



Importância da Imunofenotipagem na Leucemia Linfóide Crônica

Lídia Maria da Silva Lopes

Hematologia Clínica e Imunoematologia de Banco de Sangue

São Jose do Rio Preto - SP
2018

Resumo

A Leucemia Linfóide Crônica (LLC) resulta de uma lesão adquirida no DNA de uma única célula, que danificada, prejudica a sua função e leva a um aumento desordenado na sua produção. No hemograma há a presença de células linfóides caracteristicamente pequenas, com alta relação núcleo/citoplasma, cromatina condensada, membrana nuclear regular, nucléolo pouco evidente e citoplasma pálido e escasso. Os portadores dessa patologia podem ser assintomáticos ou apresentar alguns sintomas como: febre, emagrecimento ou sudorese. Para o diagnóstico da LLC depende do imunofenótipo dos linfócitos circulantes. Existe uma técnica que avalia as propriedades celulares: a imunofenotipagem, é realizada sendo útil tanto no diagnóstico, classificação, estadiamento, monitoramento, como na caracterização fenotípica das células hematopoiéticas patológicas, pois oferece objetividade, sensibilidade, rapidez e precisão na análise das características celulares, incluindo o conteúdo de DNA/RNA, a detecção e quantificação de antígenos celulares, a análise de resistência celular a drogas e a análise de conteúdo citoplasmático. A imunofenotipagem é uma importante ferramenta no diagnóstico hematopatológico, pois permite análise fenotípica das populações celulares leucêmicas, apresentando uma alta sensibilidade, especificidade e precisão, que possibilita análises multiparamétricas de um grande número de células em pequeno intervalo de tempo.

Palavras- chave: Leucemia Linfóide Crônica, Imunofenotipagem, Citometria de Fluxo.

Introdução

A Leucemia Linfóide Crônica (LLC) resulta de uma lesão adquirida no DNA de uma única célula, que danificada, prejudica a sua função e leva a um aumento desordenado na sua produção. Caracteriza-se por acúmulo progressivo de células linfóides B maduras, monoclonais e com fenótipo característico no sangue periférico (NAOUM, 2017). No hemograma há a presença de células linfóides caracteristicamente pequenas, com alta relação núcleo/citoplasma, cromatina condensada, membrana nuclear regular, nucléolo pouco evidente e citoplasma pálido e escasso. É comum a presença de restos nucleares, denominados como manchas de Grumpecht, que são decorrentes da fragilidade mecânica das células que se arrebentam facilmente durante o preparo do esfregaço sanguíneo (OLIVEIRA, 2015).

Os portadores dessa patologia podem ser assintomáticos ou apresentar alguns sintomas como: febre, emagrecimento ou sudorese, destes 60% apresentam linfadenomegalia; 50% esplenomegalia; e menos de 40% hepatomegalia (OLIVEIRA, 2015).

Mundialmente surgem 257 mil casos novos de leucemia por ano, dos quais cerca de 56% são em homens. As maiores taxas de incidência encontram-se na América do Norte, Austrália e Nova Zelândia. E na África sub-Saária apresentam menores taxas. Estima-se que para cada ano sejam diagnosticados 5.940 casos novos de leucemia em homens e 4.860 em mulheres, que correspondem a um risco estimado de 5,75 casos novos a cada 100 mil homens e 4,56 casos novos para cada mil mulheres. A LLC é responsável por corresponder a 25% de todas as leucemias, acometendo principalmente idosos entre 60 e 80 anos de idade, com a incidência de duas vezes maior no sexo masculino em relação ao feminino. Raramente é diagnosticada em pessoas com menos de 40 anos e é extremamente rara em crianças. (NAOUM, 2017). Poucos fatores têm sido associados a um aumento no risco de desenvolvimento da doença. Há contínuos estudos para as possíveis relações com o estilo de vida ou com fatores ambientais, mas ainda não foram alcançadas conclusões. Devido a poucos estudos, isso sugere que vários fatores podem estar envolvidos. (INCA, 2018).

Para o diagnóstico da LLC depende do imunofenótipo dos linfócitos circulantes, estudos de citologia e histologia são somente necessários quando há linfocitoses discretas e sem quadro clínico inequívoco.

Imunofenotipagem

Existe uma técnica que avalia as propriedades celulares na medida em que as células se movem em uma solução isoeletrolítica e com um conjunto de detectores de fluorescência, conhecida como Citometria de Fluxo (CMF). A imunofenotipagem é realizada com essa técnica, sendo útil tanto no diagnóstico, classificação, estadiamento, monitoramento, como na caracterização fenotípica das células hematopoiéticas patológicas. (QUIXABEIRA & SADDI, 2008).

A CMF utiliza anticorpos monoclonais marcados com fluorescência para analisar qualitativamente e quantitativamente padrões de expressão de antígenos (*clusters designations- CDs*), essa metodologia permite a análise de 10^5 a 10^6 células por minuto, em populações celulares de interesse com suas propriedades físicas e químicas. Nos últimos anos tem sido aplicada em laboratórios de pesquisas e clínicos, pois oferece objetividade, sensibilidade, rapidez e precisão na análise das características celulares, incluindo o conteúdo de DNA/RNA, a detecção e quantificação de antígenos celulares, a análise de resistência celular a drogas e a análise de conteúdo citoplasmático. Toda essa técnica é feita em um equipamento denominado citômetro de fluxo que possui um laser que incide sobre a célula, fotodetectores de sinais, suspensões celulares marcadas com anticorpos fluorescentes e um computador ligado ao sistema. Todas as informações são lançadas no computador que elabora gráficos e histogramas, e divide por regiões de parâmetros de fluorescência possibilitando as análises de populações celulares diferentes em uma mesma amostra. (QUIXABEIRA & SADDI, 2008).

A imunofenotipagem requer o isolamento das células hematopoiéticas do sangue periférico, aspirado de medula óssea ou linfonodo. Para as amostras de sangue e medula óssea é necessário o tratamento com solução hipotônica de lise de eritrócitos e depois ser incubadas com anticorpos monoclonais. As amostras devem ser mantidas entre 18°C e 22°C e analisadas preferencialmente até 24 horas após a coleta.

A CMF permite identificar as células com imunofenótipo anormal dentro da população de células maduras de linhagem B. Os linfócitos da LLC apresentam positividade para marcadores B com padrão de fraca intensidade de fluorescência (CD19dim, CD20dim, CD22dim), com imunoglobulina IgM ou IgD de fraca intensidade, coexpressam de modo aberrante o antígeno T CD5+ e são positivas para marcadores CD23+ e CD200+. Em geral negativas para os antígenos CD79b (-ou +/-), FMC7-, CD10- e ciclina D1-. (OLIVEIRA, 2015).

Conclusão

A CMF é uma importante ferramenta no diagnóstico hematopatológico, pois permite análise fenotípica das populações celulares leucêmicas, apresentando uma alta sensibilidade, especificidade e precisão, que possibilita análises multiparamétricas de um grande número de células em pequeno intervalo de tempo. (Metze, 2005).

A técnica é atualmente desenvolvida, mas o diagnóstico depende na maior parte dos casos de informações clínicas, da morfologia celular no mielograma, da Biopsia de Medula Óssea (BMO) e da avaliação genética.

Referências bibliográficas

QUIXABEIRA, V. B. L., SADDI, V.A. **A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura.** Sociedade Brasileira de Análises Clínicas, Goiânia, v.40, n.3, p. 199-202, 2008.

REGO, E.M., SANTOS, G.A. **Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Ribeirão Preto, 2009.

METZE, I. L., LLC: **Critérios diagnósticos, imunofenotipagem e diagnóstico diferencial.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, Campinas, v. 27, n. 4, p. 233-235, 2005.

OLIVEIRA, R.A.G., **Hemograma: como fazer e interpretar**, 2 edição, São Paulo Red Publicações: 2015.

NAOUM, F.A., NAOUM P.C. **Hematologia Laboratorial- Leucócitos**, 3 edição revisada, São José do Rio Preto: Academia de Ciência e Tecnologia, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER. **Leucemia: Subtipos.** Disponível em: <http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home/leucemia/subtipos+>. Acesso em 03 Abril 2018.