

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

ANA CAROLINA FERREIRA

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA (LLC).

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP.

Junho/2021

RESUMO

A leucemia linfóide crônica (LLC) é uma doença diretamente ligada com a hematopoese. Sua suspeita é levantada através do resultado do hemograma, é caracterizada pela multiplicação descontrolada de leucócitos no sangue com linfocitose persistente e linfócitos com características morfológicas “maduros”. Utiliza-se nas investigações iniciais o hemograma, imunofenotipagem e citogenética, na maioria das vezes é assintomática no ato do diagnóstico e ao longo do tempo os sintomas aparecem gradualmente. Para facilitar a tomada de decisões terapêuticas na LLC utiliza-se de dois estadiamentos sendo eles Rai e Binet. Por se tratar de uma doença crônica e incurável, o intuito do tratamento é o bem estar do paciente.

Palavras chave: Leucemia Linfocítica Crônica, Características, Estadiamento.

ABSTRACT

Chronic lymphoid leukemia (CLL) is a disease directly linked to hematopoiesis. His suspicion is raised through the result of the blood count, it is characterized by the uncontrolled multiplication of leukocytes in the blood with persistent lymphocytosis and lymphocytes with morphologically "mature" characteristics. Blood count, immunophenotyping and cytogenetics are used in initial investigations, most of the time it is asymptomatic at the time of diagnosis and over time the symptoms gradually appear. To facilitate therapeutic decision-making in LLC, two stages are used, namely Rai and Binet. As it is a chronic and incurable disease, the purpose of treatment is the patient's well-being.

Keywords: Chronic Lymphocytic Leukemia, Characteristics, Staging.

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo fazer uma revisão de literatura, identificar e analisar, através de artigos acadêmicos o diagnóstico laboratorial da leucemia linfocítica crônica (LLC).

INTRODUÇÃO

A leucemia linfóide crônica (LLC) é uma doença idiossincrática, que está diretamente ligada com a hematopoese, sendo caracterizada pela multiplicação descontrolada da quantidade de leucócitos no sangue, gerando a partir disso o aumento e acúmulo na quantidade de linfócitos. O seu curso clínico é heterogêneo, podendo o paciente sobreviver de meses até anos, sendo que cerca de 70% dos pacientes apresentam-se assintomáticos ao diagnóstico (VASCONCELOS, 2005; RIBEIRO, 2010).

A LLC é uma doença que acomete mais a população idosa, tendo isso em vista, existem alternativas de tratamento, dentre elas as mais comuns são: quimioterapia e radioterapia. Para que estes tipos de tratamentos possam ser realizados, sempre é necessário que o paciente tenha uma regularidade em sua rotina de exames, como hemogramas e exames bioquímicos, para que através da análise dos resultados destes exames o profissional tenha conhecimento da evolução do paciente e da viabilidade do indivíduo ser submetido a novas seções do tratamento (VENDRAMINI et al., 2010; GOZZO et al., 2011; BRASIL, 2016).

As leucemias retratam um grupo de enfermidades que correspondem pelo desenvolvimento de diversas anormalidades orgânicas nos indivíduos atingidos. Tanto as leucemias agudas como as crônicas, originárias do linfóide ou mieloide, quando não possuem diagnóstico de forma correta e tratamento a tempo, provocam um sofrimento aos pacientes e, infelizmente, na maioria das vezes, levam ao óbito. As demonstrações clínicas manifestadas são bastante parecidas, por isso, a precisão de ter o conhecimento das peculiaridades de cada uma das enfermidades que abarcam a etiologia, o diagnóstico diferencial com as demais enfermidades, o diagnóstico laboratorial, a terapêutica e o progresso do paciente. A informação de todos esses fatores ajudará o clínico no diagnóstico exato da enfermidade e, por conseguinte, na utilização de um tratamento apropriado com o objetivo na cura dos pacientes e melhor qualidade de vida (FRAGA, 2006).

Segundo Scarfò, Ferreri e Ghia (2016), Rossi e Gaidano (2016) e Rai e Stilgenbauer (2016) a Leucemia Linfocítica Crônica (LLC) é determinada como uma neoplasia linfoproliferativa crônica, peculiarizada pelo acúmulo progressivo de linfócitos B CD5+ no sangue periférico na Medula Óssea (MO) e órgãos linfóides

secundários (gânglios linfáticos e baço). Os linfócitos na LLC são células B clonais CD19-positivas, individualizadas por um imunofenótipo de CD20 e com expressão superficial diminuída de imunoglobulinas monoclonais.

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

O diagnóstico da LLC é baseado nas características clínicas e laboratoriais. O hemograma, a análise morfológica e a imunofenotipagem são as investigações iniciais (MATUTES et al., 2010). Requer uma detecção sustentada de mais de 5000 linfócitos B monoclonais no sangue periférico, com características imunofenotípicas específicas, que são determinadas por citometria de fluxo (CMF) (MONTSEERRAT; MORENO, 2008), sendo CD5, CD19, CD20, CD23 e imunoglobulinas de superfície alguns dos marcadores utilizados no diagnóstico (LANASA, 2010).

Hemograma

O hemograma é requerido para estes pacientes tendo em vista o contexto clínico em que ocorre desde o momento do diagnóstico até o tratamento do paciente. Este exame possui vasta importância no tratamento e acompanhamento, mesmo depois de diagnosticada a doença. A partir do hemograma será possível analisar como está a evolução do paciente mediante o tratamento que está sendo realizado. A principal característica no hemograma de pacientes portadores de LLC é o aumento dos linfócitos por se tratar de uma doença de curso heterogêneo.

Os resultados do hemograma de pacientes com LLC comumente podem vir atestando quadros como: anemia, que se trata da redução da concentração de hemácias e hemoglobina no sangue do paciente, tornando-o incapaz de ser submetido a todos os procedimentos; leucocitose, a qual é caracterizada pelo aumento da quantidade de leucócitos circulantes, tornando o paciente propenso a infecções; plaquetopenia, na qual ocorre diminuição da quantidade de plaquetas gerando problemas como dificuldade de coagulação e conseqüentemente possíveis casos de hemorragia (JUNIOR, 2008; ÁVILA; SOARES; SILVA, 2013; TOBIAS et al., 2016).

Outra característica da LLC no esfregaço sanguíneo é a presença de células conhecidas como sombras nucleares, que é uma repercussão artefactual quando o

esfregaço é feito, devido a maior fragilidade mecânica, algumas células leucêmicas são arreventadas (esmagadas). Embora não seja exclusiva da LLC, qualquer quadro que leve a uma linfocitose pode cursar com a presença de sombras nucleares. Essas sombras nucleares são também chamadas de Manchas de Gumprecht. O que chama a atenção no esfregaço da LLC é a quantidade e não a morfologia dos linfócitos.

Imunofenotipagem

A CMF permite identificar células com imunofenótipo anormal dentro da população de células maduras da linhagem B. Existem duas evidências a favor da presença de doença neoplásica que são pesquisadas neste contexto: a monoclonalidade para a cadeia leve da imunoglobulina de superfície (ou *kappa* ou *lambda*) e aberrâncias de expressão antigênica relacionadas com doenças específicas.

Neoplasias da linhagem B habitualmente representam um único clone derivado de uma célula com IgS ou *kappa* ou *lambda*. Esse fato está em contraste com o padrão policlonal que ocorre na extensa maioria dos casos de linfocitose reativa. No entanto, embora a detecção de populações monoclonais para cadeia leve seja extensamente usada como sinônimo de neoplasia, é necessária uma avaliação cuidadosa. (DU et al., 2001)

A imunofenotipagem é o teste confirmatório que revela a presença de CD5+ em mais de 90% dos casos e CD23+ em mais de 60% dos casos, bem como CD10- (negativo) e uma positividade fraca para imunoglobulina de superfície (IgS + fraca) em quase todas as células e positividade fraca também para CD20. Atualmente, a presença de pelo menos 5x10⁶ linfócitos/dl com imunofenotipo característico (CD5+ e CD23+) confirma o diagnóstico de LLC. (Naoum, 2010).

Citogenética

A citogenética possui importante papel na leucemia linfocítica crônica (LLC) seja no auxílio ao diagnóstico, no acompanhamento evolutivo, na escolha terapêutica, no monitoramento do tratamento ou na transformação (Síndrome de Richter), pois oferece evidências de significado prognóstico, assim como a possibilidade de entender melhor a doença. Recomenda-se a realização de estudo

citogenético em todos os casos de LLC e nas diferentes fases evolutivas, desde o diagnóstico.

Citogenética é a parte da genética que estuda os cromossomos, sua função, estrutura, comportamento biológico e patológico. Está dividida em citogenética clássica e molecular. A citogenética clássica baseia-se na análise dos cromossomos da célula em divisão, em particular, na metáfase da mitose, que é a fase em que os cromossomos estão mais condensados. Após a interrupção da mitose, seguem-se procedimentos técnicos, como hipotonia e fixação, preparo do espalhamento cromossômico, coloração por banda G, pareamento e montagem do cariótipo.

Já a citogenética molecular independe de divisão celular, pois se estriba na análise do DNA. A citogenética molecular compreende as técnicas de hibridação in situ por fluorescência (FISH), hibridação genômica comparativa (CGH) e cariotipagem espectral (SKY), dentre outras.(Chauffaille, 2005)

O estudo citogenético da LLC revela alterações cromossômicas em cerca de 50% dos pacientes. As 3 Principais alterações citogenéticas na LLC são:

- Trissomia do cromossomo 12 (presente em 10-15 % dos casos)
- Deleções ou translocações do braço longo do cromossomo 13 na banda 14 (presente em 15-20 % dos casos)
- Deleções da região 11q23 (20% dos casos).(F. Naoum e P. Naoum, 2010)

Análises moleculares revelaram que mutações nos genes da região variável da Imunoglobulina (IgV) conferem melhor prognóstico ao portador da LLC. (Naoum, 2010)

O diagnóstico diferencial de LLC deve ser feito com outros distúrbios linfoproliferativos crônicos, particularmente com o linfoma folicular, o linfoma esplênico com linfócitos viloso, o linfoma de células do manto e a variante de pequenas células da leucemia prolinfocítica da linhagem T .(Bain, 1997)

QUADRO CLÍNICO E EVOLUÇÃO

A LLC apresenta quadro clínico heterógeno, sendo a maioria dos pacientes assintomática, diagnosticada através de achados laboratoriais de linfocitose no hemograma e na imunofenotipagem, responsável pela identificação de marcadores anômalos das células linfóides.

O curso clínico da doença progride desde linfocitose indolente, sem outros comemorativos, até infiltração de órgãos linfóides como linfonodos, fígado, baço e medula óssea, com conseqüente linfonomegalia, esplenomegalia, hepatomegalia e citopenia no sangue periférico. Complicações da(s) citopenia(s) incluem anemia, responsável por comprometimento da qualidade de vida, além de infecção e sangramento, que representam as principais causas de morte de pacientes com LLC-B. (Anaisse, 1998)

Alterações imunológicas como teste de Coombs direto positivo (com ou sem anemia hemolítica), púrpura trombocitopênica imunológica e redução dos níveis de imunoglobulinas podem ser responsáveis por manifestações clínicas ou mesmo dificultar o tratamento da LLC-B. (Mauro, 2000)

Estas alterações devem ser investigadas tanto ao diagnóstico como periodicamente, durante o seguimento do paciente, e são geralmente indicações de início de tratamento.

Para estimar o prognóstico a partir do estágio em que a doença se encontra o diagnóstico e facilitar a tomada de decisões terapêuticas na LLC utiliza-se de dois estadiamentos:

Estadiamento de Rai

- Estagio 0: apenas linfocitose;
- Estagio I: linfocitose e linfonomegalia;
- Estagio II: Esplenomegalia e/ou hepatomegalia com ou sem linfomegalia;
- Estagio III: presença de anemia (HB < 11,0 g/dl);
- Estagio IV: plaquetas < 100 mil.

Estadiamento de Binet (com presença de linfocitose)

- Binet A: < 3 áreas linfoides acometidas pela doença (cadeias cervicais, axilares e inguinais, além de fígado e baço palpáveis);
- Binet B: > 3 áreas linfoides envolvidas;
- Binet C: Presença de Anemia (HB< 10,0 g/dl) e plaquetopenia (< 100 mil).

Além do estadiamento outros fatores interferem na evolução da LLC como sexo, morfologia dos linfócitos, infiltração da MO, tempo de duplicação dos linfócitos entre resultados de exames citogenéticos e moleculares.

A LLC é uma doença que apresenta um curso indolente, com uma progressão mais lenta e insidiosa, mas com o passar do tempo, alguns pacientes podem sofrer uma transformação para doenças mais graves como leucemia prolinfocítica ou para um linfoma agressivo de grandes células, que é um fenômeno conhecido como síndrome de Richter, é um que ocorre em 3 a 5% dos casos.

CONCLUSÃO

Conclui-se que, um profissional com experiência citológica em leucemias é um fator que determina uma análise cuidadosa e criteriosa do laboratório de análises clínicas e que levanta a suspeita do diagnóstico da LLC e de outras leucemias. Sendo assim, o hemograma é o ponto inicial de diagnóstico e quando o paciente já está em tratamento o laboratório também tem um papel fundamental na monitoração da doença.

Uma leucemia que não apresente sintomas, pode não necessitar de tratamento imediato em um paciente com LLC com um quadro apenas de linfocitose recomenda-se apenas a observação clínica do paciente sem o uso de medicamentos e o médico pode sugerir apenas vigilância.

Tem-se a intervenção apenas quando ocorre risco para o paciente. Quando o tratamento é necessário muitas vezes consegue-se controlar a doença e seus sintomas.

Na Leucemia Linfocítica Crônica e em outras leucemias o foco é o controle da doença e não a cura, uma vez que são doenças incuráveis por tratamento convencionais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVILA, F. F., SOARES, M. B. O., SILVA, S. R. Perfil hematológico e bioquímico sérico de pacientes submetidas à quimioterapia antineoplásica. *Revista de Enfermagem e Atenção à Saúde*. v.2, n. 02. 2013.

ANAISSIE EJ, KONTOYIANNIS DP, OBRIEN S et al. Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. *Ann Intern Med* 1998;129(7):559-66.

BAIN, BARBARA J. – Células sanguíneas um guia prático, 1997 pag. 306-307

CHAUFFAILLE, MARIA de LOURDES L. F. Citogenética e biologia molecular em leucemia linfocítica crônica. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* 27 (4) • Dez 2005

DU MQ, LIU H, DISS TC, YE H, HAMOUDI RA, DUPIN N, *et al*/ Kaposi sarcoma-associated herpesvirus infects monotypic (IgM lambda) but polyclonal naive B cells in Castleman disease and associated lymphoproliferative disorders. *Blood*. 2001;97(7):2130-6.

FRAGA HEJ. Leucemia Linfocítica Crônica: uma breve revisão. [dissertação]. Universidade Federal de Santa Maria. Santa Maria – RS, 2006.

JUNIOR, A. M. Coleta de células progenitoras hemopoéticas de sangue periférico após administração de ciclofosfamida e fator estimulador de colônias de granulócitos (G-CSF): uma análise de 207 pacientes. 2008 Tese (Doutorado em Processos Imunes e Infeciosos). Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo. São Paulo, 2008.

LANASA, Mark C. Novel insights into the biology of CLL. *Hematology*. Durham, v.2010, n.1, p.70-76. 2010. Disponível em: . Acesso em: 17 novembro 2015.

MATUTES, Estella; et al.. Diagnostic issues in chronic lymphocytic leukaemia (CLL). *Best Practice & Research Clinical Hematology*. v.23, p.3-20, mar. 2010. Disponível em: Acesso em: 17 novembro 2015

MAURO FR, FOA R, CERRETTI R et al. Autoimmune hemolytic anemia in chronic lymphocytic leukemia: clinical, therapeutic and prognostic features. *Blood* 2000; 95(9):2.786-92.

MONTSERRAT, E.; MORENO, C. Chronic lymphocytic leukaemia: a short overview. *Annals of Oncology*. Barcelona, v.19, p.320-325, sept. 2008. Disponível em <http://annonc.oxfordjournals.org/content/19/suppl_7/vii320.full.pdf>. Acesso em: 17 novembro 2015.

NAOUM, FLAVIO AUGUSTO – NAOUM, PAULO CESAR – Hematologia Laboratorial Leucocitos, São Jose Rio Preto- SP -2010. Pag 106,107,108

RAI KR, Stilgenbauer S. Pathophysiology and genetic features of chronic lymphocytic leukemia. *Up To Date* 2016;10(3):363-371.

RIBEIRO, A. A. R. Leucemia Linfocítica Crônica-B – A importância da deleção 17p. Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar. Universidade do Porto. 13 pp. 2010.

ROSSI D, GAIDANO G. The clinical implications of gene mutations in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Cancer* 2016;114(8):849–54.

SCARFO L, FERRERI AJM, GHIA P. Chronic lymphocytic leukaemia. *Oncol Hematol.* 2016;104:169–82.

TOBIAS, A. H. G. et al. Indicadores de qualidade dos exames citopatológicos da rede pública em Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Ginecologia Obstetrícia.* [online], vol.38, n.2 [cited 2017-09-28], pp.65-70. 2016.

VASCONCELOS, Y. Marcadores de prognóstico na leucemia linfocítica crônica. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia* [online]. vol.27, n.4, pp.253-256. 2005.

VENDRAMINI, R. C. R. et al. Segurança do Paciente em cirurgia oncológica: experiência do instituto do câncer do estado de São Paulo. *Revista da Escola de Enfermagem USP.* São Paulo. p. 827-832. 2010.