

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA

Cristiane Bessa Henrique, biomedica e aluna do curso de Pós-Graduação Lato-Sensu em Hematologia Clínica e Laboratorial (Outubro de 2016 a Novembro de 2017) da Academia de Ciência e Tecnologia e Instituto Naoum de Hematologia

Email: *cristianebiomedica@hotmail.com*

Resumo

Leucemia linfóide aguda (LLA) ou leucemia linfoblástica é caracterizado por rápida produção maligna de células imaturas indiferenciadas (blastos). Essas células tem capacidade de multiplicar mas não de maturar até a forma madura. Podendo ser de linhagem T ou B.

O diagnóstico baseia-se no hemograma mais o mielograma e a imunofenotipagem. Sendo o hemograma, o exame que direciona o médico para os demais exames e sua conduta com o paciente.

Palavra chave: LLA, leucemia, imunofenotipagem, classificação morfológica.

Objetivo: Diferenciação laboratorial do diagnóstico da leucemia linfóide aguda

Introdução:

A primeira descrição de um caso de leucemia na literatura médica foi em 1827, pelo médico francês Alfred-Armand-Louis-Marie Velpeau que descreveu o caso de uma senhora de 63 anos, que desenvolveu uma doença caracterizada por febre, fraqueza, cálculos renais e hepatoesplenomegalia. Velpeau notou também que o sangue da paciente tinha uma consistência diferente devido ao aparecimento de "corpúsculos brancos". No entanto, foi oficialmente diagnosticado por John Hughes Bennett em Edimburgo, na Escócia em 1845.(15)

O termo "leucemia" foi inventado por Rudolf Virchow, patologista Alemão, em 1856. Pioneiro no uso do fotomicroscópio na patologia, Virchow era o primeiro a descrever o excesso anormal dos glóbulos brancos nos pacientes com a síndrome clínica descrita anteriormente por Bennett. (16)

Em 1877, Paul Ehrlich desenvolveu uma técnica de coloração que permitiu descrever em detalhes leucócitos normais e anormais. Em 1889 Wilhelm Ebstein introduziu o termo "leucemia aguda" para diferenciar rápida leucemia progressivas e fatais das leucemias crônicas mais preguiçosas(16), E em 1900, Naegel dividiu a leucemia em: mielóide e linfóide.

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é caracterizada por rápida produção maligna de células imaturas indiferenciadas de linhagem linfóide (blastos). Essas células tem capacidade de multiplicar mas não de maturar até a forma madura. É mais comum em crianças (80% dos casos) com maior risco entre 2 e os 5 anos. Após essa idade o risco declina e volta a aumentar após aos 50 anos (2, 14). Mais comum em meninos do que meninas e mais comum em brancos do que negros (4,5,17).

A leucemia linfóide aguda possui bom prognóstico, com 95% de remissão completa em casos tratados com quimioterapia. (2,3)

A classificação morfológica e a imunofenotipagem é importante para o prognóstico e escolha da terapia mais adequada, assim como a idade, condições clínicas e, principalmente, a citogenética.

O diagnóstico baseia-se no hemograma mais o mielograma e a imunofenotipagem. Este último mostra se a linhagem linfocítica é do tipo B ou T. O envolvimento do sistema nervoso deve ser avaliado através do estudo do líquido cefalorraquidiano (líquor) (4, 11)

A maioria dos pacientes refere cansaço e dispnéia durante atividades físicas, palidez, manchas na pele, sangramento nas mucosas, nariz e outros locais. Além disso, febre (53%), infecções e dores ósseas, principalmente em ossos longos(9). A dor óssea representa cerca de 40% do sintoma inicial da doença. O fígado, o baço e os linfonodos estão aumentados em mais da metade dos pacientes. (12,14).

O tratamento pode variar entre dois e três anos, dependendo da resposta do paciente (3). Podendo mudar de um lugar para o outro, embora os protocolos modernos invariavelmente são constituídos de cinco grandes fases: indução da remissão, intensificação-consolidação, reindução, prevenção da leucemia no sistema nervoso central (SNC) e continuação ou manutenção da remissão. (3, 4).

Hemograma

O hemograma pode revelar uma anemia normocítica e normocrômica e trombocitopenia. A contagem de leucócitos ocasionalmente pode estar alta, mais frequentemente está normal ou diminuída, com presença de blastos. (12). Recomenda-se a contagem de 200 células no sangue periférico(13)

Mielograma

O mielograma é o diagnóstico definitivo, mostrando mais de 25% de blastos. A Medula apresenta-se hipercelular com substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas e megacariócitos diminuídos ou ausentes. (4,5,13). Recomenda-se a contagem de 500 células da Medula Óssea (M.O.) (13)

Imunofenotipagem (IMF)

Na imunofenotipagem detecta e quantifica antígenos celulares de superfície, citoplasmáticos e nucleares, detectando com precisão a linhagem celular (B ou T) e o nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico. Podendo ser realizada em sangue periférico, aspirado de medula óssea (M.O.) ou linfonodo(6,8)

A imunofenotipagem é importante para o prognóstico e terapia a ser utilizada e para monitoração o tratamento e de doença residual mínima ou recorrentes. (7,8)

Os blastos leucêmicos expressam o antígeno leucocitário comum CD45 em moderada intensidade. A linhagem B é demonstrada pela expressão do CD19 na grande maioria dos casos, CD79a e CD22 citoplasmáticos. O CD79a foi considerado um marcador citoplasmático para essas leucemias, porém pode estar expresso em raros casos de LLA T ou mesmo Leucemia Mielóide Aguda (LMA). Para a linhagem T são

marcadores: CD3 citoplasmático ou de superfície, CD7 com forte intensidade, CD2 e CD5. (13)

Citogenética

A citogenética avalia as normalidades cromossômicas das células blásticas auxiliando na classificação da doença e no planejamento do tratamento.

A citogenética 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. (13)

Tabela 1 Classificação morfológica (FAB) da leucemia linfóide aguda

Aspecto morfológico	L1	L2	L3
Diâmetro celular	Predominância de células pequenas, homogêneas	Grandes, heterogêneas	Grandes, homogêneas
Cromatina nuclear	Fina ou aglomerada	Fina	Fina
Forma do núcleo	Regular, pode apresentar fenda ou indentação	Irregular, podendo apresentar fenda ou indentação	Regular, redondo ou oval
Nucléolos	Indistintos ou não-visíveis	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes
Quantidade de citoplasma	Escassa	Moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligeira	Ligeira	Evidente
Vacúolos citoplasmáticos	Variáveis	Variáveis	Evidente

L1 = Leucemia linfóide aguda tipo L1; L2 = leucemia linfóide aguda tipo L2; L3 = leucemia linfóide aguda tipo L3.

Fonte: Lee et al. (34).

A classificação morfológica foi desenvolvida em 1976 por um grupo de hematologistas Franceses, Americanos e Britânicos (classificação FAB), para definir cada tipo de marcador imunológico que está presente nas diferentes leucemias (7). Na década de 90 surgiu uma classificação subsidiada pela Organização Mundial da Saúde (OMS) e atualizada em 2008, que definiu de acordo com a combinação da morfologia, imunofenótipo, aspectos genético-moleculares e síndromes clínicas.

A LLA então foi classificada em L1, L2 ou L3 conforme diâmetro celular, na forma do núcleo, no número e protuberância dos nucléolos e na quantidade de citoplasma, basofilia e vacúolo citoplasmático (tabela 1) (fotos 1, 2 e 3)(5)

Nas LLA B foram considerados: pró-B (mais imatura) responsável por 5% dos casos em crianças e 10% em adultos; comum (intermediária) apresentando em 75% dos casos infantil e 50% no adulto; pré-B (pouco mais madura) responsável por aproximadamente 15% em crianças e 10% em adultos; e a B-madura presente em 2 a 5% em adultos e crianças. (5)

Da mesma forma, nas LLA T a classificação imunofenotípica baseia-se nos estágios de diferenciação: Pré-T, T intermediário e maduro. O fenótipo T corresponde a 25% dos casos em adultos e 15% em crianças, com maior frequência no sexo

masculino.(5,13) Aproximadamente 20% dos casos são de origem T e 80% dos casos de origem B (5)

Menos de 5% das LA (Leucemias agudas) não demonstram diferenciação para uma linhagem específica e expressam antígenos de mais de uma linhagem, essas são chamadas de leucemias agudas ambíguas. A denominação LA indiferenciada é usada quando não há marcadores linhagem-específicos. (13)

Ainda há as LA que anteriormente eram chamadas de bifenótípicas ou bilineares são chamadas agora como LA de Fenótipo Misto (LAFM). Esses casos podem ainda ser denominados de LLA B-mieloide ou T-mieloide, independentemente do número de populações celulares encontradas. (13)

Tabela2: Abaixo, a classificação das LLA segundo a OMS:

Leucemias agudas de linhagens ambíguas:	
Leucemia aguda não diferenciada	
Leucemia aguda de fenótipo misto com t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL 1</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	
Leucemia/linfoma linfoblástico B	
Leucemia/linfoma linfoblástico B, NOS	
Leucemia/linfoma linfoblástico B com anormalidades genéticas recorrentes	
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL 1</i>
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(v;11q23); rearranjo <i>MLL</i>
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(12;21)(p13;q22) <i>TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)</i>
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com hiperdiploidia
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com hipodiploidia
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(5;14)(q31;q32) <i>IL3-IGH</i>
■	Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
Leucemia/Linfoma Linfoblástico T	

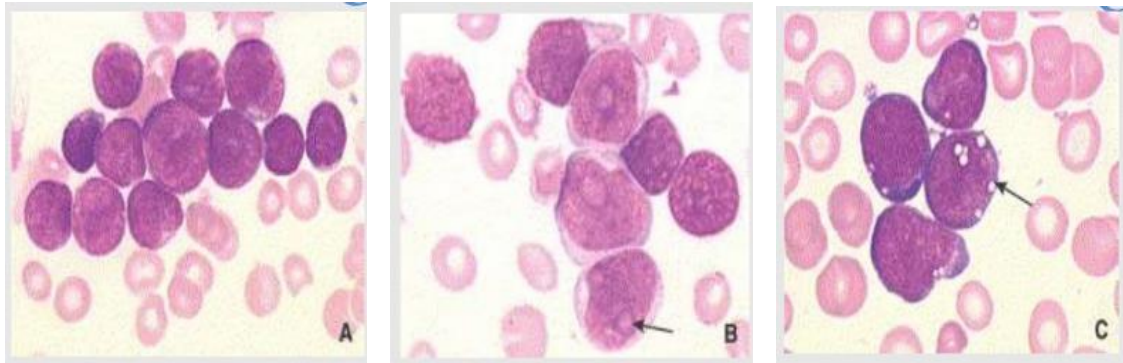
Classificação	Imunofenótipo	Frequência	
		Adultos*	Crianças**
LLA de linhagem B	CD19+ e/ou CD79a+ e/ou CD22+	Adultos*	Crianças**
BI (Pró-B)	Sem expressão de outros antígenos	11%	5-9%
BII (B comum)	CD10+	49%	53-65%
BIII (pré-B)	IgM+ citoplasmático	12%	14-20%
BIV (B madura)	Cadeia κ+ ou λ+ (citoplasma 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(-)		
- α/β (grupo a)	Anti-TCR αβ +		
- γδ (grupo b)	Anti-TCR γδ+		

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

O L1 observa-se bastos de tamanho diminuído com citoplasma escasso e cromatina frouxa porém escura. Nucléolos são raramente vistos.

No L2 são pleomórficos, ou seja, tem variabilidade morfológica maior que na L1. São linfoblastos maiores com citoplasma mais abundante e basofílico e agranular. Núcleo frouxo e nucléolos visíveis.

O L3 são linfoblastos aumentados com intensa basofilia citoplasmática, núcleo com cromatina frouxa e nucléolos e intensa vacuolização.



L1

L2

L3

Anomalias cromossômicas

Alguns pacientes com LLA tem uma anormalidade no genética conhecida como cromossomo Filadélfia (Ph), que é a translocação do cromossomo 9 com o 22 (9; 22). Outra translocação menos comum é 4 e 11 (4; 11) ou 8 e 14 (8; 14) (1).

Presente em 30% dos casos em adultos e 3 a 5% em crianças. Quase todos LLA-Ph+ são do tipo pré-B(5).

Conclusão

É importante ressaltar a importância de uma análise correta e minuciosa do hemograma para direcionar o médico os exames complementares para o diagnóstico e qual a melhor abordagem terapêutica.

O conhecimento do biomédico frente ao microscópio é de extrema importância para o correto diagnóstico visto que a doença quando tratada tardiamente diminui as chances de vida do paciente.

Lembrando também a importância dos exames rotineiros para prevenção e instrução da população pelos profissionais da saúde.

A classificação FAB permite um diagnóstico mais rápido, sendo assim possível liberação em laudo para o médico que as células são sugestivas de L1 ou L2 ou L3. Já que a confirmação do tipo dá-se pela imunofenotipagem e citogenética, e os mesmos levam mais tempo para serem realizados.

Referencia:

1. <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/sobre-o-cancer/1098/135/> acessado em 20/01/2017
2. <http://www.oncoguia.org.br/conteudo/dados-estatisticos-sobre-a-leucemia-linfoide-aguda-lla/7852/316/> acessado em 20/01/2017
3. Elman, Ilana. Crianças portadoras de leucemia linfóide aguda: Análise dos limiares de detecção dos gostos básicos. Ver Brasileira de Cancerologia 2007; 53(3): 297-303
4. Pedrosa F., Lins M. Leucemia linfóide aguda: uma doença curável. Rev. bras. saúde matern. infant., Recife, 2 (1): p.63-68, jan. - abril, 2002
5. Farias M.G., Castro S.M. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. J Bras Patol Med Lab, V.40. p 91-8. Abril 2004.
6. <http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/manuais/manual-hematologia/pages/imunofenotipagem-das-neoplasias-hematologicas.aspx> acessado em 07/07/2017
7. Silveira NA, Arraes, SMAA. A imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das leucemias agudas: uma revisão. Arq Mudi. 2008;12(1):5-14.
8. <http://www.meds.com/leukemia/flow/flow0.html> acessado em 07/07/2017
9. Hamerschlak A. Leucemia: fatores prognósticos e genética doi:10.2223/JPED.1785
10. Imagens tiradas de: DR. Felipe Vazquez Loz. Elaboro: López Luis Daniel Nava Sanchez Raul: Facultad de medicina y cirugía de la uabjo asignatura: Patología clínica catedrático. <https://es.slideshare.net/daniilopez1604/leucemia-linfoblastica-aguda-54099356>
11. Hamerschlak N. Leucemias. In: Coates V, Beznos GW, Françoso LA. Medicina do adolescente. 2ª ed. São Paulo: Sarvier; 2003. p. 274-9.
12. Ikeuti Patrícia S , Borim Leila N. B , Luporini Rafael L. Revista brasileira de hematologia e hemoterapia. 2006;28(1):45-48
13. Chauffaille ,Maria de Lourdes L. F., Yamamoto Mihoko. Tratado de Hematologia. Cap. 38 Classificação das Leucemias Agudas. página 335 a 340.
14. Barbosa CMPL, Nakamura C, Terreri M.T., Lee L.M.L., Petrilli A.S., Hilário M.O.E. Manifestações músculo-esqueléticas como apresentação inicial das leucemias agudas na infância. Jornal de Pediatria - Vol. 78, Nº6, 2002
15. <http://sulla-salute.com/saude/historia-da-leucemia.php> Acessado em 09/10/2017
16. [https://www.news-medical.net/health/Acute-Myeloid-Leukemia-History-\(Portuguese\).aspx](https://www.news-medical.net/health/Acute-Myeloid-Leukemia-History-(Portuguese).aspx) acessado em 09/10/2017
17. Falcão R.P. et al. leucemia linfóide aguda em adulto e criança: características morfológicas e imunofenotípicas. Monog Escola Brasileira de hematologia v9, p25-35.2002