

## Classificação das Leucemias Agudas. Citologia, Citoquímica, Imunofenotipagem, Citogenética e Genética Molecular

Maria de Lourdes L. F. Chauffaille • Mihoko Yamamoto

As Leucemias Agudas (LA) são hoje classificadas de acordo com o aspecto citomorfológico, citoquímico, imunofenotípico, citogenético e genético-molecular. Estes dados permitem a estratificação prognóstica, asseguram a escolha da terapia mais adequada e auxiliam na monitoração após o tratamento.

Até a década de 1970 as LA eram divididas em leucemias linfoides, não linfoides e monocíticas. Em 1976, foi lançada a classificação FAB baseada na morfologia dos blastos e nas reações enzimático-citoquímicas. Na década de 90 surgiu uma classificação subsidiada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e atualizada em 2008 (Tabela 38.1), que estratificou as doenças em diferentes categorias e as definiu de acordo com a combinação da morfologia, imunofenótipo, aspectos genético-moleculares e síndromes clínicas. A porcentagem de blastos necessários para se concluir o diagnóstico de LMA foi fixada em 20%, tanto no Sangue Periférico (SP) quanto na Medula (MO). As Leucemias Linfoblásticas Agudas (LLA) são classificadas junto com os linfomas linfoblásticos na categoria de neoplasias de linhagem B ou T, com a denominação de leucemia linfoblástica/linfoma linfoblástico B ou T (LLA/LL B ou T). Considerando-se a mesma origem biológica, o uso de um ou outro termo, leucemia ou linfoma, é arbitrário. Porém prefere-se leucemia quando há envolvimento maciço do SP e da MO ( $\geq 25\%$  das células nucleadas da MO) e linfoma para casos nos quais a expressão tumoral é proeminente com pouca invasão medular. Nas LLA B foram considerados: LLA B precoce (mais imatura), comum (intermediária) e pré-B (mais madura e com expressão citoplasmática de cadeia  $\mu$  da imunoglobulina). Da mesma forma, nas LLA/LL T a classificação imunofenotípica baseia-se nos estágios de diferenciação intratímica, porém é pouco utilizada na prática clínica, exceto no que se refere à expressão do CD1a (prognóstico favorável). Há ainda os subtipos de LLA/LL com anomalias citogenético-moleculares, como a LLA/LL B com t(9;22)(q34;q11.2) ou BCR-ABL1, com al-

terações do 11q23 ou MLL e com t(12;21) ou TEL-AML1, entre outras. A Tabela 38.1 mostra esses detalhes.

- **Morfologia:** São necessários esfregaços de SP e de MO, colhidos sem anticoagulantes e corados por métodos panóticos (May-Grunwald Giemsa, Wright-Giemsa, Leishman ou similares). Recomenda-se a avaliação de 200 células do SP e de 500 da MO. Em situações com alterações genéticas especiais [t(8;21), t(15;17) ou inv(16)], o diagnóstico de LMA é feito mesmo com  $< 20\%$  de blastos. Mieloblastos, monoblastos, promonócitos e megacarioblastos (excluídos megacariócitos displásicos) são contados como blastos e somados quando do diagnóstico de LMA ou de crise blástica. Consideram-se como equivalentes a blastos os promielócitos anormais da LPA. Proeritroblastos não são contados como blastos, exceto na eritroleucemia ou leucemia eritroide pura. Mesmo nesses casos, considera-se a contagem dos mieloblastos para caracterização da eritroleucemia, exceto na leucemia eritroide pura, na qual não se observam blastos mieloides.
- **Citoquímica:** Hoje é raramente usada. Destacam-se:
  - a) **Mieloperoxidase (MPO)** que indica diferenciação mieloide, porém quando negativa não afasta essa linhagem;
  - b) **negro de Sudão B** (*Sudan black B* ou **SBB**), que cora paralelamente à MPO, porém é menos específica, e raras LLA apresentam SBB positivo;
  - c) **Esterases Inespecíficas (EI):  $\alpha$  Naftil Butirato (ANB) e  $\alpha$  Naftil Acetato (ANA):** monoblastos e monócitos são positivos e a reação é inibida pela adição de fluoreto de sódio (NaF). Linfoblastos podem apresentar atividade focal, mas os neutrófilos são negativos. Megacarioblastos e eritroblastos podem ter positividade

**Tabela 38.1**

► Classificação da OMS para as leucemias agudas (Swerdlow *et al*, 2008).

<b>Leucemia mieloide aguda e neoplasias relacionadas</b>
<b>Leucemia Mieloide Aguda (LMA) com anormalidades genéticas recorrentes</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ LMA com t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i></li> <li>■ LMA com inv(16)(p13.1q22) ou t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i></li> <li>■ LMA com t(15;17)(q22;q12); <i>PML-RARA</i></li> <li>■ LMA com t(9;11)(p22;q23); <i>MLLT3-MLL</i></li> <li>■ LMA com t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i></li> <li>■ LMA com inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i></li> <li>■ LMA (megacarioblástica) com t(1;22)(p13;q13); <i>RBM15-MKL1</i></li> </ul>
<b>Leucemia mieloide aguda relacionada a transformação de mielodisplasia</b>
<b>Leucemia relacionada ao tratamento de neoplasias mieloides</b>
<b>Leucemia mieloide aguda, sem outra classificação específica:</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ LMA com diferenciação mínima</li> <li>■ LMA sem maturação</li> <li>■ LMA com maturação</li> <li>■ Leucemia mielomonocítica aguda</li> <li>■ Leucemia monoblástica/monocítica aguda</li> <li>■ Leucemia eritroide aguda <ul style="list-style-type: none"> <li>■ Leucemia eritroide pura</li> <li>■ Eritroleucemia, eritroide/mieloide</li> </ul> </li> <li>■ Leucemia megacarioblástica aguda</li> <li>■ Leucemia basofílica aguda</li> <li>■ Panmielose com mielofibrose aguda</li> </ul>
<b>Sarcoma mieloide</b>
<b>Proliferação mieloide relacionada com a Síndrome de Down</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Mielopoese anormal transitória</li> <li>■ Leucemia mieloide associada com a Síndrome de Down</li> </ul>
<b>Neoplasia blástica plasmacitoide de células dendríticas</b>
<b>Leucemias agudas de linhagens ambíguas:</b>
<b>Leucemia aguda não diferenciada</b>
Leucemia aguda de fenótipo misto com t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
Leucemia aguda de fenótipo misto com t(v;11q23); rearranjo <i>MLL</i>
Leucemia aguda de fenótipo misto, mieloide-B, NOS
Leucemia aguda de fenótipo misto, mieloide-T, NOS
<b>Leucemia/linfoma linfoblástico B</b>
<b>Leucemia/linfoma linfoblástico B, NOS</b>
<b>Leucemia/linfoma linfoblástico B com anormalidades genéticas recorrentes</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL 1</i></li> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(v;11q23); rearranjo <i>MLL</i></li> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(12;21)(p13;q22) <i>TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)</i></li> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com hiperdiploidia</li> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com hipodiploidia</li> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(5;14)(q31;q32) <i>IL3-IGH</i></li> <li>■ Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i></li> </ul>
<b>Leucemia/Linfoma Linfoblástico T</b>

multifocal para ANA, entretanto são parcialmente resistentes à inibição pelo NaF. **Naftol ASD Cloro Acetato Esterase (NCAE)**: os mieloblastos e granulócitos maduros são positivos.

- d) **Periodic acid Schiff (PAS)**: linfoblastos (padrão granular fino ou grosso) e eritroblastos leucêmicos (grânulos grossos) são positivos;
- e) **ferro medular**: coloração com azul da Prússia; devem ser contados com eritroblastos.

O sideroblasto é identificado pela presença de grânulo de ferro no citoplasma do eritroblasto, e o sideroblasto, em anel quando mais de cinco grânulos se dispõem ao redor do núcleo.

- **Imunofenotipagem por citometria de Fluxo Multiparamétrica (IMF)**: permite identificar os antígenos de superfície, intracitoplasmáticos e nucleares pelo uso de anticorpos monoclonais específicos (AcMo) e caracterizar as células leucêmicas quanto à sua origem e o grau de diferenciação. Os blastos leucêmicos expressam o **antígeno leucocitário comum CD45** em moderada intensidade. A expressão do CD45 afasta a maioria das outras neoplasias não hematológicas, como neuroblastoma, carcinoma ou sarcoma. A técnica de IMF, usando pelo menos três, e preferencialmente quatro ou mais cores, tornou-se um recurso imprescindível. A IMF é indispensável no diagnóstico das LMA: indiferenciada, minimamente diferenciada, megacariotítica/megacarioblástica, alguns casos de monoblástica com EI negativa e eritroide pura, nas quais a morfologia muito imatura não permite identificar a linhagem celular. Além disso, é essencial para o diagnóstico das **LA de linhagem ambígua (LA ambígua)**. Os marcadores mais frequentemente expressos e importantes para esse diagnóstico são: MPO (mais sensível que a detecção pela citoquímica, pois o AcMo identifica também formas pró-enzimáticas), CD13, CD33, CD65, CD117; CD41, CD42 e CD61 (linhagem megacariocítica); CD36, CD64 e CD14 (linhagem monocítica); glicoforina-A, CD71 e CD36 (linhagem eritroide); e os marcadores de imaturidade (CD34, CD38, HLA-DR). Os antígenos associados à linhagem linfóide B (CD19, CD20 e CD22), T (CD3, CD7, CD2 e CD5) e NK (CD56) são incluídos no painel para a determinação das LA ambíguas.

A **LMA indiferenciada** ou com mínima diferenciação é observada em cerca de 10% das LMA no adulto e em torno de 3-6% na criança. Nesse tipo, MPO e SBB são negativos (<3% dos blastos). À IMF as células leucêmicas geralmente expressam CD13 e CD33 ao lado de antígenos imaturos, como CD34, HLA-DR e CD117 e com frequência coexpressam CD7. Outros antígenos linfóides podem estar expressos e auxiliar identificação da LA ambígua.

A identificação de CD41, CD61 e CD42 (que reconhecem a gpIIb/IIIa, IIIa e IX/Ib, respectivamente) permite o diagnóstico de **LMA megacariocítica**. Podem estar expressos outros marcadores mielóides (CD13 e CD33), ou antígenos de imaturidade (CD34, CD117, CD7, além de CD2).

A **LMA com componente monocítico** (leucemia mielomonocítica com mínima diferenciação mielóide ou leucemia monoblástica) expressa marcadores mielóides e monocíticos (CD13, CD33, CD117, CD36, CD64 e CD14).

Na maioria dos casos de **eritroleucemia**, o diagnóstico é estabelecido pela morfologia e contagem dos eritroblastos, pró-eritroblastos e mieloblastos. Na leucemia eritroide pura são úteis a glicoforina A, CD71 e CD36, na ausência da expressão do CD45. Além disso, as células eritroides leucêmicas com frequência apresentam outros marcadores mielóides, como CD117, CD13 e CD33, o que as diferencia dos eritroblastos normais.

Nas **leucemias linfóides agudas** a IMF é mandatória para a definição da origem celular T ou B, além de identificar os subtipos imunofenotípicos, que são de relevância no prognóstico e no tratamento dos pacientes. A maioria das LLA é de **linhagem B**, tanto em crianças como em adultos. A linhagem B é demonstrada pela expressão do CD19 (pan B) na grande maioria dos casos, CD79a e CD22 citoplasmáticos, podendo o CD20 estar expresso. O CD79a foi considerado um marcador citoplasmático para essas leucemias, porém pode estar expresso em raros casos de **LLA T** ou mesmo LMA. Para a **linhagem T** são marcadores: CD3 citoplasmático ou de superfície, CD7 com forte intensidade, CD2 e CD5. A IMF nas LLA permite estabelecer uma classificação imunológica de acordo com o grau de diferenciação B ou T das células leucêmicas, pois as suas expressões antigênicas refletem, de certa forma, a ontogenia linfóide normal. O Grupo Europeu de Classificação Imunológica das Leucemias (EGIL) considera quatro subtipos de LLA de células precursoras B (Tabela 38.2):

- **B-I (LA pró-B)**: os linfoblastos expressam os marcadores B (CD79a, CD22 e CD19) sem nenhum outro antígeno de diferenciação B;
- **B-II (LLA B comum)**: expressa o antígeno CD10 (CALLA);
- **B-III (ou LLA pré-B)**: observa-se a expressão da IgM (cadeia  $\mu$ ) citoplasmática;
- **B-IV (LLA B madura)**: as cadeias leves  $\kappa$  ou  $\lambda$  estão presentes no citoplasma e na superfície celular.

A definição da **linhagem T** baseia-se na presença do CD3 citoplasmático ou de superfície e CD2 ou CD7. Presença isolada desses últimos não caracteriza a LLA como de origem T. Também foram considerados quatro subtipos: LLA T-I (LLA pró-T), expressa CD7; T-II (pré-T), expressa CD2 e CD5 e CD8; T-III (LLA cortical), expressa CD1a e T-IV (LLA T madura), expressa CD3 de superfície e é negativa para CD1a. Além disso, as LLA T podem ser classificadas em dois grupos, de acordo com a expressão do receptor de células T (TCR): LLA  $\alpha/\beta$  (grupo a) e LLA  $\gamma/\delta$  (grupo b) (Tabela 38.2).

O **subtipo pró-B** costuma apresentar evolução desfavorável, devido à associação com a anormalidade citogenética t(4;11). A **LLA comum**, com expressão do CD10, apresenta prognóstico favorável. A associação desse tipo com a presença da t(12;21) pode ser sugerida pela IFM pela expressão de

**Tabela 38.2**

► Classificação imunofenotípica das LLA (EGIL).

Classificação	Imunofenótipo	Frequência	
		Adultos*	Crianças**
LLA de linhagem B	CD19+ e/ou CD79a+ e/ou CD22+		
BI (Pró-B)	Sem expressão de outros antígenos	11%	5-9%
BII (B comum)	CD10+	49%	53-65%
BIII (pré-B)	IgM+ citoplasmático	12%	14-20%
BIV (B madura)	Cadeia $\kappa$ + ou $\lambda$ + (citoplasma ou superfície)	2-4%	2-3%
LLA de linhagem T	CD3+ citoplasma/membrana	25%	11-16%
TI (Pró-T)	CD7 +		
TII (pré-T)	CD2+ e/ou CD5+ e/ou CD8+		
TIII (T cortical)	CD1a +		
TIV (T madura)	CD3+ superfície, CD1a(-)		
- $\alpha/\beta$ (grupo a)	Anti-TCR $\alpha\beta$ +		
- $\gamma/\delta$ (grupo b)	Anti-TCR $\gamma\delta$ +		

\* Gökbuget *et al.*, 2000), \*\* Yamamoto *et al.*; Rego,EM *et al.*,1996; Ludwig,W *et al.*,1993.

HLADR, CD38, CD13 fraca e CD10. O CD45 é negativo ou fraco. Na **LLA pré-B** é frequente a t(1;19), que confere prognóstico desfavorável e se associa ao imunofenótipo com positividade para CD10, HLA-DR, CD19, CD20 e cadeia  $\mu$  citoplasmática. O CD38 é +/++. A presença de cromossomo Ph nas LLA confere prognóstico desfavorável, e essa anormalidade cromossômica pode ser sugerida em células CD19 positivas, pela expressão mais forte do CD10 e presença de HLADR e CD34; o CD13 e o CD38 são positivos fracos. Diante dessas associações de subtipos imunológicos, anormalidades citogenéticas, aspectos clínicos e de prognóstico, a OMS classifica as LLA da linhagem B de maneira similar às LMA, considerando as anormalidades genéticas recorrentes na nomenclatura conforme apresentado na Tabela 38.1.

Menos de 5% das LA não demonstram evidências de diferenciação para uma linhagem específica e expressam antígenos associados a mais de uma linhagem. São, então, chamadas de **leucemias agudas ambíguas**. A denominação LA indiferenciada é usada quando não há marcadores linhagem-específicos e os blastos expressam antígenos associados à imaturidade celular, CD34, HLADR e/ou CD38 e TdT. As LA anteriormente chamadas de bifenotípicas ou bilineares são designadas como **LA de Fenótipo Misto** (LAFM). Esses casos podem ainda ser denominados de LLA B-mieloide ou T-mieloide, independente do número de populações celulares encontradas. É necessário diferenciar as LAFM das LLA com marcadores associados à linhagem mieloide e as LMA com reatividade para antígenos linfóide-relacionados. Os critérios para definição de uma linhagem constam na Tabela 38.3. Pode-se incluir ainda nessa categoria a “leucemia linfoblástica *natural killer*”. A

maioria dos casos previamente chamados de leucemia/linfoma NK blástica é hoje reconhecida como neoplasia de células dendríticas plasmacitoides. A caracterização fenotípica definitiva dessas entidades ainda precisa ser mais bem esclarecida.

- **Estudo citogenético:** o cariótipo das células blásticas, feito ao diagnóstico, permite a classificação da doença de acordo com os critérios da OMS, auxilia na escolha terapêutica, serve de parâmetro para a procura de doença residual pós-terapia e, na eventualidade da recaída, oferece dados para considerar a evolução clonal ou leucemia secundária. Baseia-se na avaliação de 20 metáfases, e as anormalidades devem ser descritas de acordo com a ISCN (2009). Mais da metade das LMA apresentam alterações cromossômicas ao diagnóstico, tanto translocações como ganhos e perdas, dos quais se destacam: +8, -7, -5, +21 e -X ou -Y. Entretanto, há casos em que não se consegue obter resultado do cariótipo e, nessas situações, são aplicados métodos citogenético-moleculares, como a Híbridação *In Situ* Por Fluorescência (FISH), entre outras. A FISH baseia-se no uso de sonda marcada com fluorocromo, que se liga por complementaridade ao DNA sob estudo. A vantagem da FISH reside nas suas características de rapidez, sensibilidade e especificidade, além de não se precisar de metáfases. A Figura 38.1 mostra algumas anomalias.
- **Genética molecular:** a classificação da OMS inclui uma série de mutações gênicas que determinam características dos subtipos de LA. Testes genéticos adicionais ao cariótipo e FISH devem ser conduzi-

**Tabela 38.3**

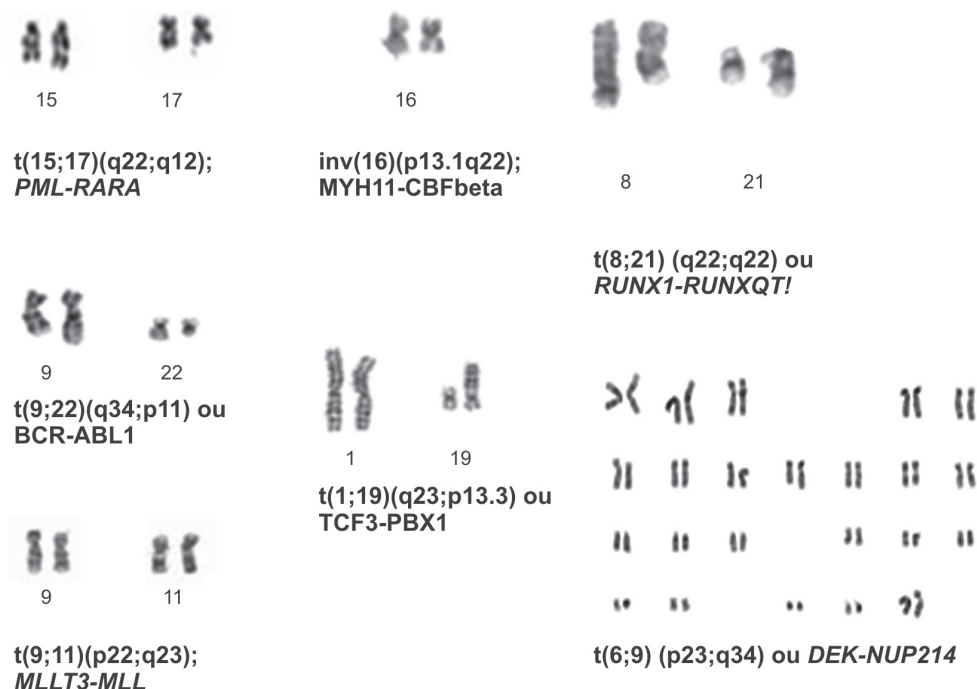
► Leucemia Aguda de Fenótipo Misto (LAFM): critérios para definição de linhagem celular, de acordo com a classificação atualizada da OMS (2008).

Linhagem	Expressão antigênica
Linhagem Mieloide	<b>Myeloperoxidase</b> (por citometria, citoquímica ou imuno-histoquímica) ou <b>Diferenciação monocítica</b> (pelo menos <b>dois</b> dos seguintes: esterase não específica, CD11c, CD14, CD64, lisozima)
Linhagem T	<b>CD3 citoplasmático</b> (por citometria usando Ac anticadeia epsilon do CD3)* ou <b>CD3 de superfície</b> (raro na LA de fenótipo misto)
Linhagem B (requer múltiplos antígenos)	<b>CD19 forte</b> junto com expressão forte de pelo menos <b>um</b> dos seguintes: CD79a, CD22 citoplasmático, CD10 ou <b>CD19 fraco</b> junto com expressão forte de pelo menos <b>dois</b> dos seguintes: CD79a, CD22 citoplasmático, CD10.

Swerdlow SH, 2008; Vardiman *et al.*, BLOOD, 114 (5): 2009.

\* Imuno-histoquímica usando anticorpo policlonal anti-CD3 pode detectar cadeia zeta do CD3, que não é célula T-específica.

\* Gökbüget *et al.*, 2000), \*\* Yamamoto *et al.*; Rego, EM *et al.*, 1996; Ludwig, W *et al.*, 1993.



**Figura 38.1** Exemplos de translocações cromossômicas (e os genes rearranjados) observadas nas leucemias agudas: t(15;17); inv(16), t(8;21), t(9;22), t(1;19), t(9;11) e t(6;9).

dos em conformidade com a clínica, morfologia e IMF. Em todos os casos de LMA nos quais o cariótipo é normal, recomenda-se a pesquisa de mutação NPM1, CEBPA e FLT3. Outras mutações, como KIT, NRAS e PTNP11, devem ser investigadas conforme a indicação clínica.

### LEUCEMIAS COM ANORMALIDADES CROMOSSÔMICAS RECORRENTES

- LMA com t(8;21)(q22;q22) ou RUNX1-RUNX1T1 (ETO/AML ou CBF- $\alpha$ ): 5 a 12% dos casos, resposta favorável. Os blastos são grandes, com bastão de

Auer, citoplasma basofílico abundante, com grânulos azurófilos ou anomalia de pseudo-Chediaki-Higashi, vacúolos, halo paranuclear e eosinófilos na MO. IMF: MPO, CD15 e CD65+ forte; CD13 e CD33 baixa expressão; coexpressão de CD19 e CD56 sugere a t(8;21). Mutações no KRAS, NRAS, e KIT podem ser concomitantes.

- **LPA com t(15;17)(q22;q11-12) ou PML/RARA e variantes:** 5 a 20% das LMA; prognóstico favorável. Blastos de tamanho e forma irregulares, citoplasma com grânulos grandes; pode haver feixes de bastões de Auer (células de faggot). MPO fortemente positiva. IMF: MPO e CD33+ forte, CD13 heterogêneo, HLA-DR, CD34 e CD65 expressão fraca ou ausente. Na variante hipogranular há ausência ou escassez de grânulos e núcleo bilobado, confundível com leucemia monocítica. A OMS considera os aspectos genéticos, diferenciando a LPA com t(15;17) das variantes, PLZF, NPM e NuMA ou STAT5b (11q23, 5q35 e 11q11, respectivamente). Mutações no FLT3, tanto Duplicação Interna em Tandem (DIT) como no domínio da Tirosinocinase (TKD) são frequentes.
- **LMA com inv(16)(p13q22) ou t(16;16)(p13;q22), CBF- $\alpha$ /MYH11:** 6 a 12% das LMAs, geralmente mielomonocítica. Os blastos são mielóides (alguns com bastão de Auer) e monocíticos. Há eosinófilos na MO que apresentam grânulos metacromáticos. IMF: marcadores mielóides (CD13 e CD33), de diferenciação granulocítica (CD65+ e expressão parcial de CD15 e CD117) e monocítica (expressão parcial de CD14 e 11b), além de CD4, CD34 (positivos parciais), DR+ e CD2-/+. A inv(16)(p13q22) e a t(16;16)(p13;q22) são típicas.
- **LMA com t(9;11)(p22;q23) ou MLLT3-MLL:** 10% dos casos pediátricos e 2% de adultos. Morfologia é monocítica. IMF: CD33, CD65, CD4 e HLA-DR+. Prognóstico intermediário (melhor que outras translocações 11q23).
- **LMA com 11q23 (MLL):** 5 a 6% das LMA; a translocação se dá com vários cromossomos (6q27, 10p12, 17q21, 19p13.1 etc). A t(4;11) ou MLLT2(AF4)-MLL é comum em lactente e fenótipo LLA e a t(11;19)(q23;p13.1) ou MLL-ELL também pode ser mieloide ou linfóide. Há predomínio de monoblastos ou promonócitos. IMF: HLA-DR, CD33, CD15, CD56 e CD64+. O CD14, CD13 e MPO com fraca intensidade. Prognóstico desfavorável.
- **LMA com t(6;9)(p23;q34) ou DEK-NUP214:** <2% dos casos, prognóstico desfavorável. Morfologia variável (inclusive monocítica), pode haver bastão de Auer, aumento de basófilos, displasia de várias linhagens e sideroblastos em anel. IMF: MPO, CD13, CD33, CD38 e HLADR+. Mutações adicionais do FLT3-DIT e TKD podem ser observadas.
- **LMA com inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2) ou RPN1-EVI1:** <2% dos casos, prognóstico des-

favorável; blastos com morfologia variada; pode ser primária ou secundária a SMD. IMF: CD13, CD33, CD34, HLADR e CD38+. Excluir desse grupo a t(3;21)(q26.2;q22) ou EVI1-RUNX1 da LMA relacionada a tratamento.

- **LMA (megacarioblástica) com t(1;22)(p13;q13) ou RBM15-MKL1:** rara, ocorre em lactentes com hepatoesplenomeglia importante. Morfologia: megacarioblastos, podendo haver fibrose. IMF: CD 41, CD61, CD 13 e CD33+.
- **LMA com mutações gênicas:** estão incluídas nesse grupo as mutações FLT3, NPM1, CEPBA, KIT, MLL, WT1, NRAS e KRAS. FLT3, NPM1 e CEPBA, isoladas ou combinadas. São frequentes em pacientes com cariótipo normal. **FLT3** (*Fms-Like Tyrosine Kinase 3*): membro da família dos receptores tirosinocinase; mutação pode ser DIT nos éxons 14 e 15 em 20 a 40% ou ativação do domínio de TKD, envolvem os códons 835 (D835) e 836 (I836) em 11 a 14% dos pacientes. Ocorrem em LMA, com t(6;9), t(15;17) ou cariótipo normal, nos quais altera desfavoravelmente o prognóstico. **NPM1** (nucleofosmina 1): mutações no éxon 12, 9 e 11 do gene NPM1, geralmente, duplicação Tetranucleotídica (TCTG) na posição 956 a 959; é observada em 30% das LMA em adultos e em 50% dos casos com cariótipo normal; prognóstico favorável. **CEBPA** (fator de transcrição CCAAT *Enhancer-Binding Protein Alpha*): dois tipos de mutações – região N-terminal da molécula, impedindo a expressão total da proteína e *in-frame* na região C-terminal que diminui a capacidade de ligação. Ocorrem em 10 a 18% dos casos de LMA com cariótipo normal; prognóstico favorável. **KIT** (receptor tirosinocinase) localizado no 4q11-12 é um membro da família de receptores tirosinocinase. Mutações no segundo domínio intracelular de cinase (TK2) ou no domínio justamembrana, nos exons 8 e 17, resultam em ganho de função em pacientes com LMA com envolvimento de CBF (*Core Binding Factor*), ou seja, com t(8;21) ou inv/t(16), desfavorecendo o prognóstico. **MLL** (*Mixed-Lineage Leukemia*), ALL1 ou HRX, Duplicação Parcial em Tandem (DPT) da região genômica dos éxons de 5 a 11, com a inserção do segmento duplicado no íntron 4 do gene, em 5 a 10% dos pacientes com LMA e cariótipo normal; prognóstico desfavorável. **WT1** (Wilms tumor 1) gene supressor de tumor; mutações ocorrem em 10% das LMA com impacto prognóstico ainda incerto. **N** e **K-RAS:** família de proteínas associadas; mutações em N-RAS encontradas em 10% de jovens adultos com diagnóstico de LMA e cariótipo normal. Mutações nos códons 12, 13 e 61 resultam na perda da atividade da GTPase intrínseca e ativação da proteína RAS; prognóstico ainda é desconhecido. Com essa plêiade de anomalias, alguns subtipos têm o prognóstico remodelado (Tabela 38.4).

**Tabela 38.4**

► Segmentação do prognóstico das LMA de acordo com as alterações citogenéticas e genético-moleculares.

Favorável
t(8;21)(q22;q22); <i>RUNX1-RUNX1T1</i>
inv(16)(p13.1q22) or t(16;16)(p13.1;q22); <i>CBFB-MYH11</i>
<i>NPM1</i> mutado sem <i>FLT3</i> -ITD (cariótipo normal)
<i>CEBPA</i> mutado (cariótipo normal)
Intermediário-I
<i>NPM1</i> mutado e <i>FLT3</i> -ITD (cariótipo normal)
<i>NPM1</i> selvagem e <i>FLT3</i> -ITD (cariótipo normal)
<i>NPM1</i> selvagem sem <i>FLT3</i> -ITD (cariótipo normal)
Intermediário-II
t(9;11)(p22;q23); <i>MLL3-MLL</i>
Anomalias cromossômicas não classificadas como favoráveis ou adversas
Desfavorável
inv(3)(q21q26.2) ou t(3;3)(q21;q26.2); <i>RPN1-EVI1</i>
t(6;9)(p23;q34); <i>DEK-NUP214</i>
t(v;11)(v;q23); <i>MLL</i> rearranjado
5 ou del(5q); 7; abnl(17p); cariótipo complexo

Swerdlow SH, 2008; Vardiman *et al.*, BLOOD, 114 (5): 2009.

\* Imuno-histoquímica usando anticorpo policlonal anti-CD3 pode detectar cadeia zeta do CD3, que não é célula T-específica.

\* Gökbuget *et al.*, 2000), \*\* Yamamoto *et al.*; Rego,EM *et al.*,1996; Ludwig,W *et al.*,1993.

## REFERÊNCIAS CONSULTADAS

1. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Brit J Haematol.* 1976;33:451-8.
2. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. The French-American-British (FAB) Co-operative Group. The morphologic classification of acute lymphoblastic leukaemia: concordance among observers and clinical correlations. *Brit J Haematol.* 1981;47:553-61.
3. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Criteria for the diagnosis of acute leukemia of megakaryocyte lineage (M7). A report of the French-American-British (FAB) Co-operative Group. *Ann Intern Med.* 1985;103(4):460-2.
4. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. Proposed revised criteria for the classification of acute myeloid leukemia. A report of the French-American-British Cooperative Group. *Ann Intern Med.* 1985 Oct;103(4):620-5.
5. Bennett JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al. The French-American-British (FAB) Co-operative Group. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML0M). *Br J Haematol.* 1991;78:325-9.
6. Heim S, Mitelman F. *Cancer Cytogenetics. Chromosomal and molecular genetic aberrations of tumor cells.* 2. ed. New York: Wiley Liss, 1995.

7. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds). World Health Organization Classification of Tumors, Pathology and Genetics of Tumors of Hematopoietic and Lymphoid Tissues. IARC Press Lyon, 2001.
8. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H et al. WHO classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissue. IARC Lyon, 2008.
9. Grimwade D, Hills RK, Independent prognostic factors for AML outcome ASH Education Book, 2009. p.385-95.
10. Moorman AV, Harrison CJ, Buck GAN, Richards SM, Secker-Walker LM, Martineau M et al. Karyotype is an independent prognostic factor in adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): analysis of cytogenetic data from patients treated on the Medical Research Council (MRC) UKALLXII/Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) 2993 trial Blood. 2007;109:3189-197.