

ACADEMIA DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO “LATO-SENSU”
ESPECIALIZAÇÃO EM HEMATOLOGIA ESSENCIAL E PRÁTICA

FERNANDA DE LIMA GOMES DOS SANTOS

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL DE LEUCEMIAS LINFOCÍTICAS

SAO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

2019

FERNANDA DE LIMA GOMES DOS SANTOS

**ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO
LABORATORIAL DE LEUCEMIAS LINFOCÍTICAS.**

Artigo apresentado como requisito para
conclusão de Pós-Graduação
Especialização em Hematologia Essencial
e Prática – Doutora Professora Paulo
Cesar Naoum

SAO JOSÉ DO RIO PRETO – SP

2019

SUMÁRIO

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LEUCEMIAS LINFOCÍTICAS

RESUMO.....	Erro! Indicador não definido.
OBJETIVO.....	2
1. Introdução.....	Erro! Indicador não definido.
1.1 Leucemia Linfóide Aguda.....	Erro! Indicador não definido.
2. Diagnóstico Laboratorial.....	Erro! Indicador não definido.
2.1 Hemograma.....	Erro! Indicador não definido.
2.2 Mielograma.....	3
2.3 Citoqímica.....	4
2.4 Análise Bioquímica.....	5
2.5 Imunofenotipagem.....	6
3. CONCLUSÃO.....	Erro! Indicador não definido.
REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA	

ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DE LEUCEMIAS LINFOCÍTICAS.

RESUMO

A leucemia Linfóide Aguda (LLA) é a forma mais comum de câncer na infância, compreendendo 70% dos casos, em adultos a incidência é de apenas 20 %. A abordagem inicial do diagnóstico consiste no exame citomorfológico do sangue periférico e da medula óssea. O estudo imunofenotípico eleva para 99% o percentual de casos corretamente classificados, permitindo identificar a linhagem celular (T ou B) e os diferentes estágios de maturação da célula. Aproximadamente 20% dos casos são de origem de célula T; 75%, precursores de células B; e 5%, de célula B madura. As técnicas citogenéticas têm contribuído de maneira fundamental para a compreensão da biologia molecular e do tratamento da LLA. As anormalidades cromossômicas, quando associadas ao painel de imunofenotipagem, constituem o parâmetro mais importante para a classificação das leucemias, e, juntamente com outros fatores clínicos e laboratoriais, possibilitam a estratificação dos pacientes em diferentes grupo de riscos, tendo importância fundamental para determinar o prognóstico e estabelecer o tratamento adequado. O objetivo desse trabalho é fazer uma revisão bibliográfica dos métodos laboratoriais para a classificação e diagnóstico das leucemias linfóides agudas.

Palavras chave: *Leucemia Linfóide Aguda, diagnóstico, imunofenotipagem*

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão de literatura tendo como tema os avanços e perspectivas para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda, cujo objetivo é identificar e analisar, através de artigos acadêmicos, os avanços e perspectivas que a comunidade científica aponta para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda (LLA).

Introdução

1. Leucemia Linfóide Aguda

A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma doença maligna derivada das células linfóides indiferenciadas (linfoblastos) que estão presentes em grande número na medula óssea, no timo e nos gânglios linfáticos. Os linfoblastos acumulam – se em grande quantidade em diferentes etapas da maturação, pois os mesmo mantêm a capacidade de multiplicação, mas não de diferenciação até formas normais e maduras. O LLA pode ocorrer em qualquer idade, mas a sua maior incidência ocorre em crianças de 2 a 5 anos de idade em uma porcentagem de 70 %, diminuindo entre adolescentes e adultos jovens, entre os quais a incidência das leucemias agudas é de 20 %, voltando a crescer após os 60 anos de idade. A leucemia linfocítica aguda resulta na produção descontrolada de blastos de características linfóides e no bloqueio da produção normal de glóbulos vermelhos, de glóbulos brancos e de plaquetas. A LLA desenvolve-se a partir dos linfócitos primitivos, que podem se encontrar em diferentes estágios de desenvolvimento. (HAMERSCHLAK, 2008).

Os sinais e sintomas da LLA são muito parecidos aos da LMA, como cansaço, falta de ar, sinais de sangramento, infecções e febre. Além disso, podem ocorrer aumento de gânglios, inflamação dos testículos, vômitos e dor de cabeça sugestivos de envolvimento do sistema nervoso.

Febre, palidez e equimose são as manifestações clínicas mais comuns em crianças portadoras de LLA e decorrem da falência na hematopoiese normal, devido à infiltração medular de blastos leucêmicos.

Outras manifestações clínicas que representam infiltrações de células leucêmicas são hepatomegalia, esplenomegalia e linfadenopatia com freqüências, respectivamente, de 68%, 63% e 50%.

2. DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico e a classificação das Leucemias Agudas baseiam –se, em grande parte, na análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas. O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas apoiam – se em grande parte nos estudos imunofenotípicos por citometria de fluxo, permitindo avançar na identificação de determinados subgrupos dificilmente classificados do ponto de vista morfológico. (VERRASTRO, 2002).

2.1 HEMOGRAMA

O hemograma pode revelar anemia normocítica, normocrômica e trombocitopenia. A contagem de leucócitos pode estar ocasionalmente muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída.

Nos casos de leucocitose, os blastos podem ser numerosos, podendo chegar a maioria. E em pacientes leucopênicos os blastos apresentam – se raros ou ausentes.

2.2 MIEOLOGRAMA

Oliveira, Diniz e Viana (2004) afirmam que o diagnóstico das leucemias é firmado pela punção aspirativa da medula óssea. O estudo desse tecido revela a substituição hematopoiética normal por células leucêmicas imaturas. O diagnóstico é confirmado quando mais de 25% a 30% das células nucleadas são blastos. Se a medula não puder ser aspirada ou a amostra for hipocelular, a biópsia

de medula óssea fornece o material necessário para o estudo. Os esfregaços são corados por técnicas habituais – MayGruwald-Giemsa, Leishman ou Wright – e por métodos citoquímicos. O exame morfológico e citoquímico dos esfregaços de medula óssea permite o diagnóstico e a classificação inicial da maioria dos casos de leucemia.

O diagnóstico da LLA fundamenta - se na demonstração de mais de 25% de linfoblastos na medula óssea. A medula encontra - se hiper celular com substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas, com precursores mielóides e eritróides residuais de aspecto normal e megacariócitos diminuídos ou ausentes.

Morfologia: o grupo French American British (FAB) classificou as LLas em três subtipos morfológicos – L1, L2 e L3 - com base no diâmetro celular, na forma do núcleo, no número e na protuberância dos nucléolos e na quantidade e no aspecto relativos do citoplasma, conforme mostram na Tabela 1.

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
Núcléolos	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.⁽²⁰⁾

2.3 CITOQUÍMICA

As reações Citoquímicas podem auxiliar na diferenciação entre LLA e Leucemia Mielóide Aguda (LMA). As reações de Mieloperoxidase e Sudan Black são úteis para estabelecer e confirmar o diagnóstico de LMA, uma vez que os linfoblastos são uniformemente negativos. Os linfoblastos T

revelam atividade paranuclear na esterase inespecífica logo que realizada em pH ácido (6), tendo uma atividade maior de 75% na fosfatase ácida. Na periódica ácida de Schiff (PAS), os linfoblastos da LLA frequentemente demonstram uma evidente coloração e forma de anéis concêntricos de grânulos grosseiros ou blocos maciços. Uma reação PAS negativa é mais frequente na LLA de linhagem T que na linhagem B. Os Mieloblastos podem ser positivos ou negativos para o PAS; quando positivos, não apresentam o aspecto granular observado nos linfoblastos. Verrastro (2002) também aborda que as reações citoquímicas podem auxiliar muito na diferenciação entre LLA e LMA. As reações do Sudan black e a peroxidase são completamente negativas ou positivas em pequena porcentagem dos blastos leucêmicos (3% a 5%). A reação da fosfatase alcalina ácida é importante para caracterizar a leucemia aguda tipo T. A reação do PAS dá resultados variáveis; pode ser totalmente negativa ou pode revelar granulações positivas homogêneas e pequenas, ou grandes e grosseiras. Não se sabe o porquê desse comportamento diferente. Alguns autores admitem que a reação positiva no citoplasma de blastos estaria ligada à presença de imunoglobulinas. Baseado neste achado, a reação do PAS positiva estaria relacionada com a LLA tipo B. Embora isto, às vezes, seja real, tal correlação não existe na totalidade dos casos. Há certos casos de LLA tipo L3 em que é positiva pelo PAS; em outros casos a reação é completamente negativa (VERRASTRO, 2002).

2.4 ANÁLISE BIOQUÍMICA

Oliveira, Diniz e Viana (2004) também consideram importantes as análises bioquímicas, a avaliação da função hepática e renal, a dosagem do ácido úrico, da desidrogenase láctica (LDH) e de eletrólitos – sódio, potássio, cálcio, fósforo e magnésio –, que devem ser realizadas antes do início do tratamento. É comum o encontro de níveis aumentados de LDH decorrentes de uma rápida destruição e regeneração celular.

2.5 IMUNOFENOTIPAGEM

Diversos autores têm proposto uma classificação imunológica das LLAs, de acordo com a expressão de antígenos específicos, podendo, inicialmente, essas leucemias ser classificadas de linhagem T ou B, de acordo com as características imunofenotípicas dos linfoblastos Tabela 2, sendo possível detectar com bastante precisão, além da linhagem celular, o nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico.

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas • J Bras Patol Med Lab • v. 40 • n. 2 • p. 91-8 • abril 2004

Tabela 2 Perfil imunofenotípico das leucemias linfóides

Marcador	Linhagem B				Linhagem T		
	Pró-B	Comum	Pré-B	B	Pré-T	Intermediário	T
HLA-DR	+	+	+	+	+/-	-	-
TdT	+	+	+	+/-	+	+	+
CD19	+	+	+	+	-	-	-
CD22(c)	-/+	+	+	+	-	-	-
CD10	-	+	+	-/+	-/+	-/+	+/-
CD20	-	-/+	+	+	-	-	-
cμ	-	-	+	-	-	-	-
SmIg	-	-	-	+	-	-	-
CD7	-	-	-	-	+	+	+
CD2	-	-	-	-	-	+	+
CD3(c)	-	-	-	-	+/-	+	+
CD1a	-	-	-	-	-	+/-	-
CD3	-	-	-	-	-	-	+
CD4/CD8	-	-	-	-	-	+/-	+

TdT = Terminal desoxinucleotidil transferase; CD22(c) = CD22 intracitoplasmática; cμ = cadeia μ citoplasmática; SmIg = imunoglobulina de superfície; +: expressão do antígeno; +/-: expressão variável, frequentemente positiva; -: ausência de expressão do antígeno; -/+: expressão variável, frequentemente negativa.
Adaptação de Souza et al.⁽³²⁾.

LLA de linhagem B: As leucemias de linhagem B foram divididas de acordo com os estágios de diferenciação normal dos progenitores B na medula óssea, classificando – se em: pró:B, comum, pré: B e B-maduro. A LLA do tipo pró-B representa 5% dos casos pediátricos e 10 % dos casos de LLA em adultos. As células expressam: HLA-DR, terminal Desoxinucleotidil Transferase (TdT), CD34, CD19 e CD22. A LLA do tipo comum (Calla) expressa CD10, o que causa um impacto favorável no prognóstico, CD22, CD19 e/ou CD20. Representa 75% dos casos de LLA infantil e 50% dos casos em adultos. A leucemia pré-B expressa cadeia μ citoplasmática, em adição a CD19, CD20 e CD10, representando, aproximadamente, 15% das crianças com LLA e 10% dos casos em

adultos. Finalmente, a LLA do tipo B maduro, presente em 2% a 5% de crianças e adultos, apresenta um fenótipo incomum, caracterizando – se pela expressão de cadeias leves de imunoglobulina na superfície de membrana (Smlg). Os blastos apresentam as mesmas características morfológicas (FAB L3) e translocações cromossômicas associadas à célula maligna do linfoma de Burkitt. Este tipo de leucemia apresenta prognóstico desfavorável, pois há elevada incidência de envolvimento no sistema nervoso central (SNC), resposta deficiente à terapia e sobrevida abreviada.

LLA de linhagem T: As LLAs de linhagem T dividem – se em três subgrupos, de acordo com os antígenos de diferenciação: LLA pré- T, LLA -T intermediário e maduro. Na LLA pré T as células expressam CD3 no citoplasma, mas não na superfície celular, expressando caracteristicamente CD7, CD2, CD5 e TdT. Na LLA do tipo T intermediário, as células passam a expressar fortemente CD3c, CD2, CD1a e podem co-expressar CD4 e CD8. A LLA do terceiro grupo correspondem aos tímocitos medulares, expressando CD2, CD5, CD7, CD3, sendo duplamente positiva para CD4 e CD8. O fenótipo T está presente em 25% dos adultos e 15% das crianças com LLA, e ocorre com grande frequência em indivíduos do sexo masculino, estando associado a elevada leucometria por ocasião do diagnóstico, massa mediastínica e envolvimento no SNC.

Atualmente, o uso de anticorpos monoclonais para identificar antígenos de diferenciação celular está sendo aplicado para investigar e caracterizar laboratorialmente a maioria das leucemias agudas e crônicas de origens mielóide e linfóide (NAOUM, 2001). Os antígenos de membrana são comuns a diferentes tipos de células. Diferentemente, os antígenos citoplasmáticos são específicos, e possibilitam classificar as leucemias em linfóides (subtipos B e T) ou mielóides (subtipos M0 até M7). As células leucêmicas da linhagem B (linfóides) expressam mais comumente os antígenos de membrana: CD10, CD19, CD22, CD24 e o antígeno citoplasmático CD79. Os antígenos de membrana de células T (linfóides) mais comuns são: CD2, CD3, CD5, CD7; e o citoplasmático: CD3. Já os antígenos de células mielóides mais frequentes são o CD13 e o CD33;

e o antígeno citoplasmático, o MPO. As reações de imunofenotipagem avaliam antígenos celulares expressos nos blastos leucêmicos, através da citometria de fluxo.

3. CONCLUSÃO

Embora a LLA deva sempre ser considerada uma doença grave, a identificação de vários fatores prognóstico permite a estratificação dos pacientes em grupos de risco, o que possibilita uma abordagem terapêutica diferenciada. Os grupos de maior risco são tratados com terapias mais intensas, cada vez mais eficazes, enquanto os grupos de baixo risco apresentam melhor sobrevida podendo ser poupados dos efeitos deletérios da terapêutica.

Deve-se, ainda, analisar as vantagens e desvantagens de cada método em todas as fases de tratamento, desde a remissão, pós-remissão, consolidação e manutenção, até transplante de medula óssea. Nota-se, ainda, que os métodos de biologia molecular vêm revolucionando o entendimento dos mecanismos envolvidos na etiopatogenia das leucemias. A compreensão destes mecanismos proporciona uma rápida modificação na abordagem diagnóstica e nos protocolos terapêuticos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

LORENZI, Therezinha F. Manual de hematologia. 3 ed. Belo Horizonte: Medsi, 2003.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LINFOMA E LEUCEMIA (ABRALE). O que é leucemia.

NAOUM, Paulo C. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. Rev. Bras. Hematol. Hemoter., São José do Rio Preto, v. 23, n. 2, p. 15-23, maio/ago. 2001

VERRASTRO, T. Hematologia e Hemoterapia: fundamento de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Atheneu, 2002.

HAMERSCHLAK, Nelson. Manifestações reumáticas associadas a doenças oncohematológicas. Einstein, São Paulo, v. 6, supl. 1, p. S89-S97, set. 2008.

OLIVEIRA, Benigna Maria; DINIZ, Michele dos Santos; VIANA, Marcos Borato. Leucemias agudas na infância. Rev Med Minas Gerais, Belo Horizonte, v. 14, n. 1, supl. 1, p. S33-S39, 2004.