

RESUMO

A Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), trata-se de um grupo de desordens clonais provenientes da célula hematopoiética imatura linfóide, que sofreu alteração genética e se tornou neoplásica. A LLA é a leucemia mais comum na infância, e representa apenas 1/5 das leucemias do adulto. O diagnóstico de uma LLA baseia-se principalmente em hemograma e mielograma, mas tais exames devem ser complementados por imunofenotipagem e colorações citoquímicas. O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão bibliográfica dos métodos laboratoriais através dos critérios morfológicos, citoquímicos e imunológicos, que são úteis para a classificação e o diagnóstico das leucemias linfoides agudas.

Palavras chaves: Leucemia Linfocítica Aguda; Diagnóstico; Hemograma.

ABSTRACT

Acute Lymphocytic Leukemia (ALL), it is a group of clonal hematopoietic disorders arising from immature lymphoid cell that has undergone genetic change and become neoplastic. ALL is the most common childhood leukemia, and is only 1/5 of adult leukemia. The diagnosis of ALL is mainly based on blood count and bone marrow examination, but such tests must be complemented by immunophenotyping and cytochemical staining. The objective of this work is to make a literature review of laboratory methods by morphological, cytochemical and immunological criteria, which are useful for the classification and diagnosis of acute lymphoid leukemia.

Key words: Acute Lymphocytic Leukemia; diagnosis; CBC.

INTRODUÇÃO

A Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) que também pode ser chamada de leucemia linfoblástica aguda, trata-se de um grupo de desordens clonais provenientes da célula hematopoiética imatura linfóide, que sofreu alteração genética e se tornou neoplásica, adquirindo assim, um grande e descontrolado poder proliferativo e perda total ou parcial da sua capacidade de amadurecimento (OLIVEIRA et al, 2004). Vários serão os efeitos, mas dentre eles temos o crescimento incontrolável e o acúmulo anormal das células chamadas linfoblastos, que vão perder a sua capacidade de funcionar como células sanguíneas normais, bloqueando a produção normal de células na medula óssea, havendo assim a diminuição na produção de glóbulos vermelhos, plaquetas e glóbulos brancos na medula óssea (HOFFBRAND et al, 2004).

A LLA é a leucemia mais comum na infância, e representa apenas 1/5 das leucemias do adulto. Nos casos infantis 70% ou mais são curados, mas no adulto apenas 25% dos casos estão livres da doença após cinco anos (GIGLIO et al, 2007). Os melhores resultados são alcançados com a escolha do melhor protocolo baseado na idade, quadro clínico, resultados laboratoriais e resposta ao tratamento inicial.

Em relação aos sinais e sintomas da LLA eles são inespecíficos e podem cursar com várias outras patologias, tais como, reumatismo, infecção, entre outras. Os sintomas, mais comuns estão relacionados à anemia, à trombocitopenia (petéquias ou equimoses), dores ósseas; hepatoesplenomegalia, adenomegalias e febre são mais raros (GIGLIO et al, 2007). Em alguns casos, pode existir ainda massa testicular, sintomas neurológicos e até lesões na pele, decorrentes da infiltração leucêmica. Existe também a possibilidade de virose na infância causar uma reação linfocitária intensa (VERRASTRO et al, 2005).

O diagnóstico de uma LLA baseia-se principalmente em hemograma e mielograma (esfregaços de sangue para análise morfológica das células), mas tais exames devem ser complementados por imunofenotipagem e colorações citoquímicas. Tais diagnósticos serão apresentados com seus achados laboratoriais em particular de acordo com a FAB (grupo franco-americano-britânico)

(VERRASTRO et al, 2005) aumentando o poder de diagnóstico e de diferenciação da LLA (OLIVEIRA et al, 2004).

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Hemograma

A característica de um esfregaço de sangue será quase sempre anemia normocítica e normocrômica, plaquetopenia em 90% dos casos, leucocitose variável, número de linfoblastos variando de acordo com a contagem de leucócitos, hiato leucêmico além da diminuição de células normais ao esfregaço corado (VERRASTRO et al, 2005).

Mielograma

O mielograma será hipercelular acentuado na maioria dos casos, com substituição quase total de células normais por linfoblastos leucêmicos (70% a 100%). É válido lembrar que a informação clínica do paciente é essencial para melhor interpretação do esfregaço de medula óssea, assim como coleta inadequada e preparações pobres em células dificultam a análise (OLIVEIRA et al., 2004 e VERRASTRO et al., 2005).

Morfologia

A FAB classifica a LLA em três diferentes subtipos de acordo com as características morfológicas encontradas em um hemograma: LLA subtipo L1, LLA subtipo L2 e LLA subtipo L3.

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
Núcleolos célula	Indistintos ou não visíveis	Um ou mais por células, grandes, proeminentes.	Um ou mais por células, 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: (FARIAS, 2004 p.92)

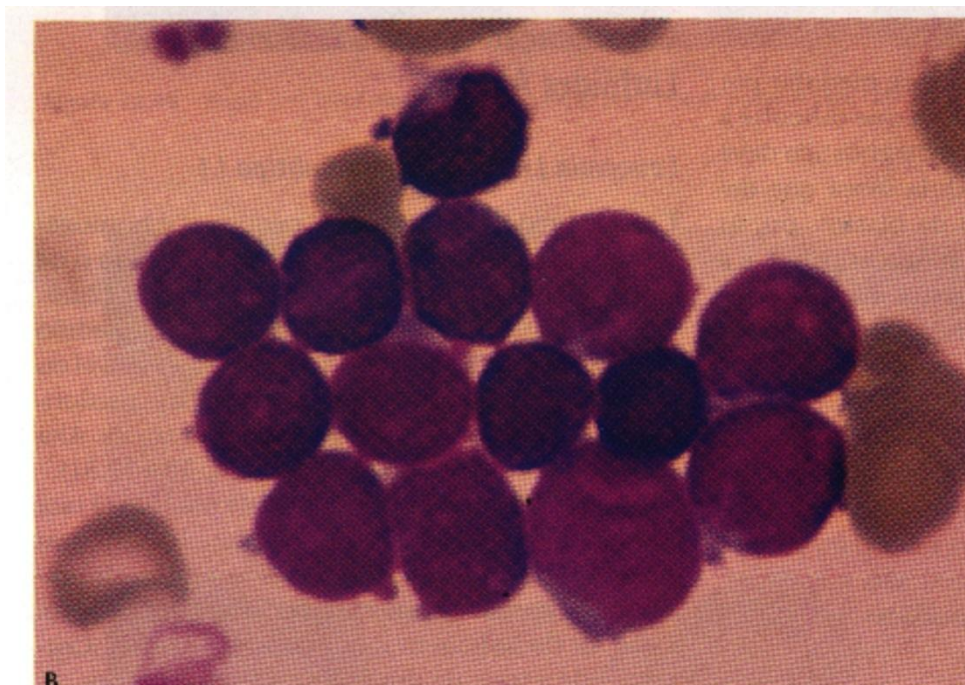


Figura 1. Linfoblastos pequenos, de cromatina pouco frouxa e de tamanho homogêneo, LLA subtipo L1. OLIVEIRA, Raimundo A.; NETO, Adelino P. Anemias e Leucemias: Conceitos Básicos e Diagnósticos por Técnicas Laboratoriais. 1ªed. São Paulo: Roca, 2004.

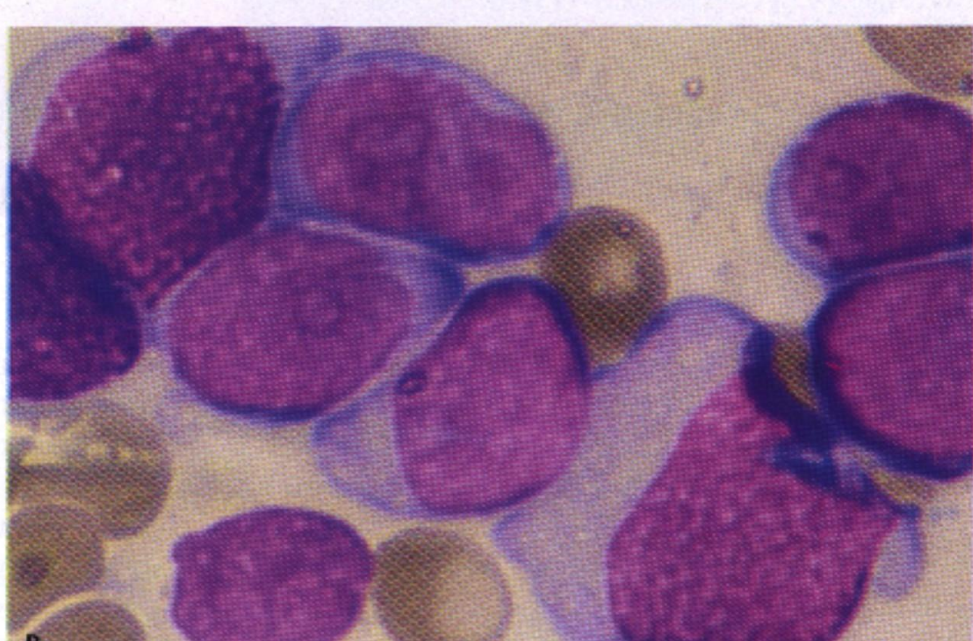


Figura 2. Linfoblastos de tamanho e relação núcleo/citoplasma heterogêneos, LLA subtipo L2. OLIVEIRA, Raimundo A.; NETO, Adelino P. Anemias e Leucemias: Conceitos Básicos e Diagnósticos por Técnicas Laboratoriais. 1ªed. São Paulo: Roca, 2004.

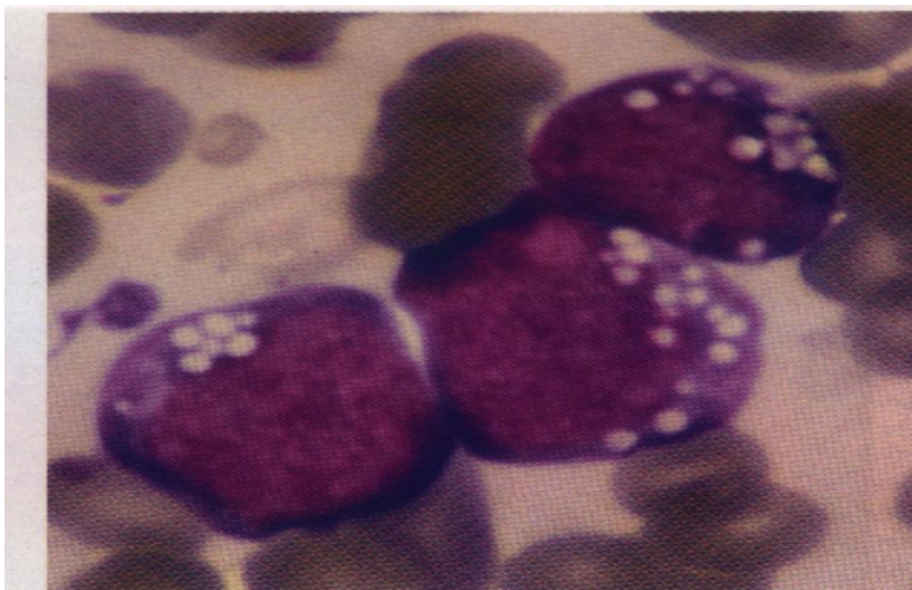


Figura 3. Linfoblastos grandes, cromatina frouxa e com nucléolos, citoplasma excessivamente basófilo e vacuolizado, LLA subtipo LL3. OLIVEIRA, Raimundo A.; NETO, Adelino P. Anemias e Leucemias: Conceitos Básicos e Diagnósticos por Técnicas Laboratoriais. 1ªed. São Paulo: Roca, 2004.

Imunofenotipagem

Como visto anteriormente a LLA é uma doença maligna do sistema hematopoiético que se caracteriza pela expansão clonal de células imaturas na medula óssea com conseqüente aparecimento no sangue periférico de linfoblastos (linhagem linfóide) que vão perder a sua capacidade de funcionar como células sanguíneas normais. Estes linfoblastos que se acumulam no sangue periférico podem estar em diferentes estágios de maturação e apresentar linhagens celulares diferentes, já que a LLA pode ser do tipo B ou do tipo T. Para identificação do estágio de maturação ou até mesmo da linhagem da célula utiliza-se a técnica de Imunofenotipagem (LORENZI et al., 2006).

A Imunofenotipagem da LLA fundamenta-se na investigação da presença ou ausência de antígenos encontrados na superfície celular ou intracitoplasmáticos. Cabe ressaltar que o diagnóstico não se baseia apenas na detecção de um único marcador específico, mas que essa análise é realizada utilizando um painel de anticorpos monoclonais selecionados para a determinação das linhagens em questão (LORENZI et al., 2006).

Os principais anticorpos monoclonais utilizados na caracterização de uma LLA são: Linhagem linfóide B: CD19, CD34, CD22, CD79A e CD10; Linhagem linfóide T: CD3, CD4, CD7 e CD8 (FADEL, 2010). Lembrando que esses anticorpos vão estar conjugados a substâncias fluorescentes (fluorocromos) para que seja possível a análise por microscopia de fluorescência ou citometria de fluxo.

A microscopia de fluorescência consiste de uma técnica na qual será utilizado um microscópio de fluorescência para visualização dos fluorocromos conjugados aos anticorpos monoclonais que ficaram aderidos à célula na reação antígeno-anticorpo (OLIVEIRA et al., 2004). É uma técnica acessível, mas que apresenta como desvantagem o fato de se analisar um pequeno número de células, tornando-se assim menos precisa e de difícil utilização para dupla ou tripla marcação em mesmo tubo.

Já a citometria de fluxo (CMF) é uma técnica sofisticada pela utilização de citômetro interligado a um computador com programa específico. Este programa avalia desde propriedades físicas e químicas a até mesmo complexidade interna e intensidade de fluorescência de uma grande população de células presentes na

suspensão líquida, analisadas uma a uma em um curto espaço de tempo (QUIXABEIRA et al., 2007). Assim, todas as literaturas estudadas chegam ao mesmo consenso, de que para a definição adequadamente da linhagem B ou T de uma LLA a imunofenotipagem é a melhor técnica.

É importante lembrar que a escolha dos antígenos estudados fica a critério de cada laboratório, pois há grandes diferenças entre o painel de anticorpos usados para a classificação das leucemias agudas para o que é utilizado no diagnóstico (FADEL, 2010).

Colorações Citoquímicas

Citoquímica é a aplicação de corantes bioquímicos a células do sangue e medula óssea, de maneira a refletir sua composição sem modificar apreciavelmente sua morfologia. Colorações citoquímicas são auxiliares importantes nos diagnósticos de leucemias e em outras doenças hematológicas. Esta modalidade de coloração mostra substâncias intracelulares com cores específicas, perceptíveis a microscopia ótica. Várias colorações citoquímicas especiais podem definir melhor e mais especificamente as características celulares e também nos permitem distinguir diferentes linhagens celulares. Podemos utilizar amostras frescas de sangue periférico, medula óssea, linfonodos e baço. As principais colorações utilizadas para diagnóstico de LLA de acordo com WILLIAMS et al., (2005) são Sudan Black B e a Mieloperoxidase.

Sudan Black B: de acordo com HENRY, (1997) o Sudan Black B (SBB- negro de Sudão) é uma substância lipossolúvel muito usada para demonstração de lipídios nas células sangüíneas que apesar de possuírem lipídios em seu citoplasma, membrana plasmática e algumas organelas, não os exibem em colorações panóticas. Ao contato com lipídios celulares, o SBB difunde-se e é fragmentado por entre essas moléculas e à solução corante, de modo a revelar às moléculas lipídicas uma coloração escura (negro de Sudão). É utilizado para identificar e caracterizar mieloblastos, monócitos, mas principalmente granulócitos, cujos grânulos apresentam grande afinidade com o SBB. O resultado é baseado na coloração, sendo positivo para as séries neutrofilicas e eosinofílicas, fracamente positivo para monócitos e negativo para linfócitos (linfoblastos). O SBB é de grande utilização para diferenciação de leucemia mielóide aguda (LMA) de leucemia linfóide aguda (LLA).

Mieloperoxidase: de acordo com WILLIAMS et al., (2005) a mieloperoxidase é uma enzima lipossolúvel localizada nos grânulos dos neutrófilos, monócitos e eosinófilos que desdobram o peróxido de hidrogênio fazendo com que ocorra oxidação de benzidina nas células que possuem a mieloperoxidase. Se ocorrer a oxidação haverá revelação de cor (mieloperoxidase positiva), não havendo oxidação (ausência de mieloperoxidase) não haverá revelação de cor (mieloperoxidase negativa). A mieloperoxidase está presente nas células sanguíneas em neutrófilos, eosinófilos e monócitos e ausente em linfócitos, logo na LLA não ocorrerá oxidação, ou seja, mieloperoxidase negativa.

De acordo com vários autores o SBB apresenta vantagem em relação à mieloperoxidase, porque pode corar material estocado por mais de duas semanas. Não sofre tanta influência do calor ou do tempo de estocagem. Entretanto, é sempre aconselhável corar o material fresco. A utilização de material estocado deve ser procedida com muito bom senso.

CONCLUSÃO

Na LLA os métodos de diagnóstico laboratorial são constantemente atualizados, possibilitando o diagnóstico precoce nas suspeita de patologias oncológicas.

Sabemos que é importante a utilização de exames para maior sensibilidade e especificidade no diagnóstico a fim de ocorrer a intervenção precoce no tratamento da LLA proporcionando ao indivíduo maior qualidade de vida.

Apesar do mielograma confirmar o diagnóstico de LLA, é necessário um refinamento da amostra colhida do paciente buscando aplicar o tratamento correto.

O avanço terapêutico associado ao progresso no diagnóstico das leucemias vem resultando num aumento na sobrevivência, e uma redução nas taxas de mortalidades, evidenciando maior qualidade nos serviços de diagnóstico e tratamento de portadores de leucemias linfocíticas aguda.

Espera-se que surgiam novas formas de diagnóstico e tratamento menos agressivos, menos invasivos e mais eficazes para a cura da leucemia linfocítica aguda, que ataca de forma mais severa o adulto.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FADEL, Ana P. Investigação Laboratorial de Leucemia Linfóide Aguda. AC&T Científica. São José do Rio Preto, v. 1, n. 2, 2010. Disponível em: <<http://www.ciencianews.com.br/revistavirtual/artapfadel.pdf>>. Acesso em 14 de outubro de 2014.

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. Diagnóstico Laboratorial das leucemias linfóides agudas. Jornal Brasileiro de Patologia Médica e Laboratorial, volume, 40, nº02, Rio de Janeiro, Brasil, 2004.

GIGLIO, Auro D.; KALIKS, Rafael. Princípios de Hematologia Clínica. 1. ed. São Paulo: Manole, 2007.

HENRY, J. B. Diagnóstico Clínico e Tratamento Por Métodos Laboratoriais. 19. ed. São Paulo: Manole, 1997.

HOFFBRAND, A. V.; PETTIT, J. E.; MOSS, P. A. H. Fundamentos da Hematologia. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2004.

LORENZI, Terezinha F. Atlas de Hematologia: Clínica Hematológica Ilustrada. 1. ed. Rio de Janeiro: Koogan, 2006.

LORENZI, Terezinha F. Manual de Hematologia: Propedêutica e Clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Koogan, 2006.

OLIVEIRA, Raimundo A.; NETO, Adelino P. Anemias e Leucemias: Conceitos Básicos e Diagnósticos por Técnicas Laboratoriais. 1. ed. São Paulo: Roca, 2004.

QUIXABEIRA, Valéria B. L.; SADDI, Vera A. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. Revista Brasileira de Análise Clínicas. Rio de Janeiro, v. 3, n. 40, 2008. Disponível em: < http://www.sbac.org.br/pt/pdfs/rbac/rbac_40_03/07.pdf>. Acesso em 22 de outubro de 2014.

VERRASTRO, T.; LORENZI, T.F.; NETO, S.W. Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos da Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica. 1. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

VOGEL, F.; MOTULSKY, A.G. Genética Humana: Problemas e Abordagens. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 2000.

WILLIAMS, W.J.; KIPPS, T.J.; LICHTMAN, M.A. Manual de Hematologia de Williams. 6. ed. São Paulo: Artmed, 2005.