

**ATLAS CITOLÓGICO DE CONCLUSÃO DO CURSO DE
CITOLOGIA CLÍNICA E LABORATORIAL DA
ACADEMIA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
SÃO JOSÉ DO RIO PRETO – SP**

Tema Citológico: O Hemograma nas Leucemias Agudas

Autor: Ariele Segundo

Período do Curso: Julho de 2011 a Dezembro de 2012

Endereço para correspondência:

e-mail: arielesegundo@gmail.com

Fone: 17 – 3547 1115

1. Generalidades

As leucemias são entidades inicialmente identificadas em pacientes que apresentavam sangue cujo aspecto era “purulento” devido ao excesso de leucócitos. Após o advento da microscopia, houve o reconhecimento de que pacientes com leucemias agudas possuíam células imaturas no sangue, enquanto portadores de leucemias crônicas possuíam células mais maduras. Muito embora vários métodos de classificação tenham se tornado mais sofisticados, e a sobrevivência dos portadores de leucemias agudas ou crônicas tratados, em certos casos, possa ser relativamente equivalente, esses dois princípios continuam sendo úteis para a classificação das leucemias.

As leucemias agudas correspondem a um extenso grupo de neoplasias hematológicas, originadas com base na transformação maligna de uma célula-tronco hematopoiética, diferenciada para determinada linhagem (mielóide ou linfóide), e que a partir de então desenvolve duas características básicas: perda total ou parcial da capacidade de amadurecimento; e proliferação intensa e descontrolada. São divididas em leucemias mielóides ou linfóides, dependendo respectivamente do tipo de célula progenitora afetada. Em raros casos, quando a célula hematopoiética alterada é que perdeu sua capacidade de maturação for totalmente indiferenciada (célula-tronco pluripotente: CD3+ e negativa para quaisquer dos marcadores mielóides e linfóides específicos), a neoplasia é denominada *leucemia indiferenciada aguda*. Quando a célula afetada apresenta simultaneamente antígenos linfóides (B ou T) e mielóides, ou, linfóides B e T, caracteriza-se a *leucemia bifenotípica aguda*.

As leucemias agudas são definidas laboratorialmente quando o número de blastos na medula óssea for maior ou igual a 30% (de acordo com os conceitos e a classificação franco-americana-britânica – FAB) ou maior ou igual a 20% (de acordo com os conceitos e a classificação da Organização Mundial de Saúde –WHO). Esse conceito independe do número de blastos e da contagem global de leucócitos em sangue periférico. Quando os blastos são mielóides, tem-se uma leucemia mielóide aguda (LMA); quando linfóides, tem-se uma leucemia linfóide aguda (LLA). Para as LMA, os blastos podem ser precursores da linhagem granulocítica, mieloblastos; da linhagem monocítica, monoblastos; da linhagem eritrocítica, os blastos eritróides ou da linhagem plaquetária (megacariocítica), os megacarioblastos. Para a linhagem linfóide, os blastos podem ser B, T, ou mais raramente, NK. Caso os blastos expressem em sua superfície antígenos mielóides e linfóides simultaneamente, e satisfaçam a um sistema de pontuação (score acima de dois pontos), para ambas as linhagens, tem-se uma

leucemia bifenotípica aguda (BAL). Quando os blastos forem de tal modo imaturos que ainda não expressem nem antígenos linfóides nem mielóides, caracteriza-se uma leucemia aguda indiferenciada (AUL), de acordo com o grupo EGIL.

2. Leucemias Mielóides Agudas: fundamentos

As leucemias mielóides agudas correspondem a um grupo heterogêneo de doenças clonais que se caracteriza pelo aumento do número de blastos mielóides na medula óssea e no sangue periférico. A ocupação progressiva da medula pelos blastos impede a produção normal das células sanguíneas e leva a oligocitemia gradual (baixo número de eritrócitos), neutropenia e plaquetopenia. Portanto, é bastante comum se observarem os sinais de anemia, as infecções e os sangramentos (púrpuras) em pacientes com LMA. Em vários casos, o clone neoplásico pode ainda disseminar-se para outros tecidos como fígado e baço, ou, menos comumente, para a mucosa, a pele, os linfonodos ou o sistema nervoso central.

Foram classificadas inicialmente pelo grupo de franceses, americanos e britânicos (FAB), por meio de morfologia e citoquímica dos blastos na medula óssea, acrescida posteriormente de dados imunofenotípicos. Essa classificação morfológica ainda é muito útil na prática clínica e também serve de referência para todas as demais classificações. Subsequentemente, outras importantes classificações foram propostas: MIC (morfológica, imunológica e citogenética), em 1986 (para as LLA) e em 1988 (para as LMA); e EGIL, de 1995, com base em dados imunológicos (anticorpos monoclonais), a qual passou a definir as leucemias indiferenciadas agudas e as leucemias bifenotípicas agudas. Mais recentemente, com a inclusão das técnicas moleculares aliadas aos dados citogenéticos e com a preocupação em se criar uma classificação que também tivesse valor preditivo, um novo sistema de classificação foi proposto, em 1999, pela WHO.

3. O hemograma nas leucemias

O laudo de um hemograma de um leucêmico deverá incluir apenas o percentual de blastos (sem discrimina-los necessariamente como mieloblastos, monoblastos, linfoblastos etc.), mas com a descrição minuciosa de suas características morfológicas, monocítica (monoblastos), ou mielóide (mieloblastos). É oportuno saber que, apesar de raras, as leucemias bifenotípicas agudas (mielóides e linfóides), que de modo geral requerem tratamento mais agressivo que as leucemias estritamente mielóides agudas (e que não tenham nenhuma expressão linfóide),

podem, mesmo que de maneira pouco comum, apresentar blastos com bastão de Auer, ou blastos com alguns grânulos azurófilos, citoquímica positiva para peroxidase ou Sudan black, e ser antecipadamente interpretadas como mielóides puras. Vê-se, então, que o diagnóstico correto vai muito além do hemograma, necessitando obrigatoriamente do mielograma e da citoquímica, e, em muitos casos, da imunofenotipagem. Outro exemplo que pode comprometer a interpretação são os raros casos da LLA-B variantes granulares (com grânulos azurófilos grosseiros e que não se coram pela peroxidase na citoquímica) e das leucemias de linfócitos grandes e granulares com células de aparência blástica e com grânulos. Todos esses casos são questionavelmente diferenciados apenas pela imunofenotipagem.

A anemia é, em geral, do tipo normocítico-normocrômica com variado grau de anisocitose e poiquilocitose. A contagem de reticulócitos é caracteristicamente normal ou diminuída. Os eritroblastos podem ou não estar presentes. A plaquetopenia é um achado constante e está presente em mais de 90% dos casos, mas contagens abaixo de 50.000 plaq/mm³ só ocorrem em cerca de 50% dos casos e contagens abaixo de 20.000 plaq/mm³ em menos de 20% dos casos. A contagem de leucócitos ao diagnóstico varia dependendo do subtipo de leucemia e da idade do paciente. Em termos gerais, pode estar elevada (em cerca de 50 a 60% dos casos), normal (em cerca de 20 a 30% dos casos) ou diminuída (em cerca de 20 a 30% dos casos). Hiperleucocitoses (contagens acima de 100.000 leucócitos/mm³) correspondem a menos de 20,0% dos casos de leucemias agudas ao diagnóstico.

3.1 Os blastos nas Leucemias

Os mieloblastos são células de tamanho variado, moderada relação núcleo (N)/ citoplasma (C), núcleo com cromatina fina e delicada com nucléolo geralmente proeminente e em número bastante variável. Citoplasma com tonalidade levemente basofílica, sem grânulos (tipo I), ou com granulações azurófilas (subtipos II e III). Estruturas cristalinas de cor avermelhada e em forma de bastonete, os bastões de Auer são característicos dos mieloblastos e vistos principalmente nos subtipos M2, M3 e M4 de LMA. Foram classificados pelo grupo FAB em tipo I, II e III, e devem ser diferenciados dos promielócitos.

BLASTO TIPO I: variam de mieloblastos sem grânulos a células indistinguíveis, de vários tamanhos e que são inclassificáveis. São de tamanho e relação N/C variada. Os grânulos citoplasmáticos estão ausentes; usualmente possuem nucléolos proeminentes e um padrão de cromatina delicado. Não possuem bastões de Auer. Estão associados à parte da população de

blastos das LMA M1, raros blastos das M2 ou M4, sendo comuns e característicos nas LMAs M0, M6 precoces, M7, nas leucemias indiferenciadas e em parte dos casos de leucemias bifenóticas (Figuras 3.1. A e B).

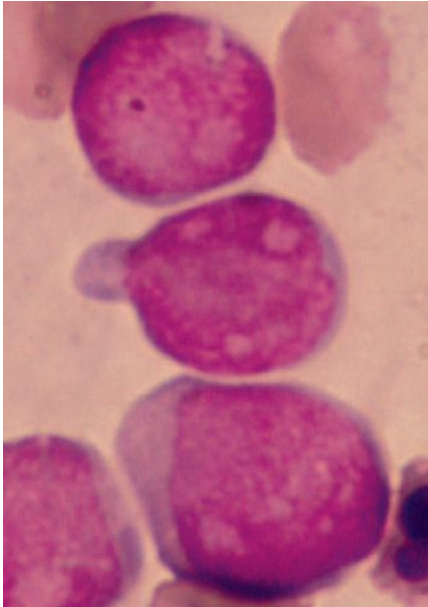


Fig. 3.1 A

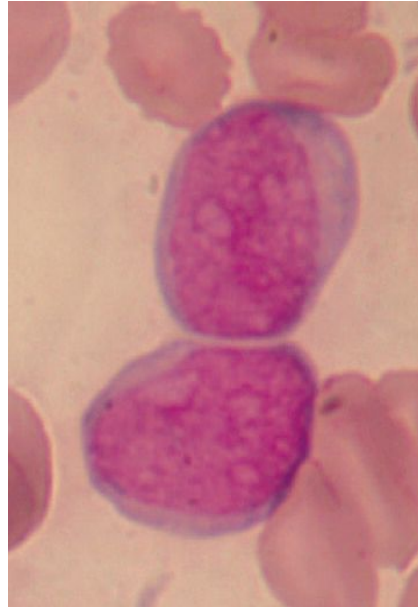


Fig. 3.1 B

MIELOBLASTOS TIPO II: são células que apresentam poucos grânulos primários (azurófilos), algumas das quais até lembram os blastos tipo I. Sua relação N/C é menor que nos blastos tipo I, mas o núcleo continua em uma posição central e ocasionalmente podem ser vistos bastonetes de Auer (Figuras 3.2 A e B).



Fig.3.2 A

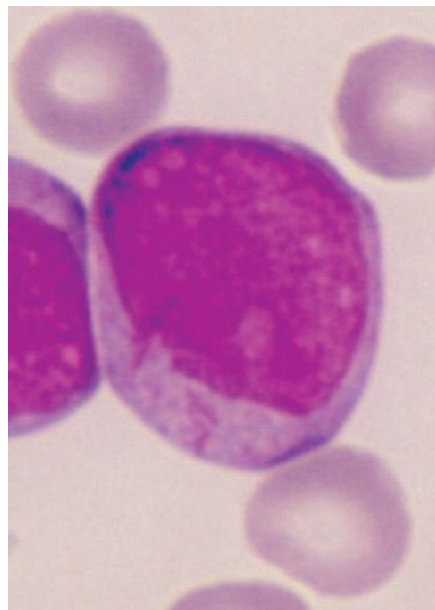


Fig. 3.2 B

MIELOBLASTOS TIPO III: caracterizam-se pela presença de numerosos grânulos azurófilos primários (acima de 20) sem zona de Golgi proeminente. Podem conter bastonetes de Auer (Figuras 3.3 A e B).

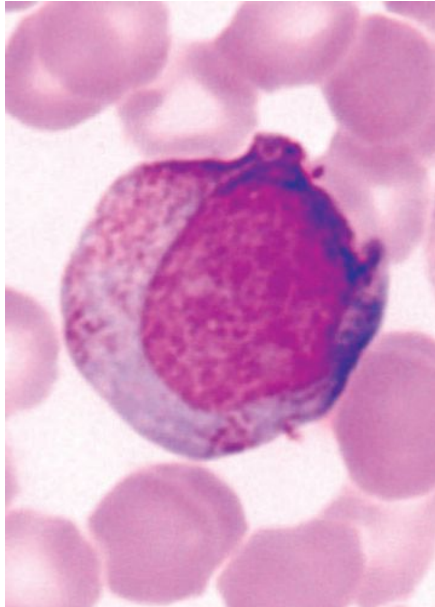


Fig. 3.3 A

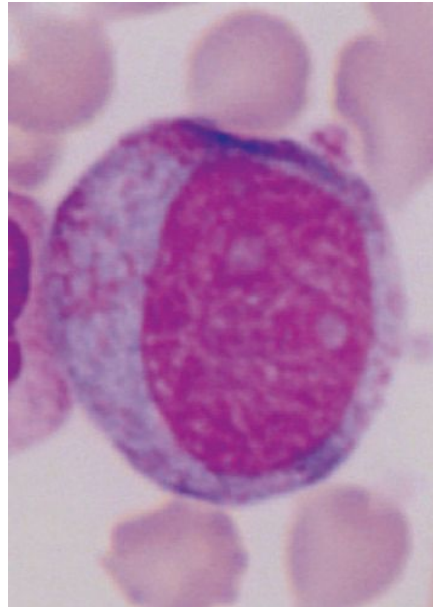


Fig. 3.3 B

PROMIELÓCITOS: são células maiores, com baixa relação N/C, cromatina bem mais condensada, geralmente ainda com nucléolos (ou sombras) e citoplasma com inúmeros grânulos azurófilos grosseiros. Possuem normalmente uma zona para-nuclear pálida (zona de Golgi). Seu núcleo em geral é mais excêntrico (Figuras 3.4 A e B). A deficiência displásica de grânulos primários (promielócitos hipogranulares das mielodisplasias) deve ser reconhecida e distinta dos blastos pelo padrão de cromatina, bem menos delicada, pela menor relação N/C e proeminente zona de Golgi dos promielócitos. Em casos das leucemias promielocíticas hipergranulares (Figura 3.5) ou variante hipogranular (Figura 3.6), eles são de características morfológicas anômalas.

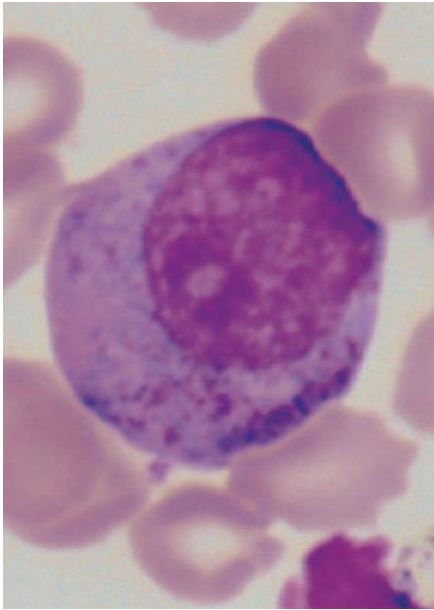


Fig. 3.4 A

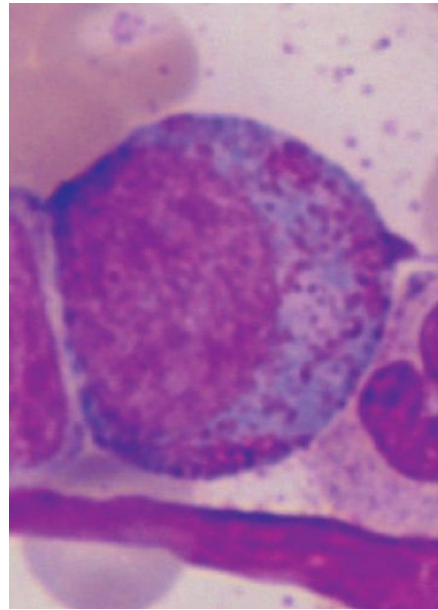


Fig. 3.4 B

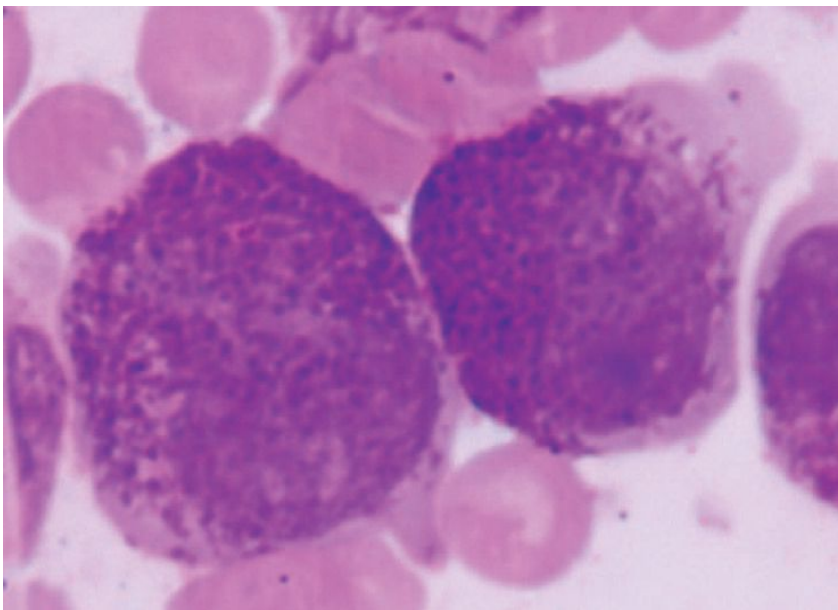


Fig. 3.5

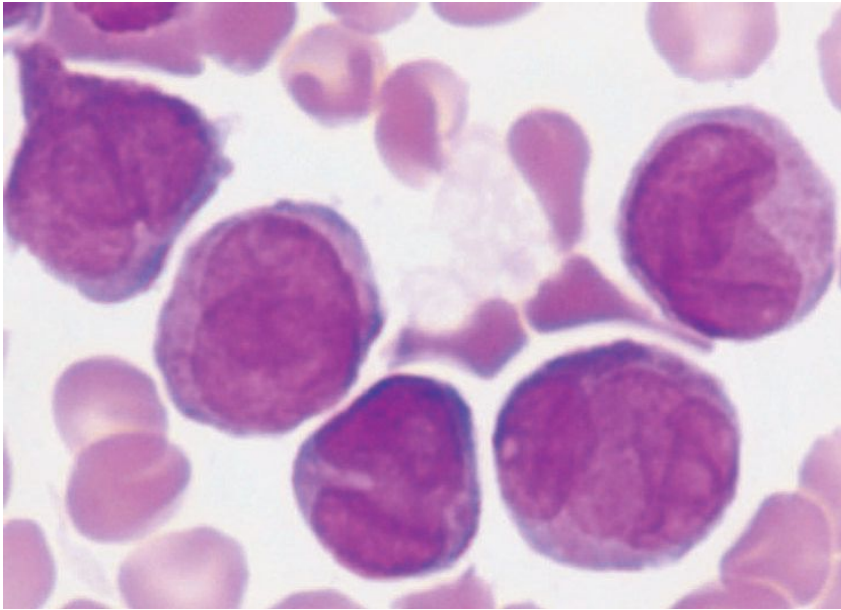


Fig. 3.6

Os *monoblastos* são blastos grandes com baixa relação N/C, cromatina bem delicada (rendilhada) e nucléolos facilmente visualizados (de aspecto vesicular). Citoplasma discretamente basofílico e acinzentado e com finos ou, por vezes, imperceptíveis grânulos azurófilos. Estão presentes nas LMA M5a e M5b e nas LMA M4 (Figuras 3.7 e 3.8).

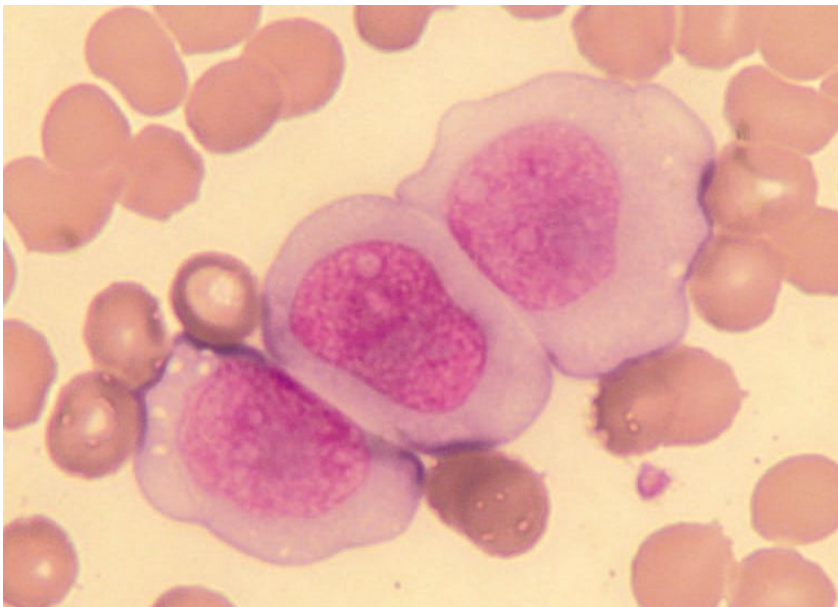


Fig.3.7 Monoblastos em LMA M5a

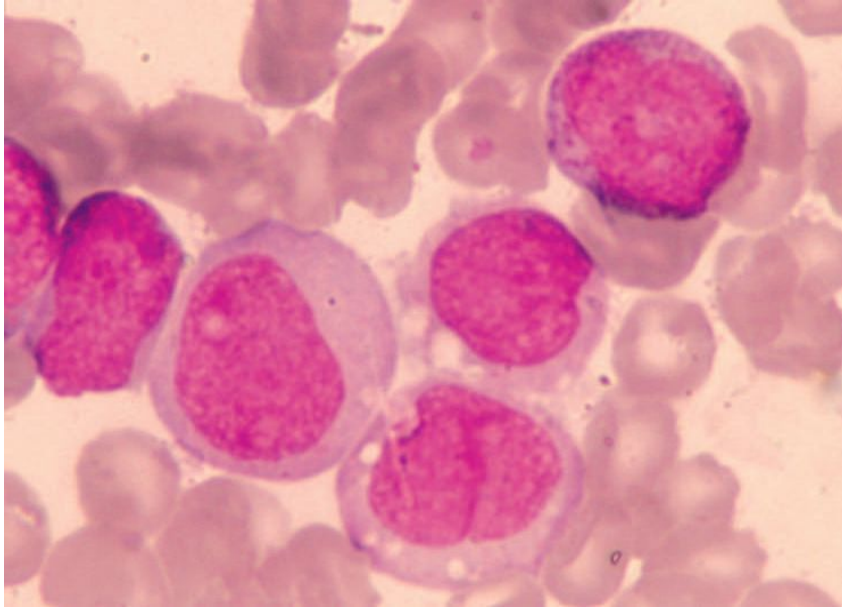


Fig. 3.8 Mieloblastos e Monoblastos em LMA subtipo M4.

Os *linfoblastos* são de tamanho, relação N/C, textura e contorno da cromatina, nucléolos, cor e aspecto de citoplasma bastante variados, que mudam de acordo com o subtipo morfológico de LLA (classificada em L1, L2 e L3, Figuras 3.9, 3.10 e 3.11 A e B).

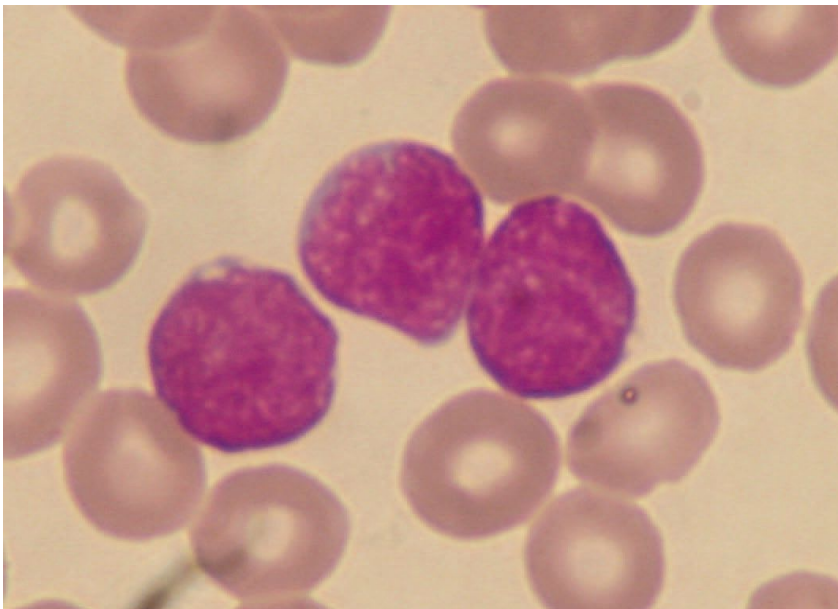


Fig. 3.9 Linfoblastos subtipo L1

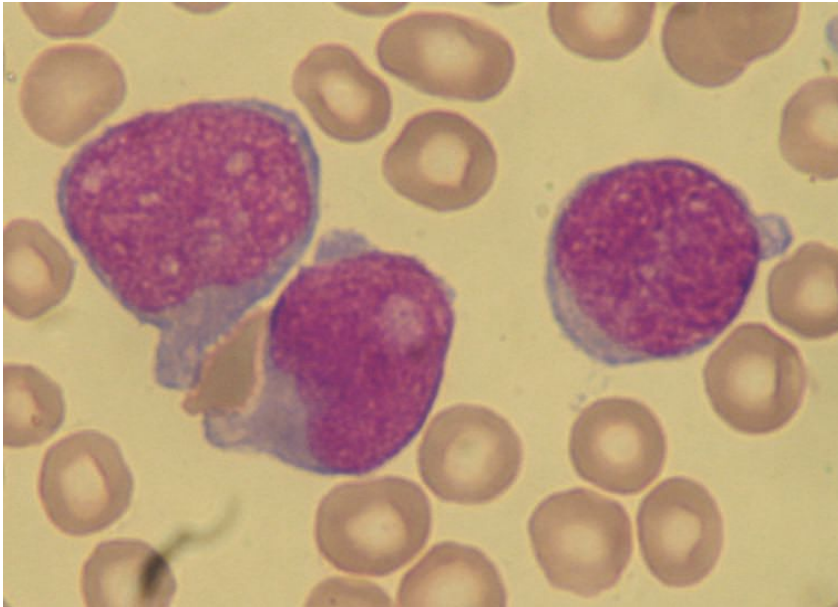


Fig. 3.10 Linfoblastos subtipo L2

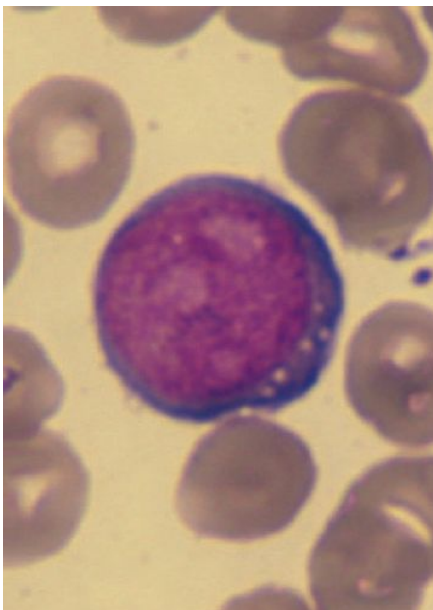


Fig. 3.11 A Linfoblastos subtipo L3

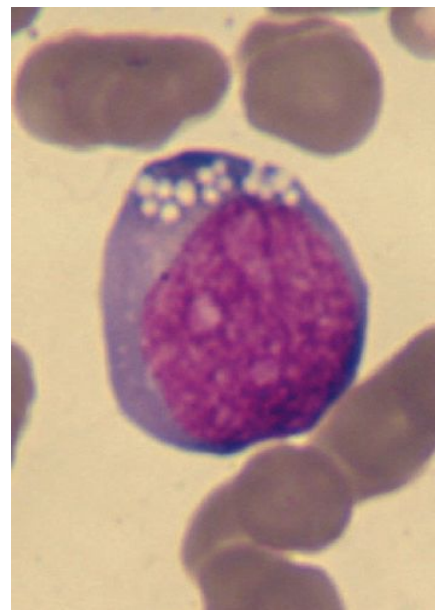


Fig. 3.11 B

3.1.1 Morfologia dos Blastos nas Leucemias agudas

O número de blastos no sangue periférico de um paciente com leucemia aguda é bem diversificado. Nas leucemias agudas, em geral, os blastos estão presentes, mas em números absoluto e relativo (percentual) variados. Quando o número de leucócitos está elevado, os blastos estão sempre presentes (e geralmente em grande proporção), mas, nas contagens de

leucócitos normais ou diminuídas, não há regra a ser definida para o percentual relativo de blastos. Não há correlação exata entre o número de leucócitos e o percentual de blastos no sangue. São inúmeras as variantes que podem influenciar essa correlação. As principais são o tipo e o subtipo de leucemia aguda, a idade do paciente, se a leucemia é primária ou é secundária a uma mielodisplasia, a uma mieloproliferação ou a algum tratamento quimioterápico. Portanto, determinado paciente poderia ter 2.000 leucócitos/mm³, com 90% de blastos, ao passo que um outro paciente poderia ter 6.000 leucócitos/mm³ com apenas 11% de blastos.

Quando um paciente com leucemia aguda e sem leucocitoses não apresenta blastos no sangue, diz-se que seu hemograma é aleucêmico.

A caracterização em hemograma com blastos mielóides (oriundos do clone neoplásico) e segmentados neutrófilos (oriundos de progênies remanescentes sadias da medula leucêmica), com ausência dos intermediários imaturos (bastonetes, metamielócitos, mielócitos e promielócitos), define o *hiato leucêmico mielóide*, achado bastante comum em hemogramas de pacientes com leucemias mielóides agudas sem maturação.

4. Marcadores importantes no hemograma das Leucemias Agudas

4.1 Blastos e Leucometria

Não há correlação direta tão estreita entre a contagem de leucócitos e a porcentagem de blastos no sangue. Desse modo, pode haver casos em que o número de leucócitos de determinado paciente seja menor que o de um outro e que o primeiro possua um percentual de blastos maior que o do segundo paciente. Entretanto, é claro que uma leucemia aguda com importante leucocitose invariavelmente terá elevado número de blastos no sangue periférico. Isoladamente, quanto maior o número de blastos (em valor absoluto, por mm³), maior o poder de expansão do clone leucêmico e, a princípio, pior o prognóstico, principalmente quando os níveis de hemoglobina não estão tão diminuídos.

A contagem de leucócitos ao diagnóstico em crianças com LLA continua sendo um parâmetro independente com significância na maioria dos estudos clínicos, e possui correlação linear com o risco de recidiva na medula e no sistema nervoso central. Contagens de leucócitos acima de 100.000/mm³ são geralmente aceitas como fator de baixo prognóstico, guardada, é claro, a influência de outros co-fatores, principalmente do cariótipo. Para as LLA em adultos, contagens de leucócitos menores que 30.000/mm³ são, em geral, de melhor prognóstico, ao

passo que contagens acima de 30.000/mm³ (principalmente quando > 50.000/mm³) para as LLA B e acima de 100.000/mm³ para as LLA T têm prognóstico mais reservado.

4.2 O hiato leucêmico nas leucemias agudas

É um achado morfológico no sangue periférico encontrado em alguns casos de leucemias agudas. É caracterizado pela presença de blastos e células maduras, sem os precursores intermediários. No hiato leucêmico mielóide, os blastos são mielóides (mieloblastos), descendentes do clone neoplásico, e as células maduras são segmentados neutrófilos saudáveis, descendentes de clones normais ainda remanescentes, sem a presença (ou apenas com a escassa presença) das células em estágios intermediários de maturação (promielócitos, mielócitos, metamielócitos e bastonetes).

O hiato leucêmico é definido pelo tipo de blastos e não, pelas células maduras presentes no sangue, posto que, para linfoblastos (nas LLA), o hiato leucêmico seria com os linfócitos maduros, e não com os segmentados neutrófilos presentes. Não é raro, em pacientes com leucemias agudas, com leucograma sem leucocitose e presença de blastos mielóides de caracteres morfológicos pouco elucidativos (sem grânulos azurófilos ou corpúsculos de Auer), junto com uma proporção razoável de linfócitos normais e alguns raros neutrófilos maduros, haver uma tendência errônea em achar que o hiato seria linfóide, pois os linfócitos estariam em maior proporção que os neutrófilos. O correto é pensar que, independente das células presentes, é o blasto que define o tipo de leucemia (mielóide ou linfóide) e seu hiato correspondente. Por outro lado, a presença de neutrófilos displásicos no sangue (elementos pelgeróides, hipogranulares ou com assincornismo núcleo/citoplasma) e blastos, em pacientes ao diagnóstico (diga-se, pacientes recém-diagnosticados e ainda sem tratamento quimioterápico), são indícios mais que suficientes da natureza mielóide da leucemia.

4.3 Nível de hemoglobina do hemograma como marcador do poder proliferativo (prognóstico) de leucemia aguda

Apesar de, em um raciocínio imediato, se parecer pouco lógico, é verdade que, quanto menor o nível de Hb de um paciente com leucemia aguda ao diagnóstico, melhor o prognóstico para esse paciente. Levando em conta a cinética eritrocitária (um eritrócito, após ser formado na medula, vive cerca de 120 dias na circulação- cerca de 4 meses), verifica-se que esse raciocínio é sensato e verdadeiro. Por exemplo: uma leucemia aguda (ao diagnóstico), cujo

hemograma apresente maiores níveis de Hb que o de uma outra leucemia aguda, indica que o clone leucêmico da primeira é tão mais agressivo (e se instalou de modo bem mais rápido no sangue) que sequer deu tempo para haver diminuição dos níveis de hemoglobina quando comparados aos casos em que o clone neoplásico é mais lento até sair da medula para invadir o sangue, dando tempo para os eritrócitos circulantes (formados antes da leucemia) irem morrendo naturalmente ao final dos seus 120 dias e levarem à queda progressiva dos níveis de hemoglobina. Portanto, o segundo caso descrito é bem menos agressivo que o primeiro e, a princípio, de melhor prognóstico.

4.4 Plaquetas *versus* leucemias agudas

O raciocínio dos níveis de hemoglobina (antes referido) não é válido para as contagens de plaquetas em relação ao poder proliferativo das leucemias agudas, posto que as plaquetas vivem por apenas 8 a 10 dias na circulação. A princípio, quanto menor a contagem de plaquetas no sangue de um paciente com leucemia aguda ao diagnóstico, maior o poder proliferativo do clone leucêmico. Por outro lado, há de se ressaltar que alguns subtipos de leucemias agudas da linhagem plaquetária, em geral de mau prognóstico, podem apresentar plaquetoses.

4.5 Critérios morfológicos de resposta a tratamento das LMA

Todos os critérios morfológicos de remissão completa para as LMA dependem da avaliação da medula, que deverá ter menos de 5% de blastos após a contagem de no mínimo 200 células nucleadas, sem que nenhum deles possua corpos de Auer, e sem persistência de qualquer doença extra medular. No sangue periférico, os parâmetros utilizados são a contagem de neutrófilos $> 1.000/\text{mm}^3$ e a contagem de plaquetas $> 100.000/\text{mm}^3$. A remissão parcial das LMA é caracterizada quando, apesar da contagem de neutrófilos e plaquetas no sangue, estiverem acima de $1.000/\text{mm}^3$ e $100.000/\text{mm}^3$, respectivamente, e houver de 5 a 25% de blastos na medula, ou quando, mesmo que o número de blastos esteja abaixo de 5%, sejam observados corpos de Auer.

5. Leucemias linfóides agudas: fundamentos

As leucemias linfóides agudas (LLA) correspondem a um grupo heterogêneo de doenças clonais que se caracteriza por um crescimento desregulado de células linfóides imaturas e não-funcionais, os linfoblastos, na medula óssea e no sangue periférico, de acordo com uma alteração genética em uma célula progenitora linfóide que perdeu sua capacidade de amadurecimento.

Os linfoblastos do clone leucêmico expandem-se e ocupam gradualmente a medula óssea e o sangue periférico, podendo disseminar-se para outros tecidos. Mais de 80% dos pacientes com LLA apresentam linfadenopatia (conseqüente da migração dos blastos para os linfonodos); cerca de 75%, hepatomegalia e/ou hepatoesplenomegalia. Alguns outros órgãos como o córtex renal, pulmões, coração, olhos, e trato gastrointestinal, também podem ser infiltrados. O envolvimento da pele está geralmente associado a LLA tipo B. Envolvimento testicular é bem mais comum em crianças que em adultos. Cerca de 10% das LLA em adultos podem envolver o SNC. Assim como as LMA, a ocupação da medula óssea pelos linfoblastos também leva à oligocitemia gradual, à neutropenia e à plaquetopenia em sangue periférico. Desse modo, também são comuns os quadros de anemia, infecções e sangramentos (púrpuras).

A heterogeneidade das LLA ainda é refletida por diferenças na morfologia dos blastos leucêmicos, pela variação em sua apresentação clínica na resposta ao tratamento que está bastante associado à idade.

6. Classificação morfológica para as LLA

De acordo com os critérios FAB, são classificados nos subtipos L1, L2 e L3. Apenas o subtipo morfológico L3 produz o imunofenótipo (as L3 são constituídas por blastos tipo B maduros). A caracterização de uma LLA nos subtipos L1 ou L2 não certifica o subtipo de linhagem afetada, se de células B ou T, apesar de cerca de 70% das LLA L1 em crianças serem de células B. Como o tratamento dessas entidades está condicionado à linhagem, mas não ao aspecto morfológico, é bem mais importante dividi-las em LLA de células B e LLA de células T. Portanto, é indispensável fazer a imunofenotipagem em todos os pacientes com suspeitas de LLA. A caracterização de LLA em L1 ou L2, por exemplo, mesmo feita pelo mais experiente dos morfologistas, é de pequeno valor no tratamento do paciente. A análise citogenética e molecular é indispensável para implicações prognósticas.

As LLA L3 correspondem a menos de 3% das LLA em crianças e a menos de 5% em adultos. Imunologicamente, os blastos de L3 possuem expressão de cadeia pesada de imunoglobulina de superfície e monoclonalidade para cadeia leve kappa ou lambda, ou seja, LLA estágio B-IV. Raros casos podem demonstrar imunofenótipo de LLA. Há relatos de casos com morfologia típica de LLA-L3 de linhagem T ou linhagem híbrida T e B (bifenotípica). Há descrição de casos com morfologia L3 e cariótipo característico t, porém sem imunoglobulina de superfície e cadeias leves kappa ou lambda (compatível com imunofenótipo de LLA de célula B precursora), o que demonstra a importância e a necessidade de que mesmo uma morfologia tão característica (como a das L3 requer uma avaliação sob critérios de imunofenotipagem e análise cariotípica).

6.1 Variantes Morfológicas das LLA

LLA variante granular: morfologia equivalente às LLA L2, mas com grânulos azurófilos grosseiros e que são negativos para peroxidase. Alguns desses casos são reportados em crianças com síndrome de Down, estão associados ao cromossomo Filadélfia (Ph+), correspondente a t, e têm mau prognóstico.

LLA com aspectos de aplasia: raros casos de LLA apresentam-se com pancitopenia e medula hipoplásica. Os linfoblastos podem estar inicialmente ausentes no sangue. Em algumas semanas, a medula torna-se hiperplásica e o sangue, eminentemente, leucêmico.

LLA com eosinofilia: raros casos de LLA cursam com eosinofilia, que desaparece à remissão, mas pode retornar em casos de recidiva.

6.2 Mudanças Morfológicas nas LLA em tratamento ou em recidiva

Alguns casos de LLA L1 podem recidivar com morfologia compatível com L2, mas a recíproca é bem mais rara. Há descrição de casos de pacientes que desenvolveram LMA secundária a tratamento para LLA, provavelmente como resultado do efeito mutagênico dos quimioterápicos em progenitores mielóides sadios (inibidores da topoisomerase II, mais frequentemente provocam LMA tipo M4 ou M5).

Referência:

OLIVEIRA, Raimundo Antônio Gomes. **Hemograma: como fazer e interpretar.** 1^a reimpressão. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2007.