influenzae, staphylococcus, sendo as mais frequentes, as infecções respiratórias, septicemia, pielonefrite e infecções urológicas. As infecções fúngicas, virais e oportunistas, antes raras, são agora cada vez mais frequentes, devido à introdução de terapêutica com análogos de purina, Alemtuzumab e transplante (6).

3.15.2 Hipogamaglobulinémia

A Hipogamaglobulinémia é outra complicação da LLC/LNH linfocítico, e ocorre em cerca de 20-70% dos doentes e é mais frequente naqueles com doença avançada ou prolongada (6).

Os doentes com hipogamaglobulinémia e infecções bacterianas recorrentes, especialmente aquelas que se mostraram resistentes à antibioterapia profilática, devem ser tratadas com imunoglobulina intravenosa profilática(6).

3.15.3 Citopenias

A incidência de citopenias (neutropenia, anemia ou trombocitopenia) é também significativamente maior nos doentes com LLC/LNH linfocítico do que na população em geral (6). Quando ocorre uma anemia esta é usualmente normocrómica e normocítica com contagem de reticulócitos diminuída ou sem alteração. Durante o tratamento podem ocorrer como efeito secundário do mesmo ou até três meses após o tratamento, documentadas por uma diminuição do nível de hemoglobina, entre 10 e 2 g/dL, ou diminuição do valor das plaquetas, mais de 50% ou valor absoluto inferior a $100 \times 10^9/L$. Estas citopenias definem uma doença progressiva se houver infiltração por células clonais da medula óssea demonstrada por biopsia. Normalmente estas citopenias são corrigidas por uma terapêutica antileucémica eficiente, no entanto, doentes com anemia podem beneficiar da utilização de factores estimuladores da eritropoiese (23).

3.15.3.1 Citopenias autoimunes

A ocorrência de citopenias autoimunes, com o aparecimento de anticorpos autoimunes, é também frequente nos doentes com LLC/LNH linfocítico. A púrpura trombocitopénica autoimune e a anemia hemolítica autoimune, exemplos destas, devem ser tratadas inicialmente com glicocorticóides e não com quimioterapia. O tratamento de segunda linha da anemia hemolítica autoimune inclui opções como esplenectomia, imunoglobulinas intravenosas ou terapêutica imunossupressora com agentes como Ciclosporina A, Azatioprina ou baixas doses de Ciclofosfamida. Também podem ser utilizados anticorpos monoclonais como o Alemtuzumab ou Rituximab. As citopenias autoimunes refractárias são uma indicação para terapêutica com quimioterapia ou quimioimunoterapia (23).

3.15.4 Síndrome de Richter

A transformação linfomatosa ou síndrome de Richter, pode ocorrer em cerca de 5 a 10% dos doentes com LLC e foi originalmente descrita por Richter (1928). Numa minoria dos doentes este diagnóstico é paralelo ao de LLC, mas na grande maioria dos doentes, a transformação linfomatosa é uma complicação decorrente da LLC. O síndrome de Richter é caracterizado pela transformação da leucemia linfóide crónica num linfoma não-Hodgkin de alto grau de malignidade, leucemia prolinfocítica, doença de Hodgkin, mieloma múltiplo ou leucemia linfoblástica. Ocorre em 2%-6% dos casos de LLC e pode ser induzida por processos virais ou alterações genéticas. Estas células tumorais demonstram uma alta taxa de proliferação e maior probabilidade de terem uma anomalia ao nível do gene supressor tumoral P53. Neste contexto,

os doentes podem ter linfadenopatias progressivas, massas abdominais sintomáticas, envolvimento extra-ganglionar, febre, perda de peso ou elevação da LDH. Para a confirmação da transformação é necessário o estudo histológico de um gânglio linfático. Tem uma taxa de sobrevivência de cinco meses, mesmo com tratamento baseados em esquemas quimioterápicos. Os esquemas mais frequentes são aqueles que incluem antraciclina, como, por exemplo, o CHOP (6, 31).

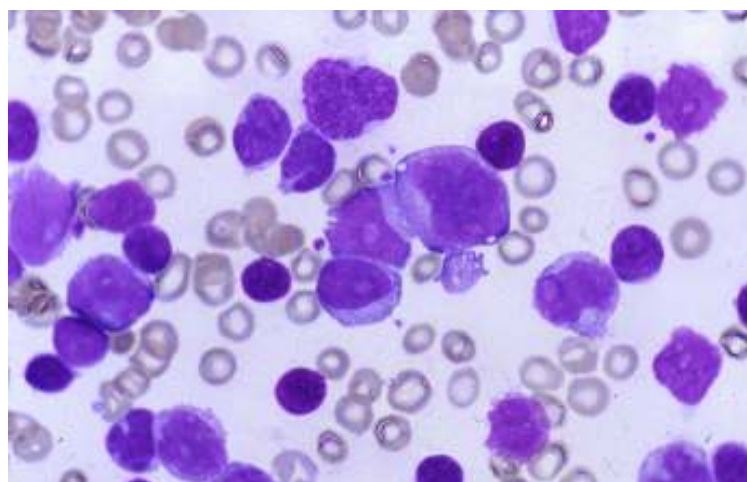


Imagem 8 – Síndrome de Richter (5)

3.15.5 Tumores secundários

Finalmente, a ocorrência de tumores secundários é muito frequente, na doença tratada e não tratada (6).

3.16 Prognóstico e factores preditivos

O curso clínico é indolente mas, a doença não tem ainda cura terapêutica. Um terço dos doentes nunca necessita de tratamento, o outro terço tem uma doença inicial indolente que progride e o último terço exhibe de início uma doença agressiva que requer tratamento imediato. A sobrevivência média

é de cerca de 5 anos, após o diagnóstico, no entanto, este factor tem muito pouca relevância na heterogeneidade da história natural da doença. Os doentes mais novos tendem a morrer de doenças consequentes da LLC/LNH linfocítico, e os doentes mais velhos, morrem mais frequentemente de doenças não relacionadas com esta. (6,16).

A presença das deleções a nível do cromossoma 17p e 11q relacionam-se com um pior prognóstico e predominam nos estádios mais avançados de LLC e nos doentes com genes IGHV não mutados. A deleção 13q14 ou um cariótipo normal associam-se a um bom prognóstico.

A molécula sinalizadora ZAP-70 das células T normais e células NK é expressa anormalmente na LLC/LNH linfocítico quando esta não tem os genes IGVH mutados, sendo, um factor preditivo de mau prognóstico.

FACTOR	BAIXO RISCO	ALTO RISCO
Sexo do doente	Feminino	Masculino
Estadio clínico	Binet A; Rai O, I	Binet B ou C; Rai I, II ou III
Morfologia linfocitária	Típica	Atípica
Padrão de infiltração medular	Não difuso	Difuso
Duplicação da contagem linfocitária	>12meses	<12 meses
Marcadores serológicos (β2 microglobulina, LDH, timidina quinase)	Normais	Aumentados

<p>Anomalias genéticas</p>	<p>Mutação dos genes IGHV</p>	<p>Delecção 11q23; Perda ou mutação no p53 Não mutação dos genes IGHV</p>
<p>Imunofenótipo</p>		<p>Expressão do CD38 Expressão da ZAP70</p>

Tabela 2 – Factores importantes de prognóstico (6) (16) (32) (33) (34) (35) (36)

3.17 Seguimento

O seguimento dos doentes com LLC/LNH linfocítico requer uma colaboração estrita entre os cuidados de saúde primários e os secundários, nomeadamente, o Serviço de Hematologia (6).

As situações que impõem uma referenciação do doente ao Serviço de Hematologia são: doença sintomática, presença de linfadenopatias ou hepatoesplenomegalia, presença de linfocitose absoluta, no contexto de anemia ou trombocitopenia. Os doentes assintomáticos, apenas com uma linfocitose ligeira, podem ser seguidos pelos Cuidados de saúde primários (6).

4 CAPÍTULO II – CASO CLÍNICO

J.F., sexo feminino de setenta e cinco anos, natural e residente em Faro.

O início dos sintomas verificou-se em Agosto de 2009, sob a forma de um quadro de astenia que se foi agravando progressivamente.

Como antecedentes pessoais tem Diabetes tipo II e não tem antecedentes familiares relevantes.

No dia 1 de Dezembro de 2009 recorreu ao Serviço de urgência do Hospital de Faro EPE devido ao aparecimento de equimoses dispersas na superfície corporal, algumas de desaparecimento espontâneo. Foi mandada para casa com terapêutica sintomática analgésica e anti-inflamatória. (poder-se-ia pensar em eritema nodoso, mas frequentemente este atinge mulheres entre 30-40 anos; pode ser uma manifestação de uma infecção estreptocócica, tuberculose, sarcoidose, reacção a sulfonamidas ou anticoncepcionais orais)

Voltou ao Serviço de urgências uma semana depois com dor na região sagrada, acompanhada de febre alta, 39,9°C, e calafrios, tendo sido medicada nessa altura com uma isoxazolpenicilina, Flucloxacilina. Foi internada para estudo e realizou um hemograma e análises bioquímicas que evidenciaram uma pancitopenia, marcadores da função renal e marcadores de fase aguda aumentados. No dia 16 de Dezembro de 2009 foi transferida para o Instituto Português de Oncologia de Lisboa sem suporte transfusional por incompatibilidade de tipagem.

No estudo analítico de entrada a doente apresentou alterações a nível do hemograma como, uma anemia grave, hematócrito baixo, linfocitose, trombocitopenia (segue em anexo). Evidenciou alteração da função renal, por aumento dos parâmetros. As proteínas de fase aguda como o fibrinogénio e a proteína C reactiva estavam elevados, assim como os D-Dímeros, ferritina e a fosfatase alcalina (poder-se-ia pensar numa leucemia aguda). A observação do esfregaço de sangue periférico revelou a existência de linfocitose (90% de linfócitos pequenos de morfologia banal, muitas sombras nucleares). (LLC/LNH linfocítico??? Falta a fenotipagem!)

No dia seguinte foram repetidos os parâmetros de rotina (segue em anexo). Perante o resultado da imunofenotipagem foi confirmado o diagnóstico de LLC: 73% de células B que expressam o fenótipo CD19+/CD20+ (intensidade moderada)/CD5- (distribuição heterogénea)/CD10-/CD23-/CD79b+/CD200+/CD43+ (fraca intensidade)/CD11c+/IgM-/CD103-/CD22+ (intensidade moderada)/monoclonalidade Kappa com intensidade moderada. Estes resultados são compatíveis com expressão periférica de Síndrome Linfoproliferativo B, sugestivo de Leucemia linfocítica crónica de linfócitos B/linfoma linfocítico de células pequenas.

Realizou também um estudo imunológico com doseamento de imunoglobulinas, as quais estavam diminuídas (IgM baixa), anticorpos anti-nucleares, anti LKM, anti SSA, anti SSB, anti citoplasma neutr.ANCA, anti RNP cujos resultados foram todos negativos. No que diz respeito ao estudo virológico, foi averiguada a existência de infecção vírica pela hepatite A, B e C e VIH, tendo sido todos os resultados negativos. A doente também não tinha

carga viral respeitante à leucemia células T do adulto, Parvovírus B19, Citomegalovírus e vírus Herpes Humano tipo 6 e tipo 8. Em relação aos parâmetros endocrinológicos, T4, T3 e TSH encontravam-se diminuídos.

Constatámos que o pedido exaustivo de exames laboratoriais não trouxe nenhum benefício em termos de confirmação do diagnóstico. Nomeadamente, o estudo da coagulação, que uma história clínica bem feita torna estes testes obsoletos, estudo este que foi repetido no seguimento.

A LDH é tão inespecífica que há poucas situações que a tornem esclarecedora, mesmo assim foi pedida à entrada e no seguimento.

A haptoglobina baixa sugere uma anemia hemolítica por existência de auto-anticorpos, o que torna desnecessário o pedido de ferro e transferrina que não são esclarecedores para a etiologia da anemia.

O RA teste e o Waller Rose são muito inespecíficos e inconclusivos.

Para avaliar a função tiróideia basta-nos a TSH, cujo valor normal permite excluir doença funcional da tiróide, visto que tem um alto valor preditivo negativo.

Face ao quadro agudo da doente é inútil avaliar a ficha lipídica.

Em relação à função hepática, no seguimento não valia a pena repetir as determinações porque não havia resultados discrepantes à entrada.

Conclui-se que só para o diagnóstico foram suficientes dois exames: hemograma e fenotipagem.

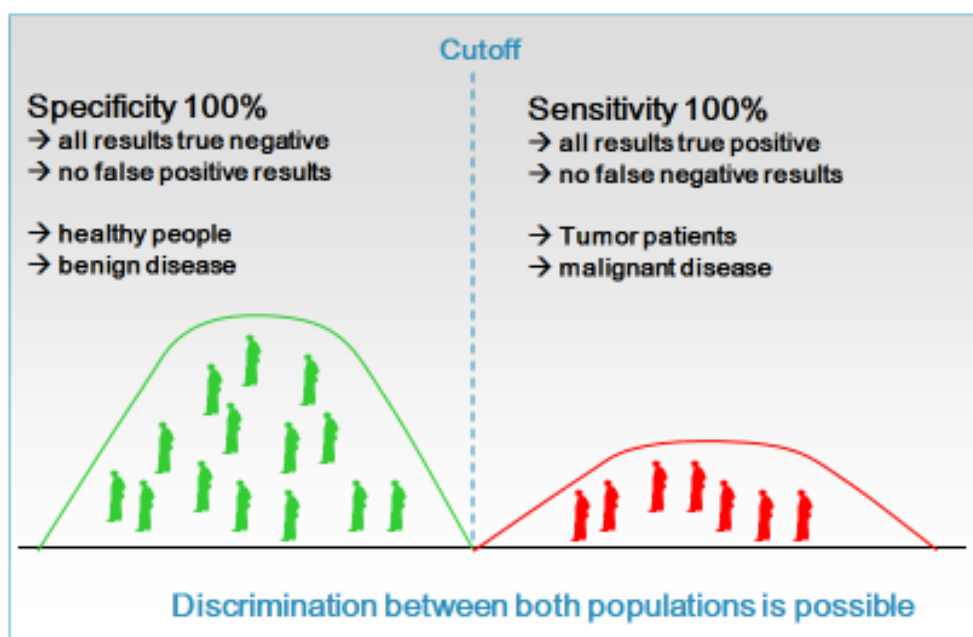
5 CAPÍTULO IV – TESTES LABORATORIAIS

5.1 Introdução

O uso dos testes laboratoriais é um assunto que merece reflexão. Os testes têm um impacto muito significativo na qualidade do serviço prestado ao doente, e também na totalidade dos custos com a saúde.

O objectivo dos testes diagnósticos é avaliar a probabilidade de haver doença. O poder de um teste para conseguir este objectivo reflecte-se nas suas características de desempenho. A interpretação dos testes diagnósticos faz-se com base em raciocínios probabilísticos.

Os valores que os testes diagnósticos apresentam nas várias situações clínicas a investigar são a base para a sua interpretação. A partir deles, é possível estimar um conjunto de parâmetros, que definem as suas características de desempenho.



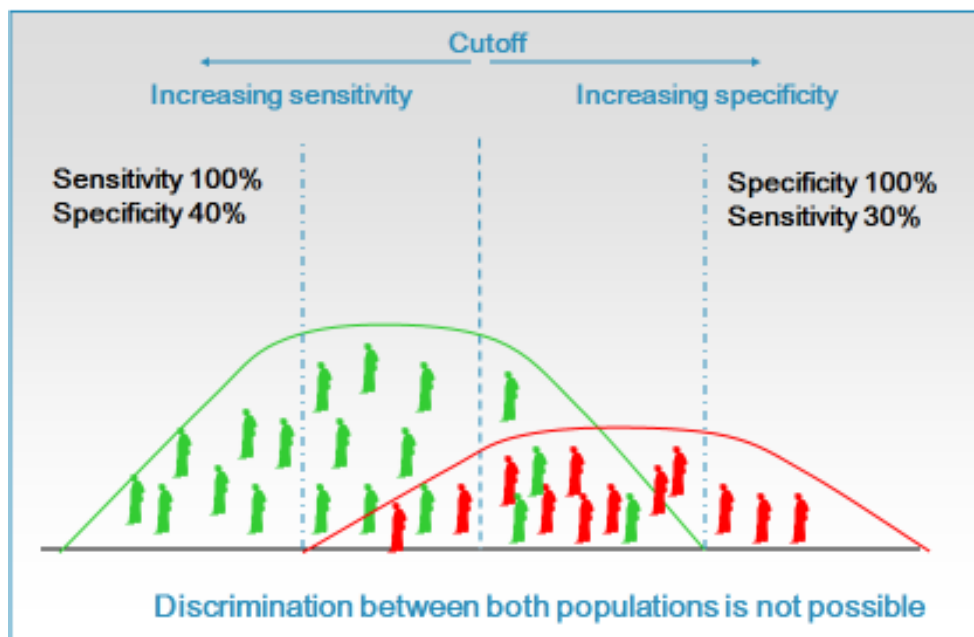


Imagem 9 – Situação ideal vs situação real no âmbito das características de desempenho dos testes laboratoriais (44)

Não existe o teste ideal, vamos ter sempre que lidar com falsos positivos e falsos negativos.

O uso inadequado dos testes tem consequências a vários níveis: aumento de custos, desconforto do doente, ineficiência, preocupação e perigo de falsos positivos.

5.2 Utilidade dos testes

1. Rastreamento de doença em indivíduos de uma população
2. Diagnóstico de uma patologia em indivíduos doentes
3. Confirmação de um diagnóstico provisório
4. Monitorização de terapêutica

5.3 Valor Anormal

Reconhece-se um valor anormal quando comparamos o valor obtido com um intervalo de referência (Valores de Referência).

Níveis de decisão são importantes para tomar uma atitude terapêutica e não para detectar uma patologia.

Níveis terapêuticos baseiam-se em concentração terapêutica máxima sem risco de toxicidade e na mínima concentração com eficácia terapêutica.

5.4 Que testes são úteis

1. Para esclarecimento do diagnóstico, de acordo com a sintomatologia e o contexto epidemiológico?
2. Qual a hierarquia dos testes a requisitar?

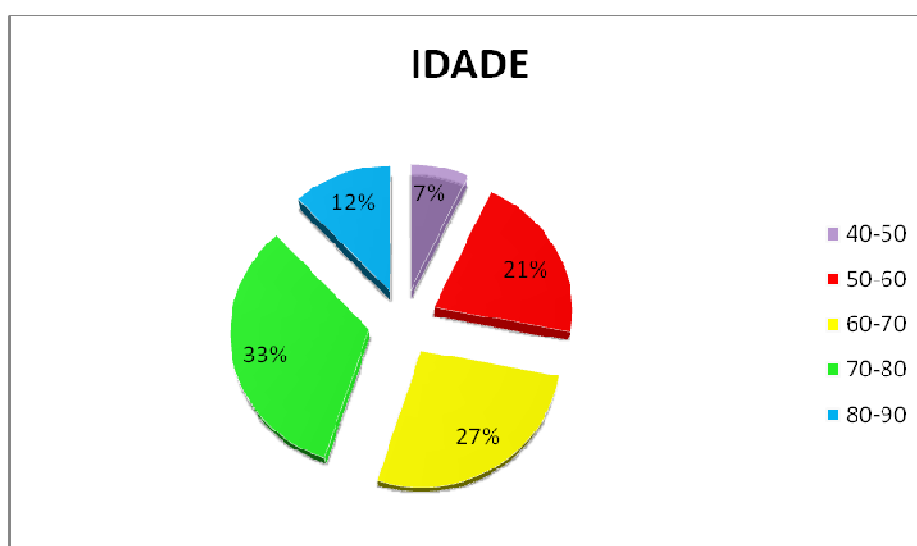
5.5 Estratégia do pedido

TESTE SENSÍVEL (↑ vp- , ↓ FN)	TESTE ESPECÍFICO (↑ vp+ ↓ FP)
- Rastreio de doença	- Monitorização terapêutica
- Suspeita clínica	- Evolução da doença
- Exclusão de patologia	- Determinação do prognóstico

6 CAPÍTULO III – REVISÃO DO PONTO DE VISTA LABORATORIAL DE 57 NOVOS CASOS NO ANO DE 2009

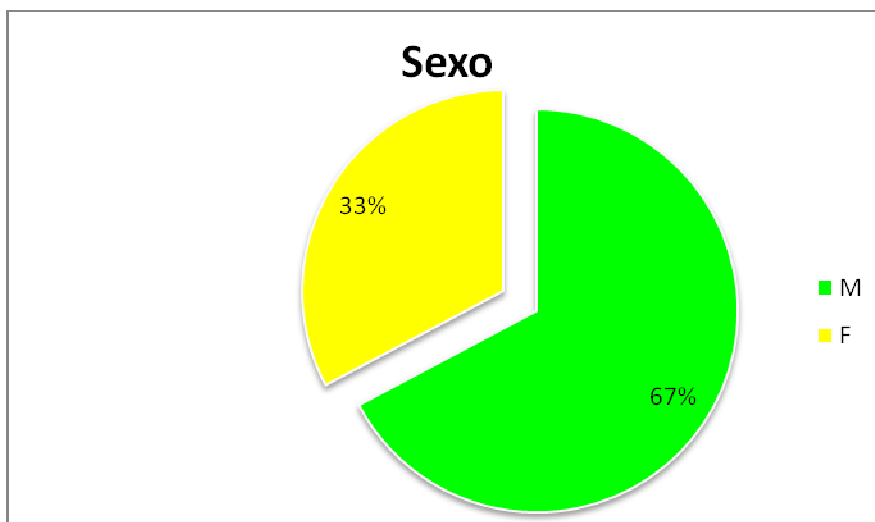
6.1 Estratificação segundo a idade

Dos 57 doentes seguidos constatou-se que tinham idades compreendidas entre os 40 e os 90 anos, segundo as seguintes percentagens:



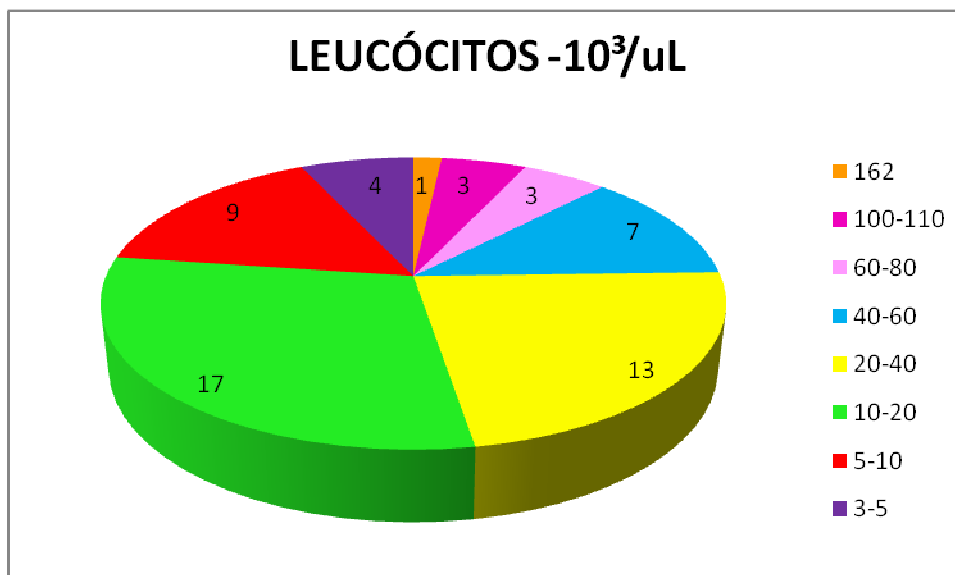
6.2 Estratificação segundo o sexo dos doentes

Quanto ao sexo dos doentes, constatamos uma maior prevalência no sexo masculino como o encontrado na literatura.



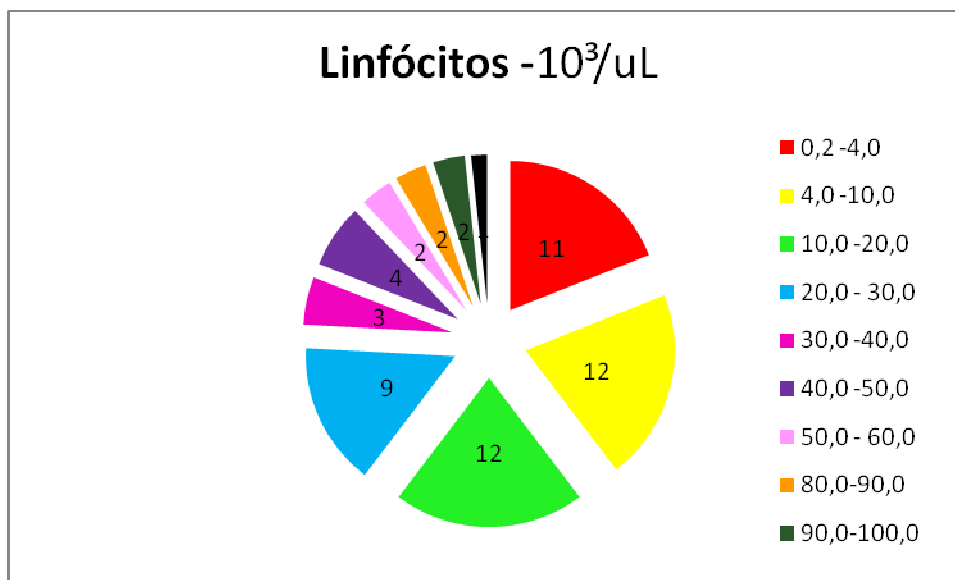
6.3 Número de leucócitos

O nº de Leucócitos encontrado variou entre $3,5 \times 10^3/\mu\text{L}$ e $162 \times 10^3/\mu\text{L}$



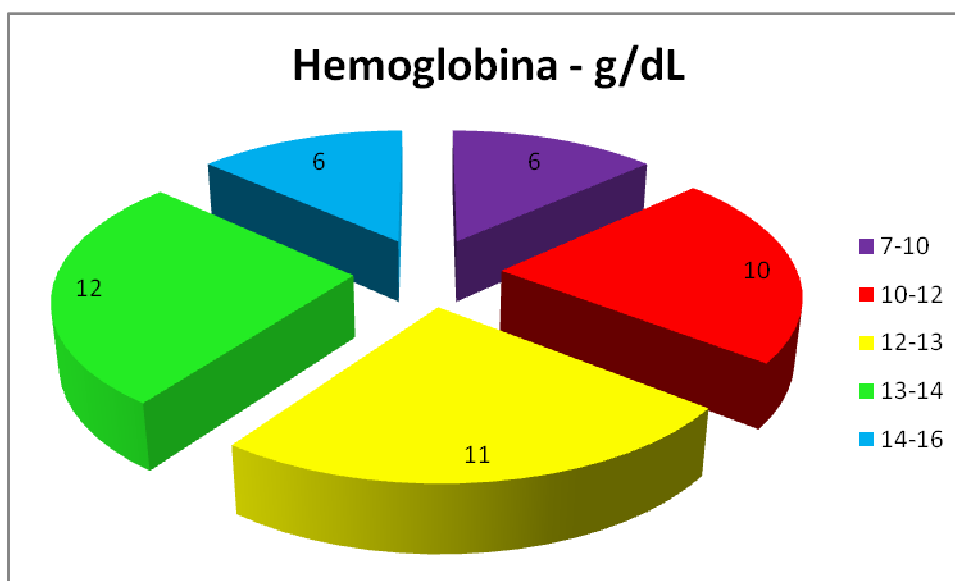
6.4 Número de linfócitos

Os Linfócitos variaram entre 420 e 162000 $\times 10^3/\mu\text{L}$



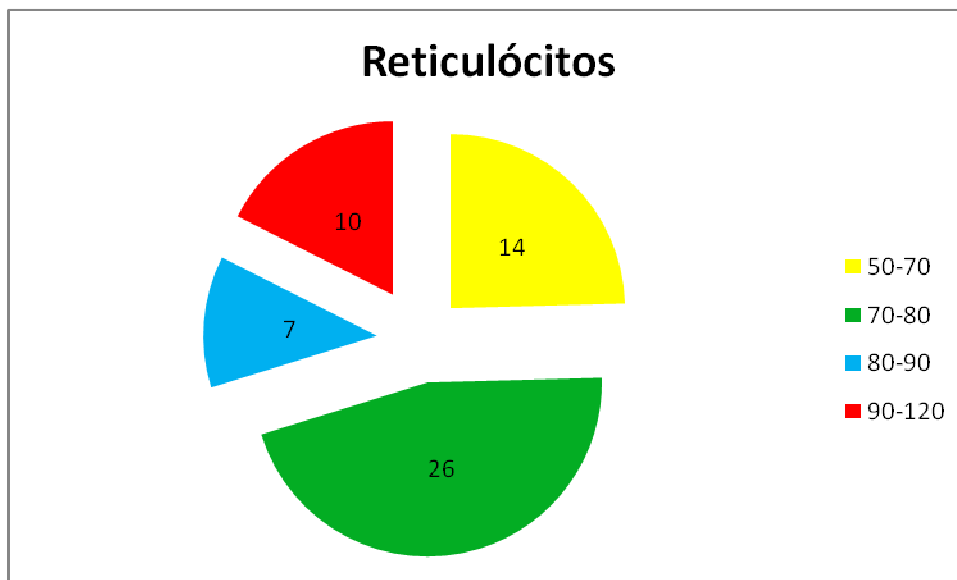
6.5 Valor de hemoglobina

Os valores de hemoglobina variaram entre 7 e 16 g/L



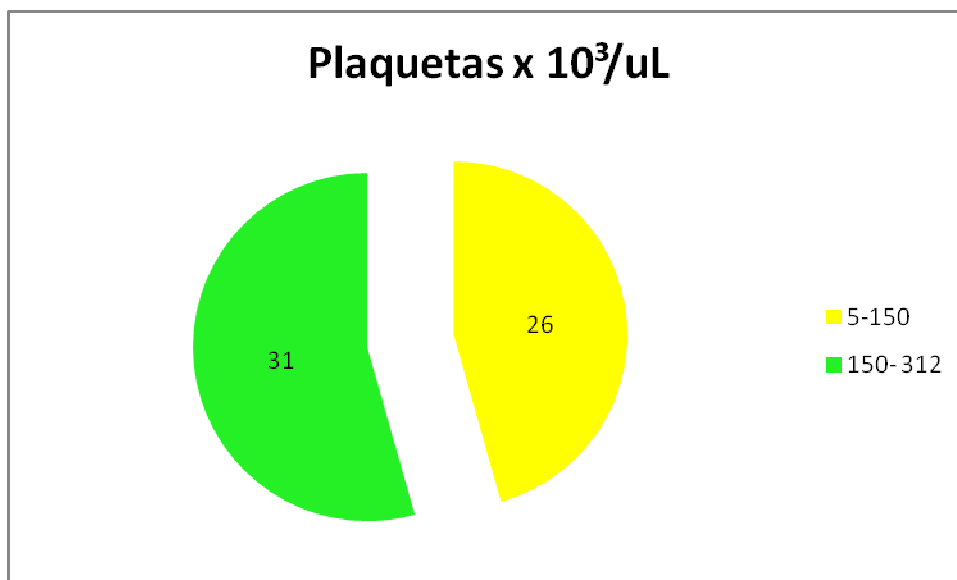
6.6 Valor de reticulócitos

O valor de reticulócitos variou entre 50 e 120.

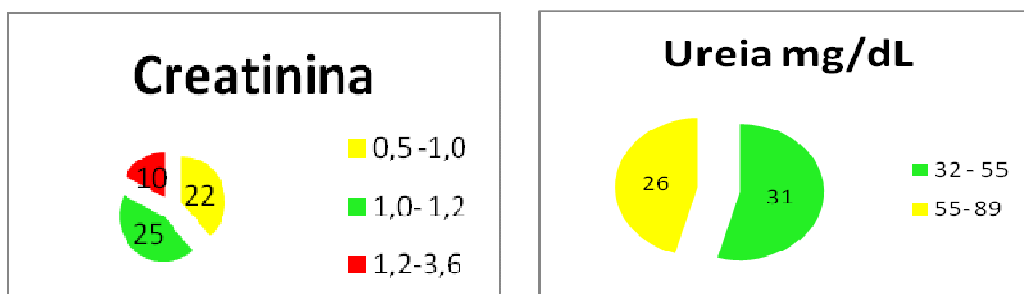


6.7 Valor de plaquetas

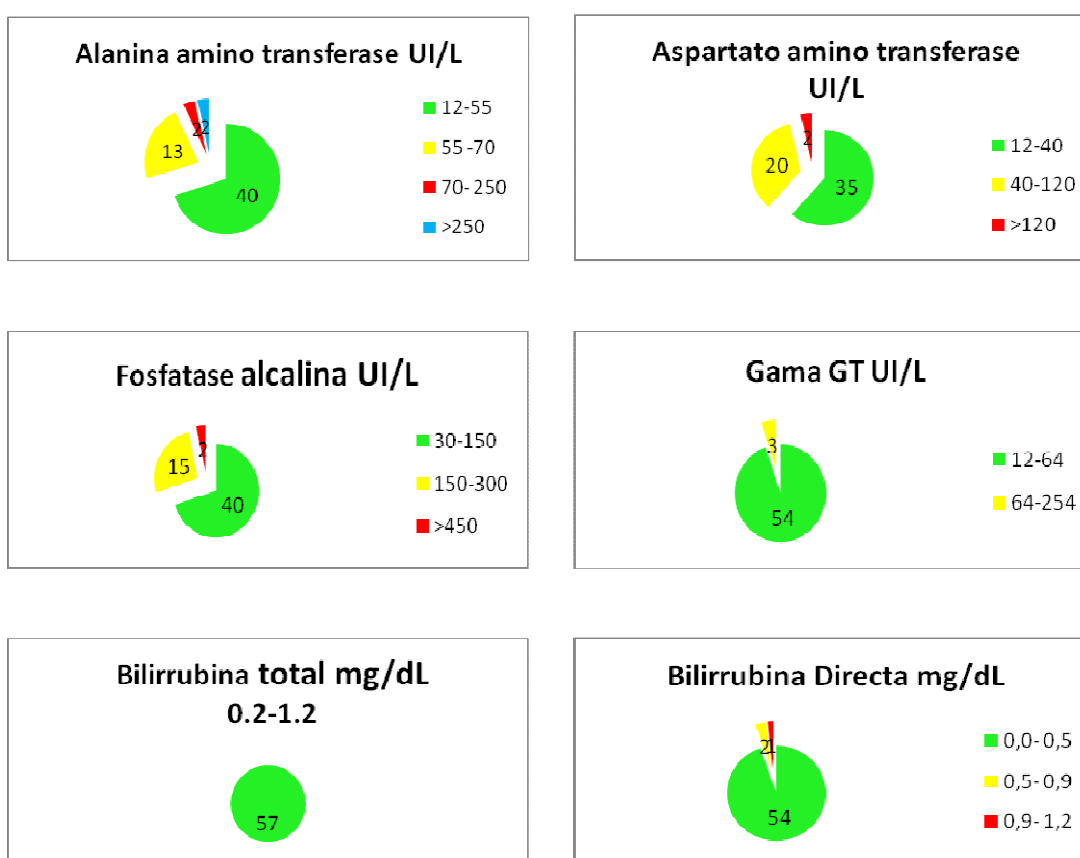
O valor de plaquetas variou entre 5 e 312 x10³/uL



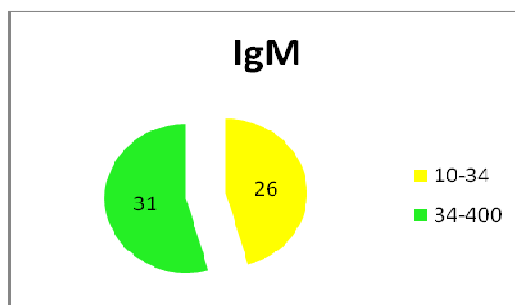
6.8 Função renal



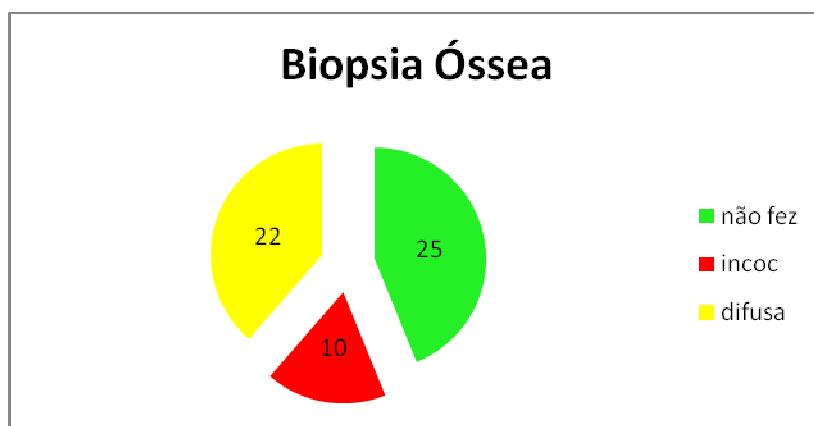
6.9 Função hepática



6.10 Immunoglobulina M



6.11 Biópsia óssea



6.12 Conclusões

Da casuística analisada nos 57 doentes:

1. Idades compreendidas entre os 40 e os 90 anos, tendo uma prevalência no sexo masculino, o que está de acordo com a literatura.
2. No hemograma há que realçar:
 - ❖ 10% com anemia grave (7-10 g/dL) e 37% com anemia (10-13g/dL).

Destes só 18% com reticulocitose (respondendo ao tratamento da anemia)

- ❖ 77% com leucocitose dos quais 80% à custa dos linfocitos (linfocitose)
 - ❖ 45,6% apresentam trombocitopénia ($<150 \times 10^3 \mu\text{L}$)
3. Nos parâmetros da BQ
- ❖ 46% hipogamaglobulinémia M
 - ❖ As funções renal e hepática não apresentaram alterações assinaláveis.
4. Mielograma – todos os doentes com linfocitos $> 30\%$ na MO (indispensável para sustentar o diagnóstico de LLC)
5. Biópsia óssea efectuada em 56% dos doentes dos quais 38% com infiltração difusa sendo nos restantes o exame inconclusivo.
6. Citometria de fluxo
- ❖ O fenotipo característico CD19+; CD20+;CD5+;CD23+;CD79b+; ZAP70-; FMC7- foi observado em 85% dos doentes
 - ❖ Este fenotipo CD19+; CD20+;CD5+;CD 23+;CD79b-; ZAP70+; FMC7+ foi observado em 15% dos doentes.
 - ❖ Não foram observados fenotipos aberrantes
 - ❖ Cerca de 13% com CD79 negativo (doentes que irão responder mal a terapêutica convencional).

7. Citogenética

Observou-se del11q22-negativa; Trissomia 12 Negativa; del 13q14 negativa; del17q13.1negativa em 90% dos doentes.

7 CAPÍTULO V – CONCLUSÕES

Escolhemos a LLC por ser uma das doenças hemato-oncológicas mais prevalentes, numa população que cada vez é mais idosa, com início insidioso e curso clínico indolente, que se suspeita face a um achado de linfocitose num hemograma de rotina.

Do exposto concluímos que face a uma história clínica bem estruturada e contundente e um exame objectivo bem feito, é fundamental que o pedido de exames complementares de diagnóstico seja usado para confirmar suspeitas clínicas, para esclarecimento do diagnóstico, de acordo com a sintomatologia e o contexto epidemiológico.

Qual a hierarquia dos testes a requisitar? Cada vez mais é necessário sermos *cirúrgicos* nos pedidos que efectuamos, no sentido de obtermos as melhores respostas às dúvidas e suspeições suscitadas pela clínica.

Neste caso clínico o diagnóstico foi rapidamente confirmado a partir da análise do hemograma e observação do sangue periférico e do imunofenótipo.

Na revisão dos casos laboratoriais todos os dados encontrados estão de acordo com a revisão bibliográfica efectuada. Em todos os casos constatou-se:

- linfocitose superior a $5 \times 10^9/L$
- o fenótipo característico CD19+; CD20+; CD5+; CD23+.
- Hipogamaglobulinemia
- Infiltração linfocitária na medula óssea superior a 30%

Não queremos deixar de realçar que perante uma doença hemato-oncológica é obrigatório o diagnóstico assente na Morfologia, Histologia, Citometria de Fluxo; Citogenética e Biologia molecular que permitem diagnosticar, tratar, seguir e estabelecer o prognóstico do doente com LLC à luz do conhecimento actual.

8 CAPÍTULO VI – TEMAS PARA FUTURAS INVESTIGAÇÕES RELACIONADAS COM O TEMA ABORDADO

Estudar o potencial benefício, se algum, de uma terapêutica com fármacos antileucémicos, isolada ou combinada com anticorpos monoclonais, instituída numa fase prévia da doença.

Estudar a relação entre a exposição a químicos e a agentes infecciosos e LLC.

Estudar a relação dos efeitos da radioterapia médica, radiações UV e radiações não-ionizantes na eclusão de uma LLC.

Realização de uma meta-análise de doentes com pneumonia e estudar se houve evolução para LLC.

Monitorizar a terapêutica com os novos fármacos da LLC.

BIBLIOGRAFIA E REFERÊNCIAS

- (1) Williams W, Beutler E. Hematologia. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan ; 1976. p. 79-86
- (2) Linet M, Schubauer-Berigan M, Weisenburger D, Richardson D, Landgren O, Blair A, Silver S, et al. Chronic lymphocytic leukaemia: an overview of aetiology in light of recent developments in classification and pathogenesis. *bjh* 2007;139:672-686
- (3) Park T, Cheong J, Song J, Choi J. Therapy-related myelodysplastic syndrome with der(17)t(12;17)(q13;p13) as a new recurrent cytogenetic abnormality after treatment for lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2009;33:1001-4
- (4) Jaffe E, Harris N, Stein H, Vardiman J, Swerdlow S, Pileri S, et al. WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: IARC press ; 2008. p. 157-83
- (5) Matutes E, Wotherspoon A, Catovsky D. Differential diagnosis in chronic lymphocytic leukaemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2007;20(3):368-84
- (6) Oscier D, Fegan C, Hillmen P, Illidge T, Johnson S, Maguire P, et al. Guidelines on the diagnosis and management of chronic lymphocytic leukaemia. *bjh* 2004;125:294-317
- (7) Dighiero G, Hamblin T. Chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet* 2008;371:1017-25

- (8) Seftel M, Demers A, Banerji V, Gibson S, Morales C, Musto G, et al. High incidence of chronic lymphocytic leukemia diagnosed by immunophenotyping: a population-based Canadian cohort. *Leuk Res* 2009;33:1463-8
- (9) Pekova S, Cmejla R, Smolej L, Kozak T, Spacek M, Prucha M. Identification of a novel, transactivation-defective splicing variant of p53 gene in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2008;32:395-400
- (10) Xu W, Li J, WU Y, Yu H, Shen O, Li L, et al. Prognostic significance of *ATM* and *TP53* deletions in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2008;32:1071-7
- (11) Junak B, Hus I, Chocholska S, Wasik-Szczepanek E, Sieklucka M, Dmoszynska A, Rolinski J. BAAF and April expression in B-cell chronic lymphocytic leukemia: correlation with biological and clinic features. *Leuk Res* 2009;33:1319-27
- (12) Chen L, Zhang Y, Wu Y, Qiao C, Chen L, et al Distinctive IgVH gene segments usage and mutation status in Chinese patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2008;32:1491-8
- (13) Begleiter A, Hewitt D, Gibson S, Johnston J. Investigation of an NQO1 polymorphism as a possible risk and prognostic factor for chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2009; 33:74-81

- (14) Have we been wrong about ionizing radiation and chronic lymphocytic leukemia?. *Leuk Res* 2008;32:523-5
- (15) Abramenko I, Bilows N, Chumak A, Davidova E, Kryachok I, Martina Z, et al. Chronic lymphocytic leukemia patients exposed to ionizing radiation due to the Chernobyl NPP accident—With focus on immunoglobulin heavy chain gene analysis. *Leuk Res* 2008;32:535-45
- (16) Inamdar K, Bueso-Ramos C. Pathology of chronic lymphocytic leukemia: an update. *Ann Diagn Pathol* 2007;11(2007):363-89
- (17) Abella E, Gimenez T, Gimeno J, Cervera M, Pedro C, Gimeno E, et al. Diarrheic syndrome as a clinical sign of intestinal infiltration in progressive B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2009;33:159-61
- (18) Plaza J, Comfere N, Gibson L, Colgan M, Davis D, Pittelkow M, et al. Manifestações cutâneas incomuns na LLC. *J Am Acad Dermatol* 2008;22:772-81
- (19) Rodak B. Hematology clinical principles and applications. Indiana: Saunders; 1995. p. 405-557
- (20) Nguyen D, Diamond L, Braylan R. Flow cytometry in hematopathology. New Jersey: Humana press; 2007. p. 2-318
- (21) Sun T. Color atlas-text of flow cytometric analysis of hematologic neoplasms. Tokyo: Igaku-shoin; 1993. p. 3-43

- (22) Montserrat E, Villamor N, Reverter J, Brugués R, Tàssies D, Bosch F, et al. Bone marrow assessment in b-cell chronic lymphocytic leukaemia: aspirate or biopsy? A comparative study in 258 patients. *Br J Haematol* 1996;93:111-6
- (23) Hallek M, Cheson B, Catovsky D, Caligaris-Cappio F, Dighiero G, Dohner H, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: a report from the international workshop on chronic lymphocytic leukemia updating the National Cancer Institute-working group 1996 guidelines. *Blood* 2008;111(12):5446-54
- (24) Irons R, Le A, Bao L, Zhu X, Ryder J, Wang X, et al. Characterization of chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma (CLL/SLL) in Shanghai, China: Molecular and cytogenetic characteristics, IgV gene restriction and hypermutation patterns. *Leuk Res* 2009;33:1599-1603
- (25) Palumbo G, Parrinelo N, Fargione G, Cardillo K, Chiarenza A, Berretta S, et al. CD200 expression may help in differential diagnosis between mantle cell lymphoma and B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2009;33:1212-6
- (26) Delgado J, Briones J, Sierra J. Emerging therapies for patients with advanced chronic lymphocytic leukaemia. *Blood Rev* 2009;23:217-24
- (27) Boelens J, Lust S, Bockstaele F, Gele M, Janssens A, Derycke L, et al. Steroid effects on ZAP-70 and SYK in relation to apoptosis in poor prognosis chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2008;32:523-25

- (28) Zent C, Secreto A, LaPlant B, Bone N, Coll T, Shanafelt T, Jelinek D, et al. Direct and complement dependent cytotoxicity in CLL cells from patients with high-risk early–intermediate stage chronic lymphocytic leukemia (CLL) treated with alemtuzumab and rituximab. *Leuk Res* 2008;32:1849-56
- (29) Nabhan C, Shanafel T, Kay N. Controversies in the front line management of chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2008; 32:679-88
- (30) Foster A, Brenner M, Dotti G. Adoptive T-cell immunotherapy of chronic lymphocytic leukaemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2008;21(3):375-89
- (31) Manjunatha Y, Chandrashekhara S, Selvarajan S, Sharma A, Panda D, Thulkar S. Thoracic Richter's syndrome: Unusual manifestation of chronic lymphocytic leukemia. *European journal of radiology extra* 2009;72:65-7
- (32) Xu W, Li J, Wu Y, Yu H, Shen Q, Tian T, et al. CD38 as a prognostic factor in Chinese patients with chronic lymphocytic leukaemia. *Leuk Res* 2009;33:237-43
- (33) Durig J, Eisele L, Duhrsen U, Haddad T, Sellmann L. Expression levels of CD38 on leukemic B cells but not on non-leukemic T cells are comparably stable over time and predict the course of disease in patients with chronic lymphocytic leukemia. *Leuk Res* 2009;33:775-8
- (34) Moreno C, Montserrat E New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Rev* 2008;22:211-9

- (35) Bockstaele F, Verhasselt B, Philippé J. Prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia: A comprehensive review. *Blood Rev* 2009;23:25-47
- (36) Codony C, Crespo M, Abrisqueta P, Montserrat E, Bosch F. Gene expression profiling in chronic lymphocytic leukaemia. *Baillieres Best Pract Res Clin Haematol* 2009;22:211-22
- (37) Carneiro A. Avaliação crítica de artigos sobre prognóstico: Regras práticas. *Ver Port Cardiol* 2002;21(7-8):891-900
- (38) Carneiro A, Soares I. Princípios de análise metodológica de ensaios terapêuticos. parte I: validade dos resultados. *Rev Port Cardiol* 2002;21(4):457-69
- (39) Carneiro A, Soares I. Princípios básicos de análise metodológica de ensaios terapêuticos. parte II: importância dos resultados. *Rev Port Cardiol* 2002;21(5):613-26
- (40) Fraser C. *Biological variation: from principles to practice*. Washington: AACC press; 2001. p. 1-145
- (41) Price C, Christenson R. *Evidence- based laboratory medicine principles. practice and outcomes*. Washington: AACC press; 2007. p. 1-533
- (42) Speicher C. *The right test a physician's guide to laboratory medicine*. Ohio: Saunders; 1998. p. 1-337

- (43) Mark H, Campbell Z, Campbell G. Receiver-Operating characteristic (ROC) plots: a fundamental evaluation tool in clinical medicine. Clin Chem 1993;394: 561-577
- (44) Espallardo N. Decisions on diagnosis in family practice: use of sensitivity, specificity, predictive values and likelihood ratios. Asia pacific Family Medicine 2003; 2: 229-232
- (45) David A Gimes, Kenneth F Scuhlz. Refining clinical diagn

ANEXOS

A. DEFINIÇÕES

Remissão completa: Os critérios que a definem devem se manter constantes durante pelo menos três meses após o tratamento, sendo eles, a ausência de linfócitos clonais no sangue periférico; ausência de linfadenopatia significativa, o que pressupõe gânglios linfáticos com diâmetro superior a 1,5cm; ausência de hepatomegalia ou esplenomegalia ao exame físico; ausência de sintomas constitucionais; contagem de leucócitos polimorfonucleares superior a $1,5 \times 10^9/L$, contagem de plaquetas superior a $100 \times 10^9/L$ e valor de hemoglobina superior a 11,0 g/dL.

Remissão parcial: é caracterizada pela diminuição inferior a 50% do número de linfócitos; redução da linfadenopatia; diminuição superior ou igual a 50% da hepatomegalia e esplenomegalia; contagem de leucócitos polimorfonucleares igual ou superior a $1,5 \times 10^9/L$ ou uma melhoria superior a 50% do valor de base, contagem de plaquetas superior a $100 \times 10^9/L$ ou 50% de melhoria e valor de hemoglobina superior a 11g/dL ou 50% de melhoria, em relação ao valor base, sem transfusões sanguíneas ou utilização de eritropoietina.

Doença progressiva: Caracterizada por pelo menos um dos seguintes:

- Linfadenopatia, caracterizada por aparecimento de uma nova lesão, como aumento de gânglios linfáticos (>1,5 cm), esplenomegalia, hepatomegalia ou infiltração de outro órgão, aumento de 50% ou superior no diâmetro de

alguma estrutura, anteriormente de configuração normal; aumento de 50% ou superior na totalidade dos diâmetros dos múltiplos gânglios linfáticos.

- Aumento de 50% ou superior do tamanho do baço ou hepatomegalia ou esplenomegalia recorrentes.

- Aumento de 50% ou superior do número de linfócitos circulantes no sangue periférico, com existência de pelo menos 5000 linfócitos B por microlitro.

- Transformação histológica agressiva (por exemplo, ocorrência de Síndrome de Richter). Quando possível, o diagnóstico deve ser estabelecido por biopsia dos gânglios linfáticos.

- Ocorrência de citopenias (neutropenia, anemia, trombocitopenia) atribuíveis à LLC/LNH linfocítico.

Doença estável: Doentes que não atingiram uma remissão parcial ou completa e não exibem progressão da doença. (é equivalente a não resposta)

Respostas benéficas: As que incluem uma remissão completa ou parcial (todas as outras, como doença estável, não resposta, doença progressiva ou morte, devem ser rotuladas como falhas de tratamento)

Duração da resposta: Deve ser medida desde o final do último tratamento até evidência de progressão da doença.

Sobrevivência livre de progressão da doença: É definida como o intervalo entre o primeiro dia de tratamento e o primeiro sinal de progressão de doença, ou tratamento por recaída, ou morte.

Duração de sobrevivência: Definida como o intervalo entre o primeiro dia de tratamento e a ocorrência de morte.

Recaída: É a situação que ocorre quando um doente que já tinha atingido uma remissão completa ou parcial demonstra evidências de progressão da doença após um período igual ou superior a seis meses.

Doença refractária: É definida como falha de tratamento ou progressão de doença num espaço de seis meses desde a última terapêutica anti-leucémica.

Doença residual mínima: Quantificação do número de células que expressa o fenótipo maligno.

B. ESTUDO ANALÍTICO DO CASO CLÍNICO APRESENTADO**a) Hemograma e análises bioquímicas da doente à entrada**

ERITRÓCITOS	2.01 10 ⁹ /uL
HGB	6.1 g/dL
HTC	18.5 %
VGM	92.0 fL
HGM	30.3 pg
CHCM	33.0 g/dL
RDW-SD	12.8 %
LEUCÓCITOS	8.660 10 ⁹ /L
NEUTRÓFILOS	520 x 10 ⁹ /L
LINF	8.140x 10 ⁹ /L
PLAQUETAS	5 x10 ⁹ /L
VPM	11.3 fL
PDW	40.3 %
RETICULÓCITOS	5.40 10 ⁹ /L
TEMPO PROTROBINA	13.6 seg
T. TROMBOPLASTINA PARCIAL-APTT	21.00 seg
FIBRINOGENIO	9.56 g/L
D-DIMEROS	866.0 ng/mL
ANTITROMBINA	98.00 %
GLICOSE	266 mg/dL
UREIA	184 mg/dL
CREATININA	2.3 mg/dL
SÓDIO	139 mmol/L
POTÁSSIO	4.4 mEq/L
CORO	114 mmol/L
CÁLCIO	8.5 mg/dL
FÓSFORO	5.1 mg/dL
MAGNÉSIO	2.5 mg/dL
ÁCIDO ÚRICO	7.4 mg/dL
FOSFATASE ALCALINA	249 UI/L
GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE	275 UI/L
ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST)	16 UI/L
ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT)	65 UI/L
LDH-DESIDROGENASE LÁCTICA	96 UI/L
PROTEÍNA C REACTIVA	41.23 mg/dL
HAPTOGLOBINA	452.0 mg/dL
ÁCIDO FÓLICO	8.6 ng/mL
VITAMINA B12	675/mL

b) Hemograma e análises bioquímicas da doente no seguimento

ERITRÓCITOS	2.76 10 ⁹ /uL
HGB	8.1 g/dL
HTC	24.4 %
VGM	88.4 fL
HGM	29.3 pg
CHCM	33.2 g/dL
RDW-SD	14.1 %
LEUCÓCITOS	9.600 x10 ⁹ /L
NEUTRÓFILOS	450x 10 ⁹ /L
LINF	9.150 x 10 ⁹ /L
PLAQUETAS	53 x10 ³ /uL
VPM	8.7 fL
PDW	59.8 %
RETICULÓCITOS	8.90 x 10 ⁹ /L
TEMPO PROTROBINA	13.6 seg
T. TROMBOPLASTINA PARCIAL-APTT	20.70 seg
FIBRINOGENIO	7.24 g/L
D-DIMEROS	647.0 ng/mL
GLICOSE	355 mg/dL
UREIA	213 mg/dL
CREATININA	2.2 mg/dL
SÓDIO	139 mmol/L
POTÁSSIO	4.6 mEq/L
CLORO	114 mmol/L
CÁLCIO	8.3 mg/dL
FÓSFORO	6.3 mg/dL
MAGNÉSIO	2.5 mg/dL
ÁCIDO ÚRICO	7.9 mg/dL
COLESTEROL TOTAL	138 mg/dL
COLESTEROL HDL	13 mg/dL
COLESTEROL LDL	49 mg/dL
TRIGLICÉRIDOS	213 mg/dL
BILIRRUBINA TOTAL	1.62 mg/dL
BILIRRUBINA DIRECTA	0.96 mg/dL
FOSFATASE ALCALINA	214 UI/L
GAMA GLUTAMIL TRANSFERASE	262 UI/L
ASPARTATO AMINOTRANSFERASE (AST)	48 UI/L
ALANINA AMINOTRANSFERASE (ALT)	89 UI/L
LDH-DESIDROGENASE LÁCTICA	127 UI/L
FERRO	125 µg/dL
TRANSFERINA	92 mg/dL
PROTEÍNA C REACTIVA	33.16 mg/dL
Ig A	64 mg/dL
Ig G	636 mg/dL

Ig M	30 mg/dL
HAPTOGLOBINA	401.0 mg/dL
RA TESTE	< 10.6 UI/mL
R. WAALER ROSE	8 UI/ml

c) Tabela do estudo laboratorial dos 57 doentes apresentados

doentes	sexo	idade	Leucóctos	Linfóctos	Hemoglobina	Reticulócitos	Plaquetas	Creatinina	Ureia	P.Totais	Ac. Úrico	Ast	Alt	Alp	Bili T	Bili D	Albumina	Iga	Igg	Igm	B2M	FENOTIPO								Biologia molecular	MO	BO
																						CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 +	ZAP70 +	λ			
<u>1</u>	M	55	35,56	29,8	14,5	76,2	199	0,9	56	7,0	4,5	14	16	52	1,02	0,6	3,6	107	1310	86	1,84	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 +	ZAP70 +	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del17q13.1Neg	75,4 % LL	Inf intersticial e difusa peq Linf
<u>2</u>	F	88	13,23	5,2	12,6	72,4	250	0,7	35	6,1	5,3	26	30	68	1,56	0,87	3,1	200	986	35	2,5	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 -	ZAP70 -	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del17q13.1Neg	84,7 %LL	não efectuou
<u>3</u>	F	74	26,24	22,3	11,7	56	214	0,8	45	6,5	4,6	21	26	70	1,6	0,61	4,2	156	1100	65	4,9	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 +	ZAP70 -	fr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del17q13.1Neg	84,0 %LL	não efectuou
<u>4</u>	M	53	6,54	3,13	13,9	100,5	115	1	32	6,8	5,1	46	58	89	2,28	1,54	2,9	300	1200	78	2,64	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 -	ZAP70 -	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 neg;del17q13.1Neg	23,4 %LL	LLC
<u>5</u>	M	67	20,46	13,5	16,3	91,5	213	1,1	45	7	3,7	17	22	85	1,2	0,36	3,6	54	896	54	2,56	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 +	ZAP70 -	k	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 Pos;del17q13.1Neg	60,0 % LL	INCONC
<u>6</u>	M	76	26,05	23,1	11,1	71,3	95	0,6	26	7,4	5,2	16	13	64	1,48	0,34	3,6	31	124	<5	5,89	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 +	CD79b -	FMC7 -	ZAP70 -	Kfr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 neg;del17q13.1Neg	87,0 % LL	intersticial e difusa peq Linf
<u>7</u>	M	82	54	15,3	14	65	230	1,2	65	7,2	6,5	12	15	82	1,69	0,69	3,2	97	699	21	7,8	CD19 +	CD20 +for	CD5 +	CD23 -	CD79b +	FMC7 +	ZAP70 -	Kfr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 neg;del17q13.1Neg	87,0 % LL	não efectuou
<u>8</u>	F	54	4,1	1,72	14,5	97,1	133	0,8	43	6,2	4,2	13	14	57	1	0,5	3,6	86	796	48	1,56	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 -	CD79b +	FMC7 -	ZAP70 -	Kfr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 neg;del17q13.1Neg	27,00 %	não efectuou
<u>9</u>	M	73	50,54	48,0	12,5	118	141	0,9	40	6,4	6	49	56	98	1,5	0,9	4	110	936	58	1,68	CD19 +	CD20 +fr	CD5 +	CD23 -	CD79b +	FMC7 -	ZAP70 +	Kfr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 neg;del17q13.1Neg	75,0 % LL	LLC
<u>10</u>	M	72	20,11	15,4	13,5	72,9	82	0,7	45	6,6	4,1	19	21	114	0,51	0,16	3,9	89	1200	68	5,89	CD19 +	CD20 ++	CD5 +	CD23 -	CD79b +	FMC7 -	ZAP70 +	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del13q14 neg;del17q13.1Neg	56,00 %	não efectuou

11	F	69	106,4	85,1	10,1	105	262	1,3	65	6,8	7,5	12	31	58	1,62	0,53	4,5	98	974	156	2,69	CD19	+	CD19	+	CD20	+fr	CD5	+	CD23	+	CD79b+	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	71,2 %LL	não efectuou
12	M	51	17,47	15,7	11,8	94	259	0,8	38	8	7	13	15	63	1,12	0,42	3,6	145	1400	200	2,1	CD19	+	CD19	+	CD20	+fr	CD5	+	CD23	+	CD79b+	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	68,0 %LL	LLC
13	M	64	5,86	2,17	10	101,4	78	1	54	6,1	2,9	21	24	91	1,89	0,45	3,8	76	577	50	3,28	CD19	+	CD19	+	CD20	+fr	CD5	+	CD23	+	CD79b+	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg	30% LL	INCONC
14	F	72	107,7	99,1	11,6	68,5	5	0,9	49	7,2	4,5	25	29	105	1,79	%LL	3,5	328	768	88	2,65	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b-	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg	63,8 %LL	não efectuou
15	M	56	18,5	14,8	13,6	76,7	108	1	68	6,6	5,9	34	46	258	3,59	0,23	2,6	65	1056	30	8,56	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	Kfr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	54,0 %LL	não efectuou
16	M	81	18,5	14,8	13,6	76,7	108	1,8	89	6,6	6,8	12	25	48	1,12	0,54	2,56	65	1056	30	1,56	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	Kfr	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	85,0 %LL	LLC
17	M	61	11,1	8,2	12,9	65	123	0,9	35	6,9	3,4	15	26	56	1,2	0,68	3,6	89	988	45	5,6	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	k	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	64,7 %LL	INCONC
18	M	68	31,06	23,9	14,1	78	150	0,8	45	7	4,5	13	21	65	1,8	0,74	3,8	75	1245	12	5,64	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	64,3 %LL	Inf intersticial e difusa peg Linf
19	M	68	7,32	2,5	15	75	104	1	36	5,6	3,6	12	18	88	1,2	0,6	3,6	78	1200	36	4,56	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	38,0 %LL	não efectuou
20	F	55	29,25	23,4	13,5	68	203	0,5	25	6,5	3,5	13	15	80	1	0,4	3,5	95	1350	45	3,6	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	45,0 %LL	não efectuou
21	M	80	14,48	8,4	14,2	72	138	0,9	45	7	5,6	26	30	95	1,6	0,97	3,6	89	870	25	6,98	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	+	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	69,0 %LL	LLC
22	F	73	28,72	24,4	12,3	80	180	0,7	39	7,2	4,5	25	36	56	1,2	0,6	3,9	54	569	21	9,2	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	-	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	80,0 %LL	não efectuou
23	M	83	14,4	9,4	13,3	74	198	1	56	7,5	5,6	21	25	45	1,1	0,6	3,9	89	789	88	1,23	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	-	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	34,4 %LL	não efectuou
24	M	76	17,84	15,1	7,8	102	54	1,6	75	5,6	7,2	15	19	32	1	0,5	3,6	54	680	12	8,59	CD19	+	CD19	+	CD20	+	CD5	+	CD23	+	CD79b	FMC7-	ZAP70	-	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	88,0 %LL	LLC

25	M	62	103,5	90,1	13,4	78	105	1	67	7,3	6	14	25	46	1,2	0,9	3,85	92	1100	68	1,23	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	88,0 %LL	INCONC
26	M	72	49,74	44,7	9,2	56	61	1,2	78	6,5	7	23	30	58	1,36	0,56	3,6	400	1356	78	2,5	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	98,0 %LL	não efectuou
27	M	73	9,14	6,6	14,3	78	133	1,3	79	6,9	6,8	30	45	58	1,23	0,46	3,5	500	1200	100	1,3	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	80,0 %LL	não efectuou
28	F	70	8,69	3,6	12,6	76	201	1	60	7	4,5	22	28	45	1,1	0,6	3,8	300	1000	90	1,6	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	56,0 %LL	LLC
29	M	63	13,2	9,7	12,4	76	120	2	89	5,6	5	36	45	60	1,24	0,72	2,5	120	800	10	6,9	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	29,0 %LL	INCONC
30	M	59	43,4	37,8	13,3	79	181	1	59	6,25	5,9	21	22	59	1,1	0,9	3,8	256	964	89	1,2	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 Pos;del17q13.1Neg	68,7 %LL	Inf intersticial e difusa peq Linf
31	F	70	16,21	12,1	11,7	74	257	1,2	45	6,9	3,4	19	33	62	1	0,6	4	300	1156	76	1,3	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	88,3 %LL	não efectuou
32	M	73	59,9	46,1	11,5	69	109	1,3	75	7	5,9	879	963	70	2,6	1,7	3,6	356	1203	54	3,6	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	69,6 %LL	não efectuou
33	M	71	30,47	20,8	14,5	78	300	1,2	68	7,6	6,4	21	24	45	1	0,5	3,8	200	800	156	3,5	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	54,0 %LL	LLC
34	F	79	25,96	18,2	12,2	85	167	1,1	75	6,5	4,9	18	23	42	1,1	0,9	2,9	120	750	21	8,96	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	75,7 %LL	não efectuou
35	F	49	4,18	0,42	11,4	79	190	0,8	36	6,4	3,2	14	16	35	1	0,3	3,5	200	780	87	1,23	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	15,8 %LL	não efectuou
36	M	82	51,32	43,6	12,5	82	124	1,1	51	7,3	5,6	21	29	40	1,2	0,9	3,9	196	896	86	1,32	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	85,0 %LL	LLC
37	M	73	44,3	39,2	12,6	50	100	1	68	6,9	6,5	19	23	36	1	0,6	4	86	956	42	3,2	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	93,0 %LL	INCONC
38	M	67	61,6	54,0	15,9	86	200	1,3	80	7	7,2	21	29	54	1,2	0,8	3,2	54	789	21	1,1	+	CD19	CD20	CD5	CD23	CD79b	FMC7-	ZAP70	λ	del11q22-Neg;Trissomia 12 Neg;del 13q14 NEg;del17q13.1Neg	92,0 %LL	não efectuou

