

INTRODUÇÃO

As células dendríticas são encontradas, por exemplo, na pele e mucosa e possuem um papel fundamental no processo na vigilância imunológica, pois são especializadas em realizar fagocitose, degradação e apresentação de antígenos ao Complexo de Histocompatibilidade (MHC) de classe I e II e, mais tarde, já nos linfonodos, aos linfócitos T, formando assim a imunidade adaptativa dos indivíduos.

Essas células podem sofrer um processo de proliferação clonal de seus precursores, chamado de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (BPDCN), um raro e agressivo subtipo de leucemia aguda.

A BPDCN manifesta-se com lesões cutâneas com ou sem envolvimento da medula óssea, tem etiologia desconhecida, apresentação e curso clínico heterogêneos e normalmente atinge a faixa etária de 53-68 anos, sendo a relação homens/mulheres de 3/1.

O tratamento deve ser por meio de protocolos agressivos de quimioterapia, inclusive intratecal para profilaxia de SNC, e consolidado com transplante de medula óssea (TMO) alogênico imediatamente após a remissão. Na maioria das vezes, quando surge um paciente com BPDCN em laboratório clínico, o hemograma apresenta alterações de parâmetro e a diferencial de leucócitos geralmente cursa com monocitose importante, a qual deve ser investigada por microscopia. Já a citometria de fluxo da medula óssea, que é uma das etapas para definição do diagnóstico, apresenta o seguinte imunofenótipo: **CD123, CD4+, CD56+, HLA-DR+, CD3-, CD13-, CD33-, CD19-**.

A identificação morfológica em lâminas de esfregaço sanguíneo é um grande desafio, uma vez que, por terem origem monocítica, as células dendríticas blásticas apresentam-se com certo pleomorfismo e, por vezes, com características plasmocitoides, o que desperta dúvida quanto a sua linhagem. Assim, este estudo de caso busca demonstrar as etapas dessa investigação laboratorial, até o diagnóstico final e definição de tratamento.

OBJETIVO

Relatar o caso clínico com o objetivo de:

- Definir critérios de revisão de lâminas;
- Organizar as etapas de análise laboratorial;
- Otimizar o tempo entre a suspeita e o diagnóstico;
- Demonstrar dados e imagens que podem ajudar a direcionar o diagnóstico através da morfologia celular.

METODOLOGIA

Estudo de caso realizado com base em:

- Levantamento de prontuário, correlação de dados clínicos;
- Análise de hemograma por automação realizada no equipamento DxH 800 (UniCel DxH 800), analisador hematológico automático Beckman Coulter, que realiza contagens sanguíneas completas (CBC), diferenciais de leucócitos (incluindo 6 partes);
- Revisão de lâmina com monocitose de 53% detectada por automação, esfregaço confeccionado manualmente e corado e corado em corador automático pela

ESTUDO DE CASO

coloração May-Grünwald-Giemsa;

- Definição das alterações morfológicas e de parâmetro sugestivas de leucemia aguda, realizada por especialista devidamente treinado e capacitado para tarefa;
- Discussão dos achados entre a equipe técnica e biomédica do laboratório de análise clínica da instituição;
- Comunicação de resultado crítico à clínica médica (presença de blastos), conforme protocolo da JCI (Joint Commission International), acreditadora da instituição;
- Encaminhamento do paciente para a especialidade de hematologia do hospital e internação do mesmo para tratamento de suporte até a definição do diagnóstico;
- Realização de estudo medular com imunofenotipagem, mielograma e cariótico, sendo esta etapa realizada por laboratório de apoio especializado fora da instituição.

DESCRIÇÃO DO CASO CLÍNICO

Paciente de 74 anos portador de insuficiência venosa crônica e sedentário, deu entrada no PS com relato de que, há aproximadamente uma semana, vem evoluindo com dispneia aos esforços moderados, como ao subir um lance de escada. Nega dor torácica, vômitos, diaforese, sintomas respiratórios, tosse, febre e outros sintomas associados. Nega alergias.

Realizada revisão em lâmina do hemograma por microscopia devido à leucocitose e alterações de série vermelha e plaquetária.

Ao realizar a revisão, foram visualizados blastos com certo pleomorfismo, o que dificultou sugerir a linhagem dos mesmos. O quantitativo de blastos foi comunicado e registrado como resultado crítico, levando o paciente à internação hospitalar para investigação da equipe de hematologia e laboratório de análise clínica. Conforme protocolo interno da instituição, foi realizado e enviado ao laboratório de apoio o estudo medular para definição diagnóstica e terapêutica.

Resultado do hemograma de entrada do paciente no pronto atendimento:

ERITROGRAMA		Valor de referência:
Hemácias.....	2,11 milhões/mm	4,5 a 5,5 milhões/mm ³
Hemoglobina.....	7,1 g/dL	13,0 a 17,0 g/dL
Hematócrito.....	22,8%	40,0 a 50,0 %
MCV.....	108,1 fL	83,0 a 101,0 fL
MCH.....	33,8 pg	27,0 a 32,0 pg
MCHC.....	31,3 g/dL	31,5 a 34,5 g/dL
RDW.....	25,3%	11,6 a 14,0 %

LEUCOGRAMA		Valor de referência:
Leucócitos.....	93.590 /mm ³	4.000 a 10.000 / mm ³

DIFERENCIAL DE LEUCÓCITOS		Valor de referência:
VL. RELATIVO	VL. ABSOLUTO	
Blastos: 84%	78.616/ mm ³	0/ mm ³
Promielócitos: 0,0%	0/ mm ³	0/ mm ³
Mielócitos: 0,0%	0/ mm ³	0/ mm ³
Metamielócitos: 0,0%	0/ mm ³	0/ mm ³
Bastonetes: 0,0%	0/ mm ³	0/ mm ³
Segmentados: 6,0%	5.615/ mm ³	2.000 a 7.000/ mm ³
Eosinófilos: 0,0%	0/ mm ³	20 a 500/ mm ³
Basófilos: 0,0%	0/ mm ³	20 a 100/ mm ³
Linfócitos: 9,0%	8.423/ mm ³	1.000 a 3.000/ mm ³
Monócitos: 1,0%	936/ mm ³	200 a 1000/ mm ³

PLAQUETAS:		Valor de referência:
48.000/mm ³		150.000 a 400.000 /mm ³

Lauda 1

Frente a este resultado, foi sugerido pela biomédica responsável uma imunofenotipagem em sangue periférico, já que o quantitativo de blastos (84%) oferece a oportunidade de uma primeira classificação da leucemia.

ESTUDO DE CASO

MORFOLOGIA OBSERVADA POR
MICROSCOPIA:

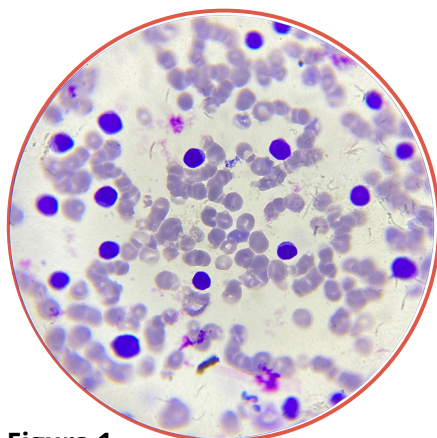


Figura 1

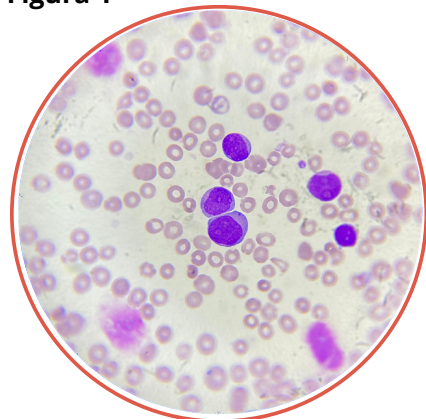


Figura 2

MORFOLOGIA OBSERVADA POR
MICROSCOPIA:

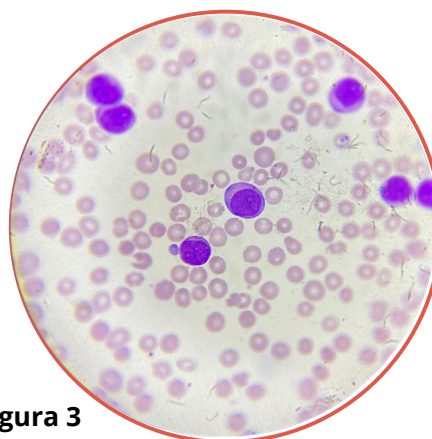


Figura 3

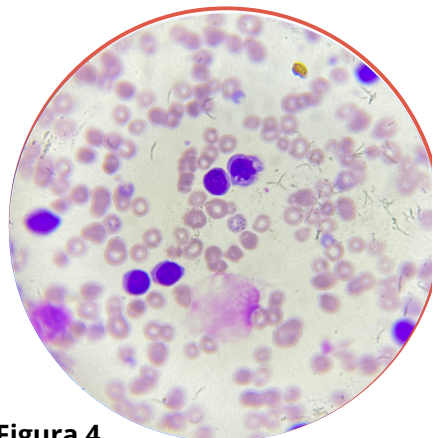


Figura 4

MORFOLOGIA OBSERVADA POR
MICROSCOPIA:

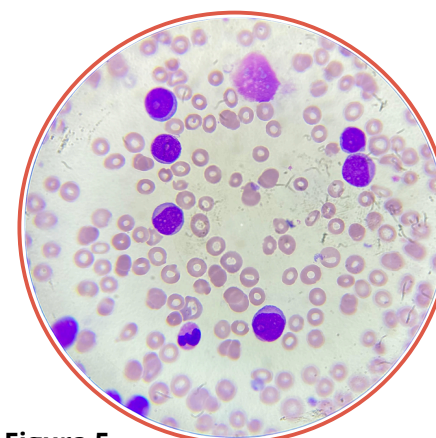


Figura 5

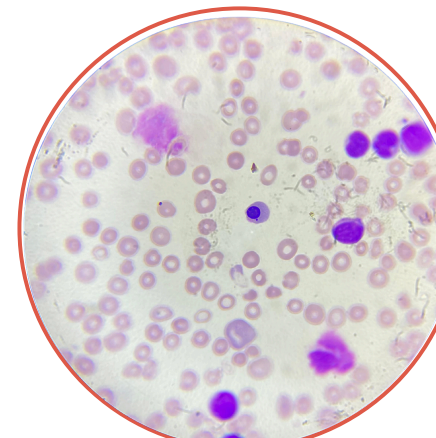


Figura 6

ESTUDO DE CASO

RESULTADO IMUNOFENOTIPAGEM EM SANGUE PERIFÉRICO:

IMUNOFENOTIPAGEM - PAINEL PROLIFERATIVO

Material: Sangue total com EDTA

Método: Citometria de Fluxo Material Sangue periférico.

Região Celular Estudada Analisada população de médio tamanho, moderada complexidade e fraca intensidade de expressão do CD45, correspondendo a 85% da celularidade total.

Marcadores Celulares Estudados Marcadores positivos: CD4+, CD7++, CD11b-/(5%), CD13+, CD33-/(30%), CD34++, CD36-/(5%), CD38-/(+), CD56-/(35%), CD71+, CD117++, CD123++ e HLADR++ +.

Marcadores negativos: CD3 membrana e citoplasmático, CD8, CD10, CD14, CD15, CD16, CD19, CD20, CD35, CD64, CD105, IREM e MPO.

Celularidade encontrada: 56.220/mm3

A população analisada (85% da celularidade total) corresponde a células imaturas (CD45-/+fraco, CD34+, CD117+) que apresentam positividade para os antígenos mielóides CD13, CD33 parcial e CD117. A expressão positiva para CD4, CD123 de moderada intensidade e parcial de CD56, em paralelo a expressão anômala de CD7, podem sugerir um componente dendrítico plasmocitóide para os blastos. Observa-se ainda uma população minoritária de blastos (4% da celularidade total) com expressão mais intensa de CD117+++ e CD13++ e negatividade para CD33 e CD56.

Conclusão Imunofenotipagem detectou 85% de células imaturas mielóides na amostra de sangue periférico compatível com o diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda.

Foram observados alguns marcadores que podem sugerir um componente de diferenciação **dendrítico plasmocitóide (CD123++, CD4+ e CD56 parcial)**, sendo indicada a avaliação complementar da medula óssea e correlação com os demais exames tais com mielograma, citogenética e biologia molecular para auxílio d Para melhor definição diagnóstica, associar a conclusão aos dados clínicos.Exames correlacionados: Hemograma, Mielograma, Biópsia de Medula Óssea, Citoquímica, Citogenética e Biologia Molecular.

Lauda 2

RESULTADO IMUNOFENOTIPAGEM EM MO:

IMUNOFENOTIPAGEM - PAINEL PROLIFERATIVO

Material: Aspirado de Medula Óssea

Método: Citometria de Fluxo

Medula óssea Região Celular Estudada: Analisada toda a população celular da amostra.

Marcadores Celulares Estudados: CD8, LAMBDA, CD56, KAPPA, CD5, CD19, TCR gama/delta, CD3, CD38, CD4, CD20, CD45, CD10, CD11b, CD13, CD14, CD15, CD16, CD19, CD33, CD117, CD123, CD304, HLADR, IREM, TCL. CD3 superfície e citoplasmático,CD7, CD19, CD34, cCD79a e MPO.

Viabilidade celular estimada: 80%

Celularidade encontrada: 107.000 cel/mm3

Série eritróide: 2,4%

Eosinófilos: 0,2%

Neutrófilos: 7,5%

Monócitos: 2,3%

*promonócitos: 0,7% *monoblastos: 0,5%

Linfócitos totais: 4,1%, sendo: > Linfócitos T: 3,5%

Linfócitos NK: 0,4% > Linfócitos B: 0,2% kappa 56% lambda 44%

Blastos: 83,5%

Marcadores positivos: CD4++, CD7+++, CD13+, CD33-/+ fraco e parcial(20%), CD34+++, CD38+parcial(50%), CD45-/(+), CD56+parcial (26%), CD71+, CD117++heterogeneo, CD123++, CD304-/+fraco e parcial (20%), HLA-DR+++, TCL1+ parcial(40%). Expressao: +: fraca ++: moderado +++: forte Marcadores negativos: CD3 superficie e citoplasmático, CD8, CD10, CD11b, CD14, CD15, CD16, CD36, CD64, CD19, CD36, CD79a, IREM, MPO.

A população patológica analisada corresponde a blastos que apresentam positividade para antígenos de linhagem mielóide (CD13, CD33 e CD117) e para os antígenos dendríticos (CD4, CD7, CD56, CD123, TCL1).

Não houve reatividade para marcadores de linhagem linfóides (CD3 citoplasmático e CD19).

Conclusão: Detectada população blástica correspondendo a 83,5% da celularidade global, compatível com Leucemia Aguda Pela associação dos marcadores expressos nos blastos, é sugestivo de **Leucemia de Células Dendríticas Plasmocitóides**.

Lauda 3

RESULTADO MIELOGRAMA:

Material: Aspirado de Medula Ossea

Método: Microscopia

Local de punção: Crista ílica posterior direita

Consistência: normal

Dificuldade: ausente

Celularidade: as preparações enviadas encontram-se de aspecto discretamente hipocelular.

Os eritroblastos somam 10,0% das células nucleadas da medula óssea.

Os granulócitos somam 14,0% das células nucleadas da medula óssea.

Os linfócitos somam 8,0% das células nucleadas da medula óssea e os monócitos somam 6,0% das células nucleadas da medula óssea.

Cerca de 62,0% das células nucleadas da medula óssea são blastos de tamanho pequeno a médio, alta relação núcleo citoplasmática, citoplasma basofílico agranular.

Conclusão: Os achados citomorfológicos são compatíveis com leucemia aguda.

Correlacionar com dados clínicos, de imunofenotipagem (para melhor definição de linhagem), cariótipo, biologia molecular e demais exames laboratoriais.

Lauda 4

RESULTADO CARIÓTIPO EM MO:

Material: Aspirado de Medula Óssea

Método: Cultivo de células

Hipótese Diagnóstica Investigação de LMA

Metáfases analisadas 20

Metáfases Contadas 20

Resultado 46,XY[20]

Valor de referência:

Sexo feminino: 46, XX

Sexo masculino: 46, XY

Conclusão Cariótipo masculino sem anormalidades.

Lauda 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise clínica hospitalar oferece uma vantagem que ajuda muito na suspeita de doenças raras: o acesso às informações clínicas do paciente. Neste caso clínico, esse fator teve importância crucial para traçar um plano diagnóstico rápido.

A primeira etapa deste processo é, sem dúvida alguma, a execução e liberação de um hemograma seguro, que só é possível quando se garante manutenção da automação, verificação diária de controle interno da qualidade - este em três níveis -, e capacitação técnica e biomédica quanto a habilidade de reconhecer, quantificar e classificar alterações morfológicas que sugeriram leucemia.

O primeiro critério que levou à revisão de lâmina foi a intensa leucocitose demonstrada no parâmetro “global de leucócitos”. Além disso, foi identificada por citometria de fluxo, tecnologia do equipamento, uma monocitose de 53%.

É muito comum em situações como esta o equipamento liberar uma “pseudo monocitose” que deve ser conferida. Como critério interno de revisão de lâmina da instituição, toda monocitose superior a 15% é passiva de conferência microscópica.

Ademais, o acesso à equipe médica para discussão do resultado de exames laboratoriais tem importância imensurável para a assistência do paciente. Cabe então, à equipe do laboratório, diminuir esta distância entre médicos e laboratoristas, por meio da transmissão segura de informações, a qual é possível somente por meio de capacitação e estudo.

De acordo com o protocolo de comunicação de resultados críticos da instituição onde o paciente foi atendido, para hemograma, temos:

Parâmetro	Resultado Crítico
Blastos	Presença (independente do quantitativo)
Hemoglobina	< 6,0 g/dL
Plaquetas	< 40.000/mm ³
Absoluto de Neutrófilos	< 500.000/mm ³

Tabela 1

O resultado crítico “**presença de blastos**” foi comunicado e devidamente registrado com o horário da comunicação, o nome do médico que recebeu a informação e se ele entendeu a criticidade da mensagem transmitida.

Neste caso clínico, o paciente apresenta tríade leucêmica, sendo esta caracterizada por leucocitose, anemia e plaquetopenia acentuadas, alterações muitas vezes observadas em leucemia mielóide aguda (LMA). Essa informação contribuiu para a suspeita de LMA, porém, neste caso, a morfologia blástica apresenta um certo pleomorfismo que dificulta a sugestão de linhagem. Inicialmente, nas comunicações e registros, a definição do fenótipo dos blastos encontrados em medula óssea deve ser apenas uma suposição, posteriormente confirmada ou não por exames especializados, como a imunofenotipagem.

Nas figuras de 2 a 6, observam-se diversas características morfológicas nos blastos encontrados, algumas delas são;

- Tamanho aumentado
- Presença de nucléolos bem marcados

ESTUDO DE CASO

- Citoplasma escasso
- Núcleo abrangente e arredondado
- Núcleo deslocado para região periférica apresentado halo perinuclear
- Núcleo irregular
- Ausência de Bastonete de Auer.

Outras alterações morfológicas foram observadas, como:

- Presença de restos celulares, o que evidencia presença de lise tumoral;
- Presença de anisocitose acentuada com dupla população de macrócitos e micrócitos;
- Presença de pontilhado basófilo, policromasia e eritroblastos, o que reforça o estresse medular causado pela infiltração de blastos mutados;
- Ausência de grumos plaquetários e baixa população de plaquetas, o que confirma a plaquetopenia identificada pela automação DXH800.

Todas as alterações acima refletem os parâmetros liberados pela a automação, seus flags e gráfico.

A figura 1 demonstra a área na lâmina que não deve ser usada para a realização da microscopia. Pode-se observar que as hemácias estão muito próximas, desta forma, as células brancas ficam “apertadas” e não revelam suas partes (principalmente citoplasma e núcleo) com clareza. Sendo assim, é impossível diferenciar um leucócito maduro de uma célula imatura nesta região do esfregaço sanguíneo.

Os exames auxiliares realizados em medula óssea após a internação do paciente definirão a linhagem da leucemia e seu possível tratamento.

A comunicação de resultado crítico e realização de hemogramas e outros exames diariamente até a liberação do estudo medular, contribuíram para o tratamento de suporte ao paciente, possibilitando o controle da lise tumoral, o acompanhamento das funções hepática e renal, a transfusão de papa de hemácias e concentrado de plaquetas quando recomendadas e a vigilância microbiológica e metabólica.

A imunofenotipagem tem um papel fundamental para a definição do diagnóstico. A tabela a seguir compara os resultados dos CDs relatados na introdução deste estudo e os CDs detectados na citometria de fluxo em MO do paciente:

Imunofenótipo em BPDCN	Imunofenótipo em MO do paciente
CD123, CD4+, CD56+, HLA-DR+, CD3-, CD13-, CD33-, CD19-	CD4++, CD7+++, CD13+, CD33-/+ fraco e parcial(20%), CD34+++, CD38+parcial(50%), CD45-/+ CD56+parcial (26%), CD71+, CD117++heterogeneo, CD123++ CD304-/+fraco e parcial (20%), HLA-DR+++, TCL1+ parcial(40%). CD3- superfície e citoplasmático, CD8-, CD10-, CD11b-, CD14-, CD15-, CD16-, CD36-, CD64-, CD19-, CD36-, CD79a-...

Tabela 2

Como a imunofenotipagem, o cariótipo e o milograma foram realizados pelo mesmo laboratório especializado, a discussão e correspondência dos achados nos três exames ocorreu de forma rápida e assertiva. Após a liberação dos resultados do estudo medular, foram administrados quimioterápicos e medicações para contenção de efeitos colaterais do tratamento, mas infelizmente o paciente foi a óbito, devido à agressividade e estadiamento da doença.

ESTUDO DE CASO

CONCLUSÃO

Este estudo teve como premissa organizar o processo de busca pelo diagnóstico de uma doença rara: a Leucemia de Células Dendríticas Plasmocitárias.

Inicialmente, tratando-se de conclusões práticas e referentes aos resultados alcançados, salienta-se o uso da imunofenotipagem em sangue periférico como fator crucial, visto que norteia precocemente os próximos passos na busca pelo diagnóstico e otimiza o tempo gasto. Além disso, relatar as características blásticas e quantificar as células atípicas encontradas em sangue periférico quando tem-se uma leucemia também se mostrou como sendo de suma importância para a aceleração do processo de análise.

Ainda, ao longo desse processo organizacional, tornou-se clara a necessidade de definir etapas pré, analíticas e pós analíticas antes que determinadas situações inabituais aconteçam, a fim de minimizar os desafios que as acompanham.

Sendo assim, é importante aproveitar essa possibilidade de acompanhamento do desfecho dos casos como oportunidades de melhoria e estudo em busca da excelência.

Dessa forma, as etapas de metodologia dessa investigação são um exemplo para a definição de protocolos de assistência laboratorial hospitalar, tendo em vista seus resultados positivos de entendimento do diagnóstico.

O paciente infelizmente foi a óbito, o que nos convida a uma reflexão: a detecção precoce de uma doença rara exige conhecimento e tempo hábil. Como na maioria das vezes os pacientes adiam a busca por ajuda, a gravidade da doença e a rapidez de sua evolução podem diminuir muito as chances de tratamento. O paciente em questão, não teve chance de remissão, mas não faleceu sem diagnóstico, o que é essencial, inclusive para seus descendentes.

Assim, de forma didática e prática, alcança-se o objetivo inicial desse estudo, resultado de uma observação diária de rotinas em laboratórios hospitalares e suas dificuldades quanto ao domínio de exames hematológicos.

Ao identificar alterações laboratoriais com segurança para definição do laudo do hemograma e salientar a importância da eficácia na comunicação entre laboratoristas e médicos e da disponibilidade da equipe do laboratório para dar continuidade na análise junto à hematologia, esse estudo contribui com a facilitação do processo que existe entre a suspeita e o diagnóstico seguro.

Demonstrar as imagens e relatar a morfologia celular, é uma provocação para incentivar aos leitores interessados neste assunto a continuarem sua busca por capacitações práticas, seja através de cursos, discussão de casos, pós graduações ou até mesmo durante sua rotina de trabalho.

Espera-se assim, que as dificuldades que permeiam esse tópico sejam sanadas e que os profissionais busquem entender melhor o que não é conhecido ou habitual, a fim de assumirem com confiança a responsabilidade que o trabalho laboratorial carrega.