

ACADEMIA DE CIÊNCIA E TÉCNOLOGIA DE SÃO JOSÉ DO  
RIO PRETO/SP

HEMATOLOGIA E BANCO DE SANGUE – 13ª TURMA

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL DA LEUCEMIA LINFÓIDE  
AGUDA

BIANCA FERRARI DE MORAIS

SÃO JOSE DO RIO PRETO/SP

2022

## **Sumário**

RESUMO .....	3
ABSTRACT .....	4
INTRODUÇÃO .....	5
OBJETIVO .....	6
DISCUSSÃO .....	6
EXAMES LABORATORIAIS .....	9
CONCLUSÃO .....	14
REFERÊNCIAS.....	15

## RESUMO

A Leucemia linfóide aguda (LLA) é caracterizada pela rápida produção maligna de células imaturas indiferenciadas (blastos), essas células tem capacidade de multiplicar, mas não de maturar até sua forma funcional. O diagnóstico baseia-se no hemograma, associado ao mielograma e a imunofenotipagem, este último mostra se a linhagem linfocítica afetado é do tipo B ou T. O hemograma é o exame que direciona o médico para os demais exames e sua conduta com o paciente, podendo este 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. O mielograma é o diagnóstico definitivo, mostrando mais de 25% de blastos. A Medula apresenta-se hiper celular com substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas e megacariócitos diminuídos ou ausentes. A 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. A citogenética avalia as normalidades cromossômicas das células blásticas auxiliando na classificação da doença e no planejamento do tratamento. Conclui-se que os achados laboratoriais têm valor prognóstico e possibilitam a estratificação dos pacientes em diferentes grupos de risco, tendo importância fundamental para determinar e estabelecer o tratamento adequado, apresenta evolução rápida e sintomatologia inespecífica, o que dificulta o diagnóstico.

**Palavras-chaves:** Leucemia Linfóide Aguda; LLA; leucemia; imunofenotipagem.

## **ABSTRACT**

Acute lymphoid leukemia (ALL) is characterized by the rapid malignant production of undifferentiated immature cells (blasts), these cells have the capacity to multiply, but not to mature until their functional form. The diagnosis is based on the blood count, associated with the myelogram and immunophenotyping, the latter showing whether the affected lymphocytic lineage is type B or T. The blood count is the test that directs the doctor to other tests and his / her conduct with the patient, which may reveal normocytic and normochromic anemia and thrombocytopenia, the leukocyte count may occasionally be high, more often it is normal or decreased, blasts. The myelogram is the definitive diagnosis, showing more than 25% of blasts. The medulla is hypercellular with replacement of the adipose spaces and normal medullary elements by reduced or absent leukemic cells and megakaryocytes. Immunophenotyping detects and quantifies cell surface, cytoplasmic and nuclear antigens, accurately detecting the cell line (B or T) and the level of differentiation in which the leukemic process is found. Cytogenetics assesses the chromosomal normalities of blast cells, assisting in disease classification and treatment planning. It is concluded that the laboratory findings have a prognostic value and enable the stratification of patients in different risk groups, having fundamental importance to determine and establish the appropriate treatment, it presents rapid evolution and nonspecific symptoms, which makes the diagnosis difficult.

**Keywords:** Acute Lymphoid Leukemia; ALL; leukemia; immunophenotyping.

## INTRODUÇÃO

A Leucemia linfóide aguda é uma proliferação celular não controlada, sem resposta a fatores reguladores da diferenciação celular, com invasão dos tecidos adjacentes e metástases para órgãos distantes, pela disseminação de células através da corrente sanguínea e linfática (LOPES, 2007)

Conseqüentemente as pessoas acometidas pela LLA são mais susceptíveis a anemias, infecções recorrentes e terem hematomas e sangramento com facilidade.

A LLA pode ser dividida em 3 tipos, dependendo da morfologia do linfoblasto liberado pela MO, essa diferenciação se dá de acordo com a classificação FAB (French–American-British), que foi criada para simplificar e universalizar o diagnóstico. São elas (Revista Abrale, 2017):

LLA1 - apresenta linfoblastos pequenos, dificuldade de visualização dos nucléolos e citoplasma escasso; (Revista Abrale, 2017).

LLA2 - linfoblastos maiores e irregulares, nucléolos bem visíveis e citoplasma abundante; (Revista Abrale, 2017).

LLA3 - Linfoblastos grandes bem definidos, presença de nucléolos, basofilia (corante básico) citoplasmática e vacúolos (Revista Abrale, 2017).

A maior parte dos casos ocorre em crianças, mais frequentes em meninos, entre 2 e 5 anos porém, adultos também são diagnosticados e são mais frequentes em pessoas de cor branca. Alguns dos sintomas mais comuns são exaustão, desânimo, perda de massa e febre, que também está presente em muitos casos. (Cavalcante; Rosa, 2017).

O diagnóstico inicial consiste no exame citomorfológico do sangue periférico e da medula óssea. O hemograma avalia a quantidade e a qualidade das células sanguíneas, geralmente a contagem dos leucócitos está ocasionalmente muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída. O diagnóstico é confirmado quando a microscopia revela 25% ou mais de células nucleadas da medula óssea são linfoblástica. (Dantas et al, 2015).

A utilização de técnicas de imunofenotipagem é essencial para o prognóstico e escolha da terapia mais adequada pois determina qual linhagem de células está sendo afetada (T ou B), assim como a idade, condições clínicas e, principalmente, a citogenética. (Henrique, 2017).

A citoquímica é um diagnóstico que consiste na aplicação de corantes bioquímicos nas células do sangue e medula óssea, para mostrar sua composição sem modificar sua morfologia. A citometria de fluxo e imunohistoquímico, é uma técnica usada para examinar as células da medula óssea, linfonodos e amostras de sangue. (Wyant; Alteri, 2018).

Alguns exames cromossômicos feitos são a citogenética, onde as células leucêmicas são analisadas para diagnosticar qualquer anormalidade. A hibridização fluorescente in situ (FISH) e reação em cadeia da polimerase (PCR), que pode ser utilizado para diagnosticar alterações específicas nos cromossomos. (Wyant; Alteri, 2018).

Possui bom prognóstico, com 95% de avanço completo em casos tratados com quimioterapia.

## **OBJETIVO**

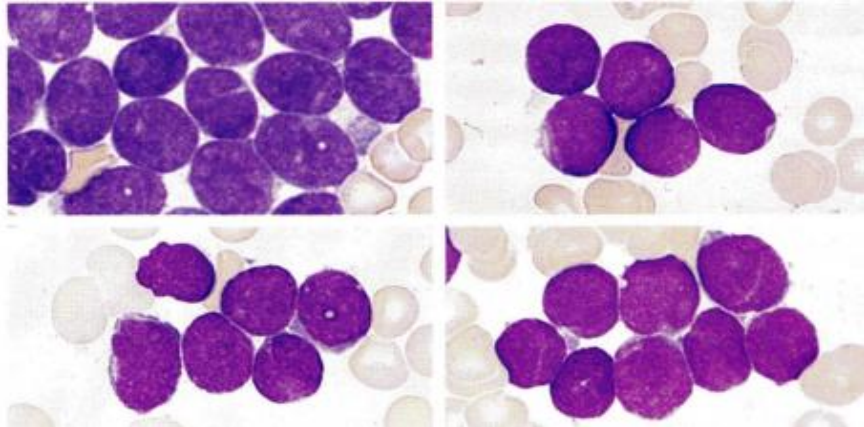
Com o objetivo de atrair atenção para o tema, o objetivo deste estudo foi avaliar o diagnóstico laboratorial da leucemia linfóide aguda. Foram avaliados artigos que abrangem os métodos de diagnóstico, e depois comparados entre si. Foram utilizados para seleção dos artigos a metodologia PRISMA aliada ao acrônimo PICO. Serão avaliados artigos que abrangerem os métodos de diagnóstico, e depois comparados entre si. Será utilizado para seleção dos artigos a metodologia PRISMA aliada ao acrônimo PICO, fundamentado em artigos e estudos disponibilizados nas bases de dados PUBMED, SCIELO, Google Scholar e Researchgate foi possível o levantamento de dados que permitiram a discussão.

## **DISCUSSÃO**

### **CLASSIFICAÇÃO FAB**

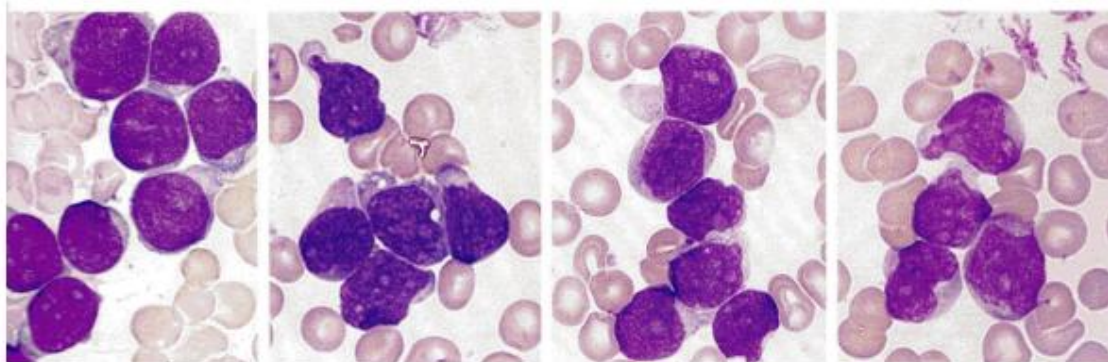
Um grupo francês-americano-britânico classificou a LLA em três subtipos, LLA-L1, LLA-L2 e LLA-L3, baseando-se exclusivamente na análise morfológica e citoquímica das células malignas, sendo assim, cada classificação ilustra um tipo de célula predominante na corrente sanguínea do paciente. Assim pode-se utilizar o tratamento mais adequado para cada tipo de leucemia. (FADEL,2010).

Na LLA-L1 há presença predominante de linfoblastos pequenos com núcleo bastante regular com nucléolo de difícil delimitação ou ausente e cromatina homogênea. Além disso, a relação núcleo/citoplasma é elevada, sendo que o citoplasma apresenta fraca basofilia e raras vacuolizações (MELO et al, 2015).



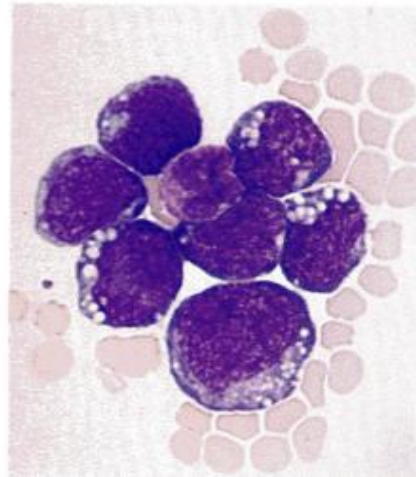
(FADEL,2010)

Na LLA -L2 há presença predominante de linfoblastos de tamanho médio à grande, com núcleo irregular, cromatina heterogênia e citoplasma abundante. Representa cerca de 70% dos casos, sendo o mais comum dos três tipos. (FADEL,2010)



(FADEL,2010)

Já na LLA- L3 há presença de linfoblastos de tamanho médio à grande, com citoplasma hiperbasófilo e presença acentuada de vacúolos. Representa cerca de 1-3% dos casos, esse subtipo apresenta imunofenótipo B (FADEL,2010)



(FADEL,2010)

**Tabela1:** Classificação morfológica (FAB) de Leucemia Linfóide Aguda

<b>Aspecto morfológico</b>	<b>LLA - L1</b>	<b>LLA - L2</b>	<b>LLA - L3</b>
Diâmetro celular	Prodominância de células pequenas e homogêneas	Grandes e heterogêneas	Grandes e homogêneas
Cromatina celular	Fina ou aglomerada	Fina	Fina
Forma do núcleo	Regular, pode apresentar fenda ou indetação	Irregular, podendo apresentar fenda ou indetação	Regular, redondo ou oval
Nucléolos celular	Indistinto ou não visível	Um ou mais por célula, grandes e proeminentes	Um ou mais por célula, grandes e proeminentes
Quantidade de citoplasma	Escassa	Moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligeira	Ligeira	Evidente
Vacúolos citoplasmáticos	Variáveis	Variáveis	Evidentes



## **EXAMES LABORATORIAIS**

### **1. HEMOGRAMA**

O hemograma é utilizado para analisar o número de glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas presentes em uma amostra de sangue retirada por punção, também quantifica a porcentagem de hemoglobina nos glóbulos vermelhos podendo revelar anemias normocíticas e normocrômicas e trombocitopenia, sendo o primeiro exame a ser realizado em pacientes com suspeita de doenças hematológicas. (ABRALE,2021).

Pacientes com LLA podem ter o número de glóbulos brancos alto, normal ou baixo, porém com presença de células imaturas, e um baixo número de glóbulos vermelhos e plaquetas, isso ocorre porque muitos linfoblastos estão sendo produzidos na medula óssea, região em que aglomeram-se, impedindo que as células sanguíneas saudáveis sejam formadas.

Os blastos são raros ou ausentes em pacientes leucopênicos, mas em casos de leucitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria. (DANIEL, 2016).

Nas crianças o hemograma é bastante heterogêneo, cujas diferenças a apresentação diagnóstica estão mais associadas aos aspectos imunofenotípicos (se B ou T) que morfológicos (L1 ou L2). Em geral, as LLA T apresentam maior contagem de leucócitos em média 93.000/ mm<sup>3</sup> que as LLA B em média de 11.700 /mm<sup>3</sup> (OLIVEIRA, 2015).

Mesmo quando o resultado de um hemograma sugere leucemia, o diagnóstico de LLA em geral somente é feito após a avaliação das células da medula óssea. (ABRALE,2021).

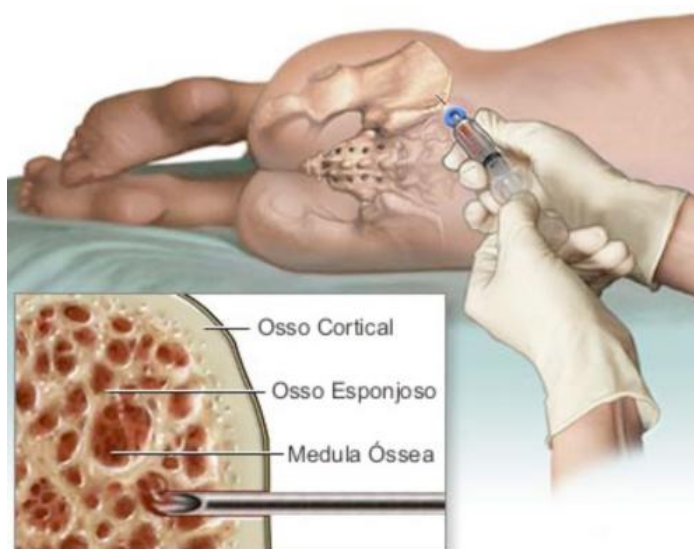
### **2. MIELOGRAMA**

O mielograma é o exame que avalia e quantifica os componentes da medula óssea. O exame é realizado sob anestesia local, onde o médico hematologista realiza uma punção feita no osso esterno, na região do quadril ou na tíbia, seguida de aspiração da medula óssea. Com esse material, é fácil

realizar lâminas por impressão para o exame citológico e enviá-lo ao patologista para a execução de cortes em parafina.

Em quase todos os pacientes com LLA, as descrições do mielograma incluem medula óssea hipercelular com intensa infiltração por linfoblastos (NAOUM, 2006) 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 (FARIAS et al , 2000).

Para classificar a leucemia como linfóide aguda, se faz necessário que o mielograma apresente quantidade de linfoblastos acima de 25%. Esse fato ocorre devido à substituição das células adiposas por células leucêmicas, notando uma hipercelularidade na medula óssea, sendo que em alguns casos pode ainda ocorrer fibrose medular. O aspirado da medula óssea (mielograma) pode ser submetido as reações de citoquímica, favorecendo a diferenciação dessas células (FADEL,2010).



(CENTRO DE HEMATOLOGIA DE SÃO PAULO)

### 3. CITOQUÍMICA

As provas de citoquímica favorecem a diferenciação entre as células de linhagem mielóide ou linfóide através de aplicação de corantes bioquímicos às células sanguíneas sem modificar sua morfologia. As células linfóides são caracterizadas pela presença de vacúolos após a coloração, além de apresentar uma atividade nuclear não característica (DANTAS, SILVA 2015).

Entre as colorações, as mais utilizadas são a Sudam Black B (SBB),

Mieloperoxidase (MPO), a reação de Ácido Periódico de Schiff (PAS), a Reação da Fosfatase ácida e Esterases inespecíficas. As duas primeiras colorações relacionam-se com a série granulocítica, sendo de extrema importância no diagnóstico de células da linhagem mielóide. Já a PAS é representante da linhagem linfóide (MOREIRA; BATISTA 2018).

A SBB é responsável pela coloração dos fosfolipídeos intracelulares, sendo específica para série mielóide acompanhando a MPO, que está presente nos grânulos, sendo fortemente positiva conforme a crescente do grau de maturação celular granulocítica. Essas colorações são úteis principalmente na diferenciação das linhagens mielocíticas e linfocíticas, uma vez que a linhagem linfocítica é negativa para ambas as colorações (DANTAS, SILVA 2015).

O PAS é responsável por corar o glicogênio intracelular, sendo fortemente positivo para linfoblastos nas LLA. Quando apresenta resultado negativo, correlaciona-se com LLA do tipo T, assim como a positividade na Fosfatase ácida após a Esterase inespecífica, podendo apresentar 75% de positividade na fosfatase ácida. Os mieloblastos geralmente são negativos para PAS e quando apresenta positividade, seu grau de coloração é inferior a coloração apresentada pelos linfoblastos (FADEL,2010).

#### **4. IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO**

A imunofenotipagem das doenças malignas do sistema hematopoiético fundamenta-se na investigação da presença ou ausência de antígenos encontrados na superfície ou no citoplasma celular, visa à determinação do grau de diferenciação celular (imatura ou madura), a expressão antigênica aberrante nas populações celulares malignas e a presença ou não de clonalidade (apenas nas células da linhagem linfóide B) (DANTAS, SILVA 2015).

A citometria de fluxo por sua vez tem a característica de, através de um feixe de laser, direcionar as células que estão preparadas em certa suspensão a se posicionarem em apenas um fluxo unidirecional, no qual passam uma a uma de modo que o feixe de laser atinja todas as células. Este tipo de técnica permite a visualização multifatorial, além da quantificação celular quanto à morfologia e peso molecular. A associação das técnicas permite a criação de

uma técnica mais sensível e específica com a finalidade de melhorar a conduta terapêutica através de um diagnóstico mais confiável. Os principais antígenos expressos pelos linfócitos T são o CD2, CD3 e CD33, enquanto nos linfócitos B os mais comuns são CD10, CD19, CD22, CD79, possibilitando assim a diferenciação entre os dois, uma vez que as expressões destes antígenos são específicas para as linhagens (MOREIRA; BATISTA 2018).

## **5. CITOGENÉTICA**

Na LLA, estima-se que apenas 5% dos casos estejam relacionadas à predisposição genética, entretanto o conhecimento do fator genético é extremamente relevante, levantando informações sobre a malignidade, bem como o prognóstico do paciente acometido (FADEL,2010).

A formação de células leucêmicas está associada a alterações na funcionalidade dos genes responsáveis pelo controle do ciclo celular, que devido a alterações em seu gene não exercem corretamente a função, abrindo espaço para a ativação de oncogênese, responsáveis então pela formação desordenada de células leucêmicas (DANTAS,2015).

Pacientes acometidos por LLA, que apresentam alterações genéticas, podem possuir inversões, deleções ou translocações em seu cariótipo, como alterações numéricas ou estruturais no cromossomo. A presença de polimorfismos genéticos também interfere, por exemplo, no tratamento dos pacientes pois se, presentes em genes que codifiquem enzimas metabolizadoras, transportadoras, receptoras ou alvos farmacológicos, induz a uma interferência e diminuição no efeito do fármaco quimioterápico. Portanto, o conhecimento das alterações genéticas também se torna importante (FADEL,2010).

Para isso, utiliza-se a técnica de PCR (reação em cadeia da polimerase), que utiliza material biológico para isolar e purificar o DNA. Este, primeiramente é quantificado em espectrofotômetro, que realiza também a absorvância do ácido nucleico, ou seja, verifica a pureza do material a partir da relação DNA/proteína. Posteriormente se inicia a PCR, que pode utilizar diversas técnicas distintas, como por exemplo, o Multiplex, que permite a detecção simultânea de dois ou mais polimorfismos a partir da utilização de

enzimas de restrição. Para esta e todas as outras técnicas, se faz necessária à utilização de grupos controles, a fim de prevenir diagnósticos errôneos (MOREIRA; BATISTA 2018).

A visualização do resultado ocorre posteriormente a partir da corrida pela eletroforese do material genético em gel de agarose ou gel de acrilamida, identificando presença ou ausência de alterações genéticas a partir das quantidades de pares de bases evidenciadas (MOREIRA; BATISTA 2018).

## **CONCLUSÃO**

Com base nesta revisão de literatura, diversos exames devem ser realizados para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda, sendo o hemograma, o que revela anemias normocrômica e normocítica, e trombocitopenia; gerando a suspeita da doença e guiando, a outros exames como mais específicos como o mielograma, a citoquímica, imunofenotipagem e citogenética.

Conclui-se que a doença apresenta evolução rápida e sintomatologia inespecífica, o que dificulta o diagnóstico, sua manifestação clínica inicial pode ser facilmente confundida com outras patologias mais simples.

Contudo, observamos que as formas diagnósticas se apresentam de grande importância para diferenciação da doença referente à linhagem afetada (mielóide ou linfóide), bem como em aguda ou crônica, a fim de destacar o prognóstico do paciente, e selecionar melhores formas de tratamento, com maiores chances de possibilitar o controle da doença, evitando também chances de reaparecer.

## REFERÊNCIAS

ABRALE; **Diagnóstico Leucemia Linfóide Aguda** – LLA. Disponível em: < <https://www.abrale.org.br/doencas/leucemia/lla/diagnostico/>> Acesso em: 18/03/2021.

CAVALCANTE, S. Matheus; ROSA, S. S. Isabelly. **Leucemia Linfóide Aguda e seus principais conceitos**. Revista Científica da Faculdade de Educação e Meio Ambiente. Ariquemes, v. 8, n. 2, jul./dez., 2017.

DANTAS, G. K. S. et al. **Diagnostico Diferencial da Leucemia Linfóide Aguda em pacientes infanto-juvenil**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, v.13 n.2, 2015.

DE SOUZA, Vinícius Gonçalves et al. **Terapia genética com células CAR-T para leucemia linfocítica aguda**. Brazilian Journal of Health Review, v. 3, n. 3, p. 5982-5985, 2020.

DIAS, Paula Basso et al. **Apresentação Atípica de Leucemia Linfóide Aguda em Criança: Relato de Caso**. Revista Brasileira de Cancerologia, v. 65, n. 4, 2019.

FARIAS, Mariela Granero; CASTRO, Simone Martins de. **Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas**. Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial, v. 40, p. 91-98, 2004.

HENRIQUE, B. Cristiane. **Diagnóstico laboratorial da leucemia linfóide aguda**. Biomédica e aluna do curso de Pós-Graduação Lato-Sensu em Hematologia Clínica e Laboratorial da Academia de Ciência e Tecnologia e Instituto Naoum de Hematologia, c2017.

IKEUTI, Patrícia S.; BORIM, Leila NB; LUPORINI, Rafael L. **Dor óssea e sua relação na apresentação inicial da leucemia linfóide aguda**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 28, p. 45-48, 2006.

LINFOBLÁSTICA, I. -LEUCEMIA. **Leucemias agudas na infância e adolescência.** Revista Brasileira de Cancerologia, v. 47, n. 3, p. 245-57, 2001.

MARQUES, Patrícia. **Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas,** 9º Congresso de Pós-Graduação - ambiente e sustentabilidade, 08 a 10 de nov. de 2011.

MARTINS, S. L. R.; FALCÃO, Roberto Passetto. **A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda.** Revista da Associação Médica Brasileira, v. 46, p. 57-62, 2000.

MOREIRA, Larissa Aparecida; BATISTA, Sílvia Caroline. **Diagnóstico de leucemias linfóides agudas: uma revisão,** Revista Saúde em Foco – Edição nº 10 – Ano: 2018.

MOTA, Tatiane. **Leucemia Linfóide Aguda tem cura.** Revista Abrale Online, 17 de mai. de 2017.

NEHMY, Rosa Maria Quadros et al. **A perspectiva dos pais sobre a obtenção do diagnóstico de leucemia linfóide aguda em crianças e adolescentes: uma experiência no Brasil.** Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil, v. 11, p. 293-299, 2011.

PEDROSA, Francisco; LINS, Mecneide. **Leucemia linfóide aguda: uma doença curável.** Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil, v. 2, p. 63-68, 2002.

PEREIRA, Waldir Veiga. **Aspectos epidemiológicos, biotipologia e evolução do tratamento da leucemia linfocítica aguda na infância e adolescência no Rio Grande do Sul.** 2010. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.



TABAK, Daniel G. **Transplante de medula ósea em leucemia mielóide aguda**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 22, n. 1, p. 55-62, 2000.

VIZCAÍNO, Martha et al. **Guía de atención integral para la detección oportuna, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de leucemia linfóide aguda en niños, niñas y adolescentes**. Revista colombiana de cancerología, v. 20, n. 1, p. 17-27, 2016.

WYANT, Tracy; ALTERI, Rick. **Tests for Acute Lymphocytic Leukemia (ALL)**. American Cancer Society, out, 2018.