

A grayscale microscopic image of blood cells, showing numerous red blood cells (erythrocytes) and a few white blood cells (leukocytes). The red blood cells are mostly spherical and have a biconcave appearance. The white blood cells are larger and have more complex, irregular shapes with visible nuclei. The background is a light gray, and the cells are scattered throughout the field of view.

Mestrado Integrado em Medicina

Leucemia Linfocítica Crónica-B - A importância da deleção 17p

Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar
Universidade do Porto

Ângela Alexandra Rodrigues Ribeiro
Ano Lectivo 2009/2010

Orientadora: Maria Alexandra dos Santos Mota da Silva

Leucemia Linfocítica Crónica - B- A importância da deleção 17p

Ângela Ribeiro

Serviço de Hematologia Clínica
Hospital de Santo António - CHP, Porto

ABSTRACT

A Leucemia Linfocítica Crónica - B (LLC-B) é a leucemia mais comum do adulto. O seu curso clínico é muito heterogéneo, apresentando sobrevivências que variam de meses a décadas. Torna-se assim crucial identificar factores de prognóstico que ajudem a prever a progressão da doença e a indicação para iniciar tratamento. Durante os últimos anos tem-se assistido a uma melhor caracterização biológica da doença, que evidenciou que tanto a presença de determinadas alterações citogenéticas, como o estado mutacional dos genes da região variável das cadeias pesadas das imunoglobulinas e a expressão de zeta-associated protein 70 (ZAP-70) e CD38 pelos linfócitos malignos permitem identificar doentes com curso clínico e prognóstico diferentes. Estudos recentes demonstraram que mais de 80% dos doentes com LLC-B apresentam alterações genéticas recorrentes. A deleção do braço curto do cromossoma 17 (17p) tem sido associada a uma rápida progressão da doença, resistência a tratamentos quimioterápicos convencionais, e diminuição da sobrevivência. Neste artigo são descritas duas doentes com LLC-B que apresentavam a deleção 17p, seguidas no Serviço de Hematologia Clínica do Hospital de Santo António.

Palavras-chave: LLC-B, deleção 17p, alemtuzumab, transplante alogénico

Introdução

A Leucemia Linfocítica Crónica - B (LLC-B) é a leucemia mais comum do adulto,¹ correspondendo a cerca de 10% das neoplasias hematológicas.^{2,3} É caracterizada por uma acumulação progressiva de linfócitos B funcionalmente incompetentes os quais são de origem monoclonal.⁴

A evolução clínica da LLC-B é extremamente variável, com tempo de sobrevivência de meses a décadas.⁵⁻⁷ Enquanto em alguns casos a doença tem um curso indolente e os doentes eventualmente morrem devido a causas não relacionadas com a doença, noutros casos tem um curso clínico mais agressivo. A LLC-B permanece uma doença incurável.

A incidência anual da LLC-B nos países ocidentais é cerca de 2 a 4.5 casos por 100 000 habitantes.⁸ Apesar de a LLC-B ser considerada uma doença do idoso (idade média ao diagnóstico é de 73 anos), um terço dos novos casos são diagnosticados antes dos 55 anos.⁹

A etiologia da LLC-B é desconhecida. A potencial relação entre condições auto-imunes e inflamatórias, e a LLC-B é alvo de investigação.¹⁰ A existência de casos familiares sugere uma base genética para a doença.¹¹

O diagnóstico de LLC-B requer a presença de um número de linfócitos aumentado ($\geq 5000/\mu\text{L}$) no sangue

periférico, durante pelo menos 3 meses, morfológicamente maduros (citoplasma escasso e núcleo denso) e fenotipicamente caracterizados pela expressão de CD19, CD20, CD23 e CD5. Geralmente o exame da medula óssea não é indispensável para estabelecer o diagnóstico, porém, caso se realize, o aspirado medular deve demonstrar $\geq 30\%$ de linfócitos.¹²

Muitos doentes com LLC-B são assintomáticos na apresentação (20 a 50% dos casos),¹³ no entanto podem apresentar os seguintes sinais e sintomas: astenia, anorexia, perda de peso $\geq 10\%$ nos últimos 6 meses, febre superior a 38°C , suores nocturnos, aumento dos gânglios linfáticos, dor abdominal e organomegalias (hepato e esplenomegalia).

Considerando o curso clínico variável, foram desenvolvidos factores de prognóstico que permitem criar estratégias de tratamento adaptadas ao risco dos doentes¹⁵ (Tabela 1). Existem factores de

prognóstico clássicos e biológicos. Os clássicos incluem o estadiamento clínico, a contagem e morfologia dos linfócitos no sangue periférico, o tempo de duplicação dos linfócitos, e o padrão de infiltração da medula óssea. Por sua vez, os marcadores de prognóstico biológico integram parâmetros extensivamente estudados como marcadores séricos, alterações citogenéticas detectadas por hibridização fluorescente *in situ* (FISH), o estado mutacional dos genes da região variável das cadeias pesadas das imunoglobulinas (genes IgVH), a expressão de CD38, a expressão da zeta-associated protein 70 (ZAP-70);¹⁶ e parâmetros que ainda requerem estudo, tais como a concentração de timidina-cinase (TK), a análise de translocações cromossómicas, a expressão da lipoproteína lipase A, o comprimento dos telómeros e a actividade da telomerase, entre outros.

Os sistemas de estadiamento clínico de

Tabela 1. Marcadores de prognóstico na Leucemia Linfocítica Crónica - B

Marcadores de prognóstico clássicos		Estadiamento clínico Contagem de linfócitos Morfologia dos linfócitos no sangue periférico Tempo de duplicação dos linfócitos Padrão de infiltração da medula óssea (biópsia)
Marcadores de prognóstico biológicos	Marcadores extensivamente estudados	Marcadores séricos: $\beta 2$ Microglobulina, CD23 solúvel Alterações cromossómicas: del(13q), trissomia 12, del(11q), del(17p), alterações complexas Estado mutacional dos genes da região variável das cadeias pesadas das imunoglobulinas Expressão de CD38 Expressão da proteína ZAP-70
	Marcadores que requerem estudos	Timidina-cinase Translocações cromossómicas Genes envolvidos na resistência aos fármacos Expressão da lipoproteína lipase A Expressão de ADAM29 Factor vascular de crescimento endotelial Trombopoietina Comprimento dos telómeros e actividade da telomerase CD49d CD69
Relacionados com o tratamento		Resposta à terapêutica (doença residual mínima após tratamento)

Adaptado de Montserrat e Moreno, 2008¹⁴

Rai¹⁷ e de Binet¹⁸ são métodos de prognóstico importantes embora não possam ser aplicados nos estadios iniciais da LLC-B (Tabela 2). O sistema de classificação de Rai foi modificado para reduzir os grupos prognósticos de 5 para 3.¹⁹ Os dois sistemas são simples, facilmente exequíveis, podendo ser aplicados mundialmente, requerendo contagem diferencial de leucócitos, valor de plaquetas e hemoglobina, e a avaliação dos gânglios linfáticos (cervical, axilar, inguinal), fígado e baço.

O sistema de estadiamento de Rai define doença de baixo risco em doentes que têm linfocitose (anteriormente considerado estadio 0 de Rai). Doentes com linfocitose, presença de gânglios aumentados, e esplenomegalia e/ou hepatomegalia são definidos como doentes com doença de risco intermédio (previamente considerados estadio I e II de Rai). Doença de alto risco inclui presença de anemia (hemoglobina (Hb) <11.0g/dL, inicialmente designado estadio III de Rai) ou trombocitopenia (plaquetas <100x10³/μL), previamente considerado estadio IV.¹²

A classificação de Binet é baseada no número de áreas ganglionares envolvidas, organomegalias, ou presença de citopenias (anemia ou trombocitopenia). O estadio A (baixo risco) é caracterizado por Hb ≥10.0g/dL, plaquetas ≥100x10³/μL e até

duas áreas envolvidas (essas áreas são referentes ao fígado, baço e gânglios linfáticos inguinais, axilares e cervicais). O estadio B é referente a Hb ≥10.0g/dL, plaquetas ≥100x10³/μL e presença de três ou mais áreas ganglionares ou de órgãos envolvidos. O estadio C, envolve todos os doentes com Hb <10.0g/dL, e/ou plaquetas <100x10³/μL.

Nos últimos anos, devido às limitações dos parâmetros clássicos, foram desenvolvidos novos marcadores de prognóstico biológico que têm sido reconhecidos pelo seu uso potencial em avaliar a sobrevivência livre de doença e a sobrevivência global nos estadios iniciais da LLC-B.

Diferentes parâmetros serológicos, tais como a concentração de Beta2-microglobulina (β2M) e de CD23 solúvel (sCD23) emergiram como factores de prognóstico independentes correlacionados com a progressão da doença.²⁰ Uma concentração elevada de β2M está associada a uma menor sobrevivência. O CD23 é um marcador de superfície das células da LLC-B, e uma concentração sérica elevada de sCD23 indica um mau prognóstico, pois encontra-se associado a infiltração difusa da medula óssea, diminuição do tempo de duplicação de linfócitos, e uma rápida progressão da doença.

Tabela 2. Sistemas de estadiamento de Rai e de Binet

	Estadios de Binet	Estadios de Rai	Sobrevivência média
Baixo risco	A Hb ≥10g/dL, plaquetas ≥100x10 ³ /μL, ≤ 2 áreas envolvidas ^a	0 Linfocitose no sangue e medula óssea	> 10 anos
Risco intermédio	B Hb ≥10g/dL, plaquetas ≥100x10 ³ /μL, ≥ 3 áreas envolvidas	I Linfocitose + linfadenopatia II Linfocitose + esplenomegalia e/ou hepatomegalia	5-7 anos
Alto risco	C Hb <10g/dL, ou plaquetas <100x10 ³ /μL	III Linfocitose + Hb <11g/dL IV Linfocitose + plaquetas <100x10 ³ /μL	<3-4 anos

^aáreas envolvidas são fígado, baço e gânglios linfáticos (unilateral ou bilateral) nas regiões inguinal, axilar e cervical.

Adaptado de Montserrat e Moreno, 2008¹⁴

Até recentemente, o estudo das alterações cromossômicas na LLC-B foi dificultado pela baixa actividade mitótica das células, com metafases anormais encontradas em menos de um terço dos doentes.²¹ Porém, com o advento do método de FISH, podem ser identificadas alterações citogenéticas em cerca de 80% dos casos de LLC-B. As alterações mais frequentes podem ser organizadas numa classificação hierárquica fortemente preditiva da sobrevivência (Figura 1).¹

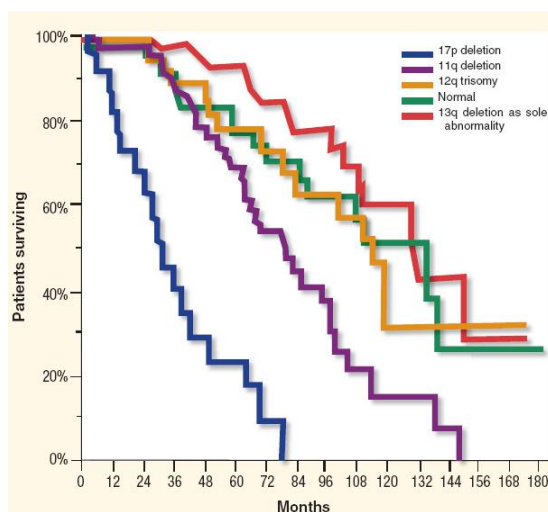


Figura 1. Probabilidade de sobrevivência entre doentes com alterações citogenéticas após o diagnóstico. Adaptado de Dohner et al., 2000¹

A deleção 13q14, presente em 50% dos casos, é a anomalia mais frequentemente encontrada, e associa-se a um bom prognóstico, com uma sobrevivência média de 133 meses contra os 111 meses caso o cariótipo seja normal. A deleção 11q22 envolve o gene ATM implicado nos fenómenos de reparação de DNA, e está associada à presença de linfadenopatias e a sobrevivência diminuída (sobrevivência média de 79 meses), encontrando-se em 18% dos casos. A trissomia 12, presente em 16% dos casos, associa-se a uma morfologia e imunofenotipagem atípicas dos linfócitos patológicos, a uma elevada taxa de proliferação e a um estado clínico

avanzado. A deleção 17p13 (7% dos casos) envolve o gene supressor tumoral p53 e está associada a um mau prognóstico (tempo médio de sobrevivência de 32 meses) não respondendo à terapêutica convencional.²² Cerca de 80% dos doentes com esta deleção têm perda da função do gene p53, em contraste com uma minoria de doentes com a mesma alteração, que apresentam um curso clínico mais indolente sugerindo que ainda possuem alguma função desse gene.²³ A deleção 6q, o rearranjo do gene das cadeias pesadas das imunoglobulinas em 14q32, ou a trissomia parcial 3q ou 8q, também podem ser encontrados em 5% dos doentes.¹

Em 1999, dois grupos de investigadores demonstraram que cerca de 30 a 40% dos doentes com LLC-B apresentam hipermutações nos genes IgVH das suas células somáticas leucémicas. O estado mutacional do IgVH divide a LLC-B em duas categorias clínicas diferentes da doença.^{24, 25} Os doentes sem genes IgVH mutados (LLC-B não mutada) apresentam uma condição mais agressiva (doença avançada, progressiva, com morfologia atípica dos leucócitos do sangue periférico, características citogenéticas adversas, evolução clonal, e resistência à terapêutica), do que aquelas com LLC-B mutada. A definição de LLC-B mutada ou não-mutada é baseada no limiar definido de 98% de homologia com o gene mais semelhante da linha germinativa (Figura 2).^{26, 27} O significado prognóstico das mutações IgVH é independente do estadiamento clínico e das anomalias citogenéticas, particularmente em doentes com doença em estadio inicial.²⁸ Uma limitação deste parâmetro de prognóstico é que a metodologia necessária para determinar as mutações IgVH não é facilmente exequível na prática clínica.

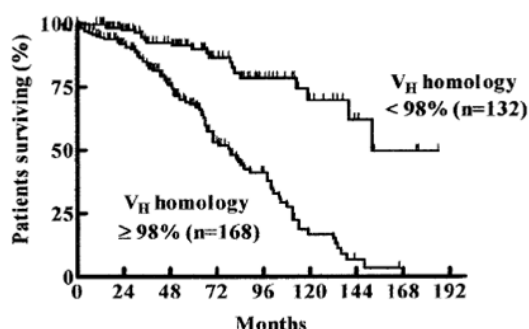


Figura 2. Probabilidade de sobrevivência desde o diagnóstico entre os doentes com estado mutado (homologia VH <98%) ou não mutado (homologia VH ≥98%) dos genes VH. Adaptado de Krober et al., 2002²⁶

Uma forte expressão de CD38 (20% ou mais dos linfócitos da LLC-B), determinada por citometria de fluxo, está associada a uma morfologia atípica das células neoplásicas, uma infiltração difusa da medula óssea, uma concentração de linfócitos aumentada no sangue periférico, e a um prognóstico global desfavorável.²⁹ Por outro lado, o limiar apropriado para definir positividade do CD38 é controverso.^{30, 31}

A expressão do CD38 nas células leucémicas foi o primeiro marcador a ser correlacionado com o estado mutacional das IgVH. No entanto, esta relação não é absoluta e diversos estudos apontam para que a expressão do CD38 possa variar com o tempo. Actualmente, a expressão do CD38 e as mutações IgVH são consideradas factores de prognóstico independentes.

A proteína ZAP-70 é uma tirosina cinase normalmente expressa nos linfócitos T. Um estudo³² demonstrou que a expressão de ZAP-70 (definida por mais de 20% de células tumorais positivas) determinada por citometria de fluxo, correlaciona-se com a ausência de mutação das IgVH, levando a uma progressão mais rápida da doença e a uma menor sobrevivência dos doentes.³² Portanto, a maior parte dos casos mutados são ZAP-70 negativas, enquanto as formas não mutadas são ZAP-70 positivas.³³ Juntos,

ZAP-70 e CD38 oferecem informação prognóstica complementar. Doentes que expressam ambos os marcadores parecem ter pior prognóstico.³⁴

Para além dos parâmetros de prognóstico referidos anteriormente, têm sido estudados novos factores de prognóstico biológico que embora possam ser importantes na compreensão da biologia da doença e, em alguns casos, possam ter um potencial objectivo terapêutico, actualmente não são avaliados por rotina ou usados no prognóstico clínico, requerendo estudos futuros. Um desses marcadores é a concentração sérica da TK, que correlaciona-se com a massa tumoral e com a actividade proliferativa da LLC-B, permitindo prever a progressão da doença nos doentes em estadio precoce.

Tendo em conta a variabilidade da doença e o seu curso clínico heterogéneo, a decisão do tratamento requer uma avaliação cuidadosa dos doentes.

O tratamento deve basear-se nos sistemas de estadiamento de Rai e de Binet, na condição física, idade, comorbilidades, e nos marcadores de prognóstico biológicos, nomeadamente no estudo de alterações cromossómicas (principalmente as de mau prognóstico como as deleções 17p).

Doentes assintomáticos no estadio inicial (Rai 0, Binet A), geralmente não necessitam de tratamento precoce, tal como uma proporção de doentes em estadio intermédio (Rai I e II, Binet B) com doença indolente. No entanto, se forem detectadas alterações citogenéticas de mau prognóstico, eventualmente todos estes doentes irão requerer tratamento o mais precoce possível.

A maioria dos doentes em estadio intermédio e virtualmente todos os doentes com doença avançada (Binet C, Rai III-IV) activa ou sintomática devem iniciar tratamento.

Durante as duas últimas décadas, a monoterapia com agentes alquilantes citostáticos, nomeadamente o clorambucil, foram a base do tratamento inicial da LLC-B.³⁵ O número de respostas completas (RC) obtidos com clorambucil é baixo (10%) e, apesar da sua baixa toxicidade, baixo custo e palição dos sintomas, o seu impacto na evolução da doença é duvidoso, sendo geralmente indicado em doentes que não toleram terapêuticas mais invasivas, pelo que é tradicionalmente usado como tratamento paliativo.^{14, 36}

A bendamustina é um agente alquilante com propriedades semelhantes aos análogos das purinas. Um recente estudo multicêntrico randomizado,³⁷ demonstrou que em doentes não tratados a taxa de resposta global foi de 68% para a bendamustina e de 31% para o clorambucil ($p < 0.0001$), apresentando também uma maior sobrevivência livre de doença relativamente ao clorambucil (21.6 vs 8.3 meses). Apesar de este fármaco já estar aprovado no EUA, o mesmo ainda não sucedeu na Europa Ocidental.

Actualmente, os análogos das purinas (particularmente a fludarabina), são os agentes mais efectivos e mais frequentemente usados no tratamento da LLC-B, apresentando RC mais elevadas relativamente ao clorambucil ou quimioterapia baseada em alquilantes (20-40% vs 10%) e um maior intervalo livre de doença, apesar de não se ter verificado um aumento na sobrevivência global.³⁸

A introdução do rituximab, um anticorpo monoclonal anti-CD20, tem tido um impacto significativo no tratamento da LLC-B. No entanto, a sua actividade parece ser limitada quando usado em monoterapia.³⁹

Os regimes de quimioterapia combinados com agentes citotóxicos (agentes alquilantes e análogos das purinas com anticorpos monoclonais como o

rituximab), têm melhorado as taxas de resposta inicial (RI), as taxas de RC e a sobrevivência livre de doença. Contudo, apesar destes avanços, esta doença permanece incurável com as terapêuticas convencionais. A recidiva é inevitável, a doença torna-se cada vez mais refractária ao tratamento, e os doentes frequentemente adquirem anomalias cromossómicas de alto risco.⁴⁰

Os doentes com doença de alto risco (por exemplo, com mutação do p53) e os doentes resistentes aos tratamentos convencionais⁴¹ (nomeadamente os refractários ao tratamento com fludarabina) poderão beneficiar de tratamento com alemtuzumab (anticorpo monoclonal anti-CD52). Este anticorpo apresenta taxas de resposta de 40-89%, incluindo RC em 2-50% dos casos, sendo as respostas melhores em doentes sem terapêutica anterior,^{42, 43} podendo no entanto induzir resposta em doentes refractários à fludarabina.⁴⁴ Quando comparado com o rituximab, verificamos que o último não apresenta eficácia em doentes com mutação do p53.

Os esforços para desenvolver tratamentos curativos para a LLC-B têm-se focado no transplante alogénico de células progenitoras hematopoiéticas. O efeito anti-leucémico do alotransplante na LLC-B aparenta ter origem na actividade anti-hospedeiro mediada imunologicamente pelo enxerto (reação enxerto-versus-leucemia (GVL)). Estudos que analisam a cinética da doença residual mínima em resposta à modulação imunológica após a transplantação sugerem que a GVL pode resultar numa supressão completa e durável do clone leucémico.⁴⁵

O alotransplante apresenta mortalidade e morbilidade significativas, pelo que não é um tratamento recomendado à maioria dos doentes. Os doentes jovens, com doença de alto risco e/ou resistentes às terapêuticas

convencionais poderão ser considerados candidatos.⁴⁶

Considerando que os doentes com LLC-B tipicamente sofrem recaídas e eventualmente desenvolvem doença refractária, novos agentes têm sido testados em ensaios clínicos. Alguns desses fármacos são: a lenalidomida que tem demonstrado actividade na LLC-B, nomeadamente na doença refractária; o ofatumumab (anticorpo monoclonal humanizado anti-CD20); o lumiliximab (anticorpo monoclonal anti-CD23) e o flavopiridol, promissor no tratamento na LLC-B agressiva e refractária à fludarabina. Estes fármacos requerem futuras investigações para que possam ser aprovados como tratamento da LLC-B.

Descrição dos casos clínicos

O primeiro caso clínico é referente a uma doente do sexo feminino, caucasiana, com 50 anos de idade, enviada à consulta externa de Hematologia do nosso hospital em Novembro de 2004 por suspeita de Linfoma Folicular após biópsia de gânglio supraclavicular esquerdo. A doente referia astenia, sudorese nocturna, febre e poliadenopatias supraclaviculares bilaterais com 6 meses de evolução. Ao exame físico apresentava pele e mucosas coradas e hidratadas, adenopatias cervicais, supraclaviculares e axilares bilaterais, com 3 cm de maior diâmetro; o baço e o fígado não eram palpáveis. Apresentava os seguintes resultados laboratoriais: hemoglobina 12.6g/dL, plaquetas $141 \times 10^3/\mu\text{L}$, leucócitos $21.57 \times 10^3/\mu\text{L}$ (neutrófilos $3.45 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $11.86 \times 10^3/\mu\text{L}$, monócitos $0.43 \times 10^3/\mu\text{L}$, eosinófilos $0.32 \times 10^3/\mu\text{L}$, basófilos $0.00 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos atípicos $4.96 \times 10^3/\mu\text{L}$), desidrogenase láctica (DHL) 444 U/L

(intervalo de referência 135-214), $\beta 2\text{M}$ 2499 ng/mL (<1900).

Relativamente à morfologia do esfregaço de sangue periférico foram encontrados linfócitos de morfologia e tamanho heterogéneos, muitos deles com nucléolo.

O aspirado medular revelou uma amostra marcadamente hiperclular com 66% de linfócitos, presença de 20.3% de linfócitos atípicos com tamanho e morfologia heterogéneos e alguns com nucléolo. A imunofenotipagem demonstrou a presença de 83% de linfócitos, dos quais 87% eram de linha B, com imunofenotipo característico de LLC-B: CD19+, CD5+, CD23+, CD11c-, CD38- e CD20+.

Face à discrepância entre o diagnóstico inicial e os resultados obtidos foi solicitada uma revisão da peça histológica e a doente foi classificada com Leucemia Linfóide Crónica B/Linfoma Linfocítico B.

A doença progrediu rapidamente e três semanas após a primeira consulta apresentava agravamento clínico, aumento das massas adenopáticas cervicais e axilares, e agravamento dos parâmetros hematológicos (hemoglobina 11.1g/dL, plaquetas $66 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $38.38 \times 10^3/\mu\text{L}$), sendo iniciada quimioterapia com ciclofosfamida, vincristina e prednisolona (CVP).

Em Janeiro recorreu ao Serviço de Urgência por queda no domicílio após lipotímia. Apresentava um hematoma na região frontal e supra-orbitária direita e os seguintes valores analíticos: hemoglobina 9.7g/dL, plaquetas $11 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $16.24 \times 10^3/\mu\text{L}$, neutrófilos $1.98 \times 10^3/\mu\text{L}$. Foi transfundida com plaquetas e recebeu alta um dia depois do episódio referido, uma vez que não apresentava quaisquer alterações ao exame neurológico e na Tomografia computadorizada.

Face à má resposta do tratamento com CVP foi iniciada terapêutica com

fludarabina. Após concluir dois ciclos verificou-se que a doença se encontrava em progressão, sem recuperação dos parâmetros hematológicos.

O estudo citogenético entretanto efectuado na medula óssea mostrou del(17p), pelo que o tratamento com fludarabina foi suspenso e foi proposta para alotransplante, tendo em conta a sua idade e por ter vários irmãos.

Em Março de 2005, a doente foi internada por apresentar hematoma subdural agudo. Durante cerca de três meses de internamento, realizou duas derivações ventriculares na tentativa de drenar o hematoma, não apresentando melhorias clínicas.

Faleceu a 2 de Agosto de 2005 em consequência da evolução da doença e do hematoma cerebral.

O segundo caso clínico trata-se de uma doente do sexo feminino, com 56 anos de idade, admitida na nossa consulta em Agosto de 2006, transferida de outra instituição para estudo de um possível síndrome linfoproliferativo crónico. A doente referia perda ponderal de cerca de 10 Kg desde Dezembro de 2005 e sudorese nocturna com um mês de evolução. Ao exame físico apresentava pele e mucosas pálidas, adenopatias supraclaviculares infracentimétricas, duras e indolores, adenopatias axilares pericentrimétricas e adenopatias inguinais, a maior à direita com aproximadamente 2 cm; fígado e baço não palpáveis.

O hemograma apresentava: eritrócitos $4.15 \times 10^6/\mu\text{L}$, hemoglobina 12.8g/dL, hematócrito 38.3%, volume globular médio 92.5fL, hemoglobina globular média 30.8pg, concentração da hemoglobina globular média 33.3g/dL, leucócitos $108.50 \times 10^3/\mu\text{L}$ (neutrófilos $7.60 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $88.97 \times 10^3/\mu\text{L}$, monócitos $0.54 \times 10^3/\mu\text{L}$,

eosinófilos $0.00 \times 10^3/\mu\text{L}$, basófilos $0.00 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos atípicos $11.39 \times 10^3/\mu\text{L}$), plaquetas $193 \times 10^3/\mu\text{L}$.

O aspirado medular era constituído fundamentalmente por células de origem linfóide das quais 95% eram linfócitos B com fenótipo característico de LLC-B.

A biópsia da medula óssea demonstrou a presença das três linhas hematopoiéticas sem alterações significativas, destacando-se um infiltrado intersticial e difuso de pequenos linfócitos com frequentes centros de proliferação.

Foi diagnosticada com Leucemia Linfocítica Crónica B.

O estudo citogenético realizado (FISH) na medula óssea detectou deleção 13q14 em 30% dos núcleos observados e deleção do gene p53 (17p13.1) em 80% dos núcleos.

Iniciou tratamento com fludarabina, de Setembro de 2006 a Abril de 2007, não sendo documentada resposta completa (hemoglobina 11.7g/dL, leucócitos $27.17 \times 10^3/\mu\text{L}$, neutrófilos $1.35 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $23.76 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos atípicos $1.36 \times 10^3/\mu\text{L}$, plaquetas $127 \times 10^3/\mu\text{L}$).

Em Setembro de 2007, por atingimento do estado geral, duplicação do número de linfócitos inferior a 6 meses e trombocitopenia (hemoglobina 11.6g/dL, leucócitos $62.20 \times 10^3/\mu\text{L}$, neutrófilos $2.8 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $56.91 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos atípicos $2.49 \times 10^3/\mu\text{L}$, plaquetas $116 \times 10^3/\mu\text{L}$), iniciou tratamento com alemtuzumab. O tratamento foi realizado durante 12 semanas, sem intercorrências infecciosas e com boa tolerância, tendo sido documentadas respostas hematológica e citogenética.

A doente manteve-se durante 21 meses sem necessidade de tratamento e em Setembro de 2009 foi detectada anemia hemolítica auto-imune e trombocitopenia imune, (hemoglobina 10.9g/dL, plaquetas $<10 \times 10^3/\mu\text{L}$), tendo iniciado tratamento

com imunoglobulinas endovenosas (IgGs) e prednisolona.

Alguns meses depois, recuperou o valor da hemoglobina (12.6g/dL) mas manteve clínica hemorrágica com plaquetas inferiores a $20 \times 10^3/\mu\text{L}$ pelo que iniciou tratamento com ciclosporina A (CSA), tendo alcançado resposta clínica (hemoglobina 13.4g/dL, leucócitos $9.39 \times 10^3/\mu\text{L}$, neutrófilos $4.13 \times 10^3/\mu\text{L}$, linfócitos $3.85 \times 10^3/\mu\text{L}$, plaquetas $105 \times 10^3/\mu\text{L}$).

Discussão/ Conclusão

A compreensão da LLC-B sofreu enormes avanços nos últimos 20 anos.

O curso clínico é heterogéneo, tornando difícil a decisão de iniciar tratamento precoce e agressivo, pelo que é essencial identificar factores de prognóstico que ajudem a prever a progressão da doença e a indicação para iniciar terapêutica.

Tendo em conta as limitações dos factores de prognóstico clássicos, novos marcadores de prognóstico biológicos, tais como a citogenética, o estado mutacional das IgVH e a expressão de CD38 e de ZAP-70, ajudam a identificar doentes com curso clínico e prognóstico diferentes.

As deleções 17p13 e 11q22 (correspondendo à perda dos genes supressores tumorais p53 e ATM, respectivamente), concentrações aumentadas de $\beta 2\text{M}$, expressão de CD38 e ZAP-70, e IgVH não mutada, encontram-se associadas a um mau prognóstico e à necessidade de tratamento mais precoce.

O impacto das alterações citogenéticas adversas na resposta ao tratamento está documentado,^{47, 48} contrariamente ao efeito do estado mutacional das IgVH, do CD38 e do ZAP-70, que ainda não é claro.

No passado, a abordagem terapêutica era essencialmente paliativa. Os recentes avanços nas opções terapêuticas evoluíram desde a conduta tradicional com agentes

alquilantes e análogos das purinas, para regimes de quimioterapia combinados dessas duas classes com anticorpos monoclonais (nomeadamente o alemtuzumab, anti-CD52).

O tratamento deverá ser individualizado, baseado na idade dos doentes, condição física, factores clássicos e citogenética.

Nos doentes diagnosticados em estadios iniciais, o curso da doença pode ser indolente e assintomático não requerendo tratamento, com a excepção dos doentes com alterações citogenéticas de mau prognóstico, que beneficiarão do tratamento mais precoce. Para aqueles diagnosticados em estadios avançados ou cuja doença se tornou sintomática, o tratamento é necessário.

Doentes com deleção 17p, apresentam doença mais agressiva e ausência de resposta aos tratamentos com agentes alquilantes e análogos das purinas. O anticorpo monoclonal alemtuzumab apresenta actividade nestes doentes. Novos agentes, como o flavopiridol e lenalidomida, apesar de promissores, ainda não foram aprovados. Deste modo, as directrizes actuais para o tratamento de doentes mais jovens com perfil citogenético de alto risco, possivelmente passam pelo transplante alogénico de células progenitoras hematopoiéticas após terapêutica inicial com alemtuzumab.

O alotransplante de células progenitoras hematopoiéticas representa uma opção potencialmente curativa para a LLC-B através da reacção enxerto-vs-leucemia. O seu uso é limitado pela idade avançada da maioria dos doentes com LLC-B, pela necessidade de um dador compatível e pela mortalidade e morbilidade associadas. Porém, a evolução na estratificação do risco e nos factores de prognóstico, e os constantes avanços nas técnicas de transplantação, podem permitir uma maior

capacidade de selecção precoce dos possíveis candidatos ao alotransplante.

Com os tratamentos actuais, a remissão completa ou mesmo a remissão molecular completa não é garantia da cura ou do aumento da sobrevivência global.

Os dois casos expostos anteriormente demonstram que, apesar de estas doentes apresentarem a mesma alteração citogenética de mau prognóstico (del (17p)), a sua apresentação clínica inicial e evolução foram muito diferentes. A primeira doente apresentou um quadro clínico mais agressivo com adenopatias significativas, sintomas B e citopenias, não respondeu às terapêuticas convencionais e acabou por falecer devido à progressão da doença. Por outro lado, a segunda doente surgiu ao diagnóstico com um quadro clínico menos exuberante e após detectada a del(17p), a abordagem terapêutica foi dirigida, pois devido aos avanços nos conhecimentos desta doença já se sabia que seria refractária aos tratamentos convencionais. Uma possível explicação para a diferença nas apresentações clínicas e evolução destas doentes, poderá ser o facto de a segunda doente ainda apresentar alguma função do gene p53.

Estes casos remetem-nos para a enorme importância de um correcto diagnóstico e estadiamento, com a detecção atempada de alterações citogenéticas de mau prognóstico, de forma a instituir a terapêutica mais adequada.

Agradecimentos:

A Alexandra Mota pela sua preciosa ajuda.

Referências

1. Dohner H, Stilgenbauer S, Benner A, Leupolt E, Krober A, Bullinger L, et al. Genomic aberrations and survival in chronic lymphocytic

leukemia. *N Engl J Med.* 2000 Dec 28;343(26):1910-6.

2. Finch SC, Linet MS. Chronic leukaemias. *Baillieres Clin Haematol.* 1992 Jan;5(1):27-56.

3. Rawstron AC. Monoclonal B-cell lymphocytosis. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2009:430-9.

4. Rai K, Keating M. Pathologic features, diagnosis, and differential diagnosis of chronic lymphocytic leukemia. 2009 2009 [cited; Available from:

5. Rozman C, Montserrat E. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 1995 Oct 19;333(16):1052-7.

6. Zwiebel JA, Cheson BD. Chronic lymphocytic leukemia: staging and prognostic factors. *Semin Oncol.* 1998 Feb;25(1):42-59.

7. Chiorazzi N, Rai KR, Ferrarini M. Chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med.* 2005 Feb 24;352(8):804-15.

8. Kristinsson SY, Dickman PW, Wilson WH, Caporaso N, Bjorkholm M, Landgren O. Improved survival in chronic lymphocytic leukemia in the past decade: a population-based study including 11,179 patients diagnosed between 1973-2003 in Sweden. *Haematologica.* 2009 Sep;94(9):1259-65.

9. Keating M, Montserrat E. Updates in chronic lymphocytic leukemia. Barcelona: Permanyer Publication, 2009:129.

10. Landgren O, Gridley G, Check D, Caporaso NE, Morris Brown L. Acquired immune-related and inflammatory conditions and subsequent chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol.* 2007 Dec;139(5):791-8.

11. Cuttner J. Increased incidence of hematologic malignancies in first-degree relatives of patients with chronic lymphocytic leukemia. *Cancer Invest.* 1992;10(2):103-9.

12. Hallek M, Cheson BD, 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 Jun 15;111(12):5446-56.

13. Delong AF. Chronic Lymphocytic Leukemia. 2010 [cited; Available from:

14. Montserrat E, Moreno C. Chronic lymphocytic leukaemia: a short overview. *Ann Oncol.* 2008 Sep;19 Suppl 7:vii320-5.

15. Byrd JC, Stilgenbauer S, Flinn IW. Chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2004:163-83.

16. Krober A, Bloehdorn J, Hafner S, Buhler A, Seiler T, Kienle D, et al. Additional genetic

high-risk features such as 11q deletion, 17p deletion, and V3-21 usage characterize discordance of ZAP-70 and VH mutation status in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2006 Feb 20;24(6):969-75.

17. Rai KR, Sawitsky A, Cronkite EP, Chanana AD, Levy RN, Pasternack BS. Clinical staging of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1975 Aug;46(2):219-34.

18. Binet JL, Auquier A, Dighiero G, Chastang C, Piguët H, Goasguen J, et al. A new prognostic classification of chronic lymphocytic leukemia derived from a multivariate survival analysis. *Cancer*. 1981 Jul 1;48(1):198-206.

19. Gale RP. *Chronic Lymphocytic Leukemia: Recent Progress and Future Directions* United States: John Wiley and Sons Australia 1987.

20. Hallek M, Langenmayer I, Nerl C, Knauf W, Dietzfelbinger H, Adorf D, et al. Elevated serum thymidine kinase levels identify a subgroup at high risk of disease progression in early, nonsmoldering chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Mar 1;93(5):1732-7.

21. Geisler CH, Philip P, Christensen BE, Hou-Jensen K, Pedersen NT, Jensen OM, et al. In B-cell chronic lymphocytic leukaemia chromosome 17 abnormalities and not trisomy 12 are the single most important cytogenetic abnormalities for the prognosis: a cytogenetic and immunophenotypic study of 480 unselected newly diagnosed patients. *Leuk Res*. 1997 Nov-Dec;21(11-12):1011-23.

22. Stilgenbauer S, Bullinger L, Lichter P, Dohner H. Genetics of chronic lymphocytic leukemia: genomic aberrations and V(H) gene mutation status in pathogenesis and clinical course. *Leukemia*. 2002 Jun;16(6):993-1007.

23. Zent CS. Time to test CLL p53 function. *Blood*. 2010 May 27;115(21):4154-5.

24. Hamblin TJ, Davis Z, Gardiner A, Oscier DG, Stevenson FK. Unmutated Ig V(H) genes are associated with a more aggressive form of chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Sep 15;94(6):1848-54.

25. Damle RN, Wasil T, Fais F, Ghiotto F, Valetto A, Allen SL, et al. Ig V gene mutation status and CD38 expression as novel prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 1999 Sep 15;94(6):1840-7.

26. Krober A, Seiler T, Benner A, Bullinger L, Brückle E, Lichter P, et al. V(H) mutation status, CD38 expression level, genomic aberrations, and survival in chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2002 Aug 15;100(4):1410-6.

27. Hamblin TJ, Davis ZA, Oscier DG. Determination of how many immunoglobulin variable region heavy chain mutations are allowable in unmutated chronic lymphocytic leukaemia - long-term follow up of patients with different percentages of mutations. *Br J Haematol*. 2008 Feb;140(3):320-3.

28. Vasconcelos Y, Davi F, Levy V, Oppezzo P, Magnac C, Michel A, et al. Binet's staging system and VH genes are independent but complementary prognostic indicators in chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2003 Nov 1;21(21):3928-32.

29. Ibrahim S, Keating M, Do KA, O'Brien S, Huh YO, Jilani I, et al. CD38 expression as an important prognostic factor in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2001 Jul 1;98(1):181-6.

30. Montillo M, Hamblin T, Hallek M, Montserrat E, Morra E. Chronic lymphocytic leukemia: novel prognostic factors and their relevance for risk-adapted therapeutic strategies. *Haematologica*. 2005 Mar;90(3):391-9.

31. Seiler T, Dohner H, Stilgenbauer S. Risk stratification in chronic lymphocytic leukemia. *Semin Oncol*. 2006 Apr;33(2):186-94.

32. Crespo M, Bosch F, Villamor N, Bellosillo B, Colomer D, Rozman M, et al. ZAP-70 expression as a surrogate for immunoglobulin-variable-region mutations in chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2003 May 1;348(18):1764-75.

33. Rosenwald A, Alizadeh AA, Widhopf G, Simon R, Davis RE, Yu X, et al. Relation of gene expression phenotype to immunoglobulin mutation genotype in B cell chronic lymphocytic leukemia. *J Exp Med*. 2001 Dec 3;194(11):1639-47.

34. Moreno C, Montserrat E. New prognostic markers in chronic lymphocytic leukemia. *Blood Rev*. 2008 Jul;22(4):211-9.

35. Chemotherapeutic options in chronic lymphocytic leukemia: a meta-analysis of the randomized trials. CLL Trialists' Collaborative Group. *J Natl Cancer Inst*. 1999 May 19;91(10):861-8.

36. Hallek M. State-of-the-art treatment of chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:440-9.

37. Knauf WU, Lissichkov T, Aldaoud A, Liberati A, Loscertales J, Herbrecht R, et al. Phase III randomized study of bendamustine compared with chlorambucil in previously untreated patients with chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2009 Sep 10;27(26):4378-84.

38. Rai KR, Peterson BL, Appelbaum FR, Kolitz J, Elias L, Shepherd L, et al. Fludarabine compared with chlorambucil as primary therapy for chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med*. 2000 Dec 14;343(24):1750-7.
39. Huhn D, von Schilling C, Wilhelm M, Ho AD, Hallek M, Kuse R, et al. Rituximab therapy of patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood*. 2001 Sep 1;98(5):1326-31.
40. Maddocks KJ, Lin TS. Update in the management of chronic lymphocytic leukemia. *J Hematol Oncol*. 2009;2:29.
41. el Rouby S, Thomas A, Costin D, Rosenberg CR, Potmesil M, Silber R, et al. p53 gene mutation in B-cell chronic lymphocytic leukemia is associated with drug resistance and is independent of MDR1/MDR3 gene expression. *Blood*. 1993 Dec 1;82(11):3452-9.
42. Lundin J, Kimby E, Bjorkholm M, Broliden PA, Celsing F, Hjalmar V, et al. Phase II trial of subcutaneous anti-CD52 monoclonal antibody alemtuzumab (Campath-1H) as first-line treatment for patients with B-cell chronic lymphocytic leukemia (B-CLL). *Blood*. 2002 Aug 1;100(3):768-73.
43. Hillmen P, Skotnicki AB, Robak T, Jaksic B, Dmoszynska A, Wu J, et al. Alemtuzumab compared with chlorambucil as first-line therapy for chronic lymphocytic leukemia. *J Clin Oncol*. 2007 Dec 10;25(35):5616-23.
44. Lozanski G, Heerema NA, Flinn IW, Smith L, Harbison J, Webb J, et al. Alemtuzumab is an effective therapy for chronic lymphocytic leukemia with p53 mutations and deletions. *Blood*. 2004 May 1;103(9):3278-81.
45. Dreger P. Allotransplantation for chronic lymphocytic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*. 2009:602-9.
46. Dreger P, Corradini P, Kimby E, Michallet M, Milligan D, Schetelig J, et al. Indications for allogeneic stem cell transplantation in chronic lymphocytic leukemia: the EBMT transplant consensus. *Leukemia*. 2007 Jan;21(1):12-7.
47. Byrd JC, Smith L, Hackbarth ML, Flinn IW, Young D, Proffitt JH, et al. Interphase cytogenetic abnormalities in chronic lymphocytic leukemia may predict response to rituximab. *Cancer Res*. 2003 Jan 1;63(1):36-8.
48. Dohner H, Fischer K, Bentz M, Hansen K, Benner A, Cabot G, et al. p53 gene deletion predicts for poor survival and non-response to therapy with purine analogs in chronic B-cell leukemias. *Blood*. 1995 Mar 15;85(6):1580-9.