



DIAGNÓSTICO LABORATORIAL LEUCEMIAS MIELOIDE E LINFOIDE AGUDA
LABORATORY DIAGNOSIS OF MYELOID AND ACUTE LYMPHOID LEUKEMIAS
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO LEUCEMIAS MIELOIDES Y LINFOIDES AGUDAS

Giovanna Chagas Reginato¹, Quezia Vitoria Nascimento Alves da Silva¹, Renata Ramos de Andrade Benevides¹,
Alessandra Barone Briani Fernandes¹

¹ Centro Universitário das Faculdades Metropolitanas Unidas - FMU, São Paulo, SP, Brasil.

<https://doi.org/10.47820/recima21.v4i1.3367>

PUBLICADO: 06/2023

RESUMO

A leucemia, uma alteração neoplásica de célula tronco hematopoiéticas, pode ser classificada de acordo com a linhagem e grau de maturação celular em leucemia aguda e crônica. Na leucemia aguda, os leucócitos multiplicam-se rapidamente, perdem a capacidade de maturação mantendo-se como blastos circulantes, tanto na medula óssea quanto em sangue periférico, enquanto nas leucemias crônicas, a alteração genética, na sua maior parte, segue para a maturação celular, maior proliferação celular e resistência à apoptose. Os primeiros sistemas de classificação das LA foram baseados somente em investigações citomorfológicas e citoquímicas. Atualmente, os exames laboratoriais que envolvem o diagnóstico das leucemias, permitem ampliar os tipos e subtipos de leucemias. Os exames de triagem como hemograma e mielograma são úteis para a verificação da presença anormal de blastos em sangue periférico e medula óssea respectivamente. Exames como imunofenotipagem nos permitem diagnosticar a natureza mieloide ou linfóide dos blastos e grau de maturação celular envolvido em cada subtipo de leucemia, enquanto a citogenética, através das alterações cromossômicas que envolvem cada mutação, já são úteis para a determinação do prognóstico do paciente.

PALAVRAS-CHAVE: Leucemia. Investigação laboratorial. Diagnóstico.

ABSTRACT

Leukemia, neoplastic hematopoietic stem cell alteration, can be classified according to the lineage and degree of cell maturation in acute and chronic leukemia. In acute leukemia, leukocytes multiply rapidly, lose the ability to mature while remaining as circulating blasts, both in bone marrow and peripheral blood, while in chronic leukemias, the genetic alteration, for the most part, follows cell maturation, greater cell proliferation and resistance to apoptosis. The first classification systems of acute leukemias (ALs) were based only on cytomorphological and cytochemical investigations. Currently, laboratory tests that involve the diagnosis of leukemias allow to expand the types and subtypes of leukemias. Screening tests such as blood count and myelogram are useful to check for abnormal presence of blasts in peripheral blood and bone marrow respectively. Tests such as immunophenotyping allow us to diagnose the myeloid or lymphoid nature of blasts and degree of cell maturation involved in each leukemia subtype, while cytogenetics, through the chromosomal changes that involve each mutation, are already useful for determining the prognosis of the patient.

KEYWORDS: Leukemia. Laboratory research. Diagnosis.

RESUMEN

La leucemia, una alteración neoplásica de las células madre hematopoyéticas, se puede clasificar según el linaje y el grado de maduración celular en leucemia aguda y crónica. En la leucemia aguda, los leucocitos se multiplican rápidamente, pierden la capacidad de madurar, permaneciendo como blastos circulantes, tanto en la médula ósea como en la sangre periférica, mientras que en las leucemias crónicas, la alteración genética, en su mayor parte, sigue la maduración celular, una mayor proliferación celular y resistencia a la apoptosis. Los primeros sistemas de clasificación de ELA se basaron

únicamente en investigaciones citomorfológicas y citoquímicas. Actualmente, las pruebas de laboratorio que implican el diagnóstico de leucemias permiten ampliar los tipos y subtipos de leucemias. Las pruebas de detección, como el hemograma y el mielograma, son útiles para detectar la presencia anormal de blastocitos en la sangre periférica y la médula ósea, respectivamente. Pruebas como el inmunofenotipado nos permiten diagnosticar la naturaleza mieloide o linfoide de los blastos y el grado de maduración celular implicado en el subtipo de leucemia domiciliaria, mientras que la citogenética, a través de los cambios cromosómicos que implican cada mutación, ya son útiles para determinar el pronóstico del paciente.

PALABRAS CLAVE: *Leucemia. Investigación de laboratorio. Diagnóstico.*

INTRODUÇÃO

O sangue é um tecido conjuntivo fluido formado basicamente por 90 % de plasma capaz de veicular proteínas, vitaminas, minerais, compostos nitrogenados, sais e íons, além de 10% de elementos sanguíneos que compreendem eritrócitos, leucócitos e plaquetas. Os eritrócitos, produzidos a partir da maturação da célula tronco hematopoiética através do estímulo da eritropoietina, apresenta meia vida de aproximadamente 120 dias, com principal função de transporte de oxigênio em função da grande quantidade de hemoglobina que apresenta. Os leucócitos ou glóbulos brancos possuem a função de defesa e imunidade do organismo, sendo classificados em relação a morfologia de núcleo em monomorfonuclear e polimorfonuclear ⁽¹⁾.

As propriedades funcionais dos leucócitos variam conforme a categoria a que pertencem. Os neutrófilos, basófilos, eosinófilos, apresentam como conteúdo citoplasmático grânulos específicos para a função que exercem, sendo diferente dos linfócitos e monócitos considerados agranulócitos. A sobrevivência dos leucócitos no sistema circulatório é curta, apresentando vida média de poucas horas até 12 dias, exceto no caso dos monócitos que podem viver de meses a anos ⁽²⁾.

As plaquetas ou trombócitos, fundamentais para o processo de hemostasia, são fragmentos celulares anucleados formados na MO a partir da fragmentação citoplasmática do megacariócitos e sua produção depende da liberação da trombopoetina, um hormônio glicoproteico produzido no fígado e no córtex renal ⁽³⁾.

O processo de produção de células e dos elementos sanguíneos ocorre constantemente através de estímulos liberados por variadas células no organismo e por células da própria medula óssea, como fatores de crescimento, hormônios e vitaminas que chegam aos precursores hematopoiéticos (stem cell ou célula tronco hematopoiética) iniciando seu processo de divisão e maturação. Dependendo da linhagem celular, o processo de maturação celular pode variar de 7 a 11 dias e uma vez completo, deixam a medula óssea migrando para corrente sanguínea e ou órgãos linfóides ⁽²⁾.

A leucemia, uma patologia caracterizada pela proliferação neoplásica de células hematopoiéticas oriundas de um mesmo clone, pode ser classificada de acordo com a linhagem celular e pelo grau de maturação celular em leucemias agudas e crônicas. Na leucemia aguda, os leucócitos multiplicam-se rapidamente, perdem a capacidade de maturação e não conseguem realizar suas funções básicas. O tipo de célula imatura e seu grau de maturação pode ser identificada através de imunofenotipagem e desta forma, as leucemias agudas podem ser classificadas em variados subtipos.

Nas leucemias crônicas, a alteração genética, na sua maior parte, não afeta a maturação celular e sim a proliferação e resistência à apoptose. A leucocitose, tanto de linhagem linfóide como de linhagem mielóide é uma condição que já permite a identificação da linhagem envolvida, porém pode levar a um diagnóstico equivocado, pois como desenvolve-se de maneira lenta e progressiva, pode ser confundida com quadros infecciosos ^(4,5,6,7).

OBJETIVO

O objetivo do presente trabalho é realizar um levantamento bibliográfico referente às variadas formas de diagnóstico laboratorial utilizado para a diferenciação entre os tipos e subtipos de Leucemia Mieloide e Linfóide aguda.

JUSTIFICATIVA

Considerando que a complexidade do quadro de LMA e LLA promove um alto índice de mortalidade por mudanças significativas no tecido sanguíneo que dificultam o tratamento do paciente, é de fundamental relevância que o diagnóstico clínico e laboratorial seja preciso e inequívoco, para tanto, a atuação do biomédico qualificado em análises clínicas é essencial, principalmente no que tange a manipulação, processamento e interpretação dos resultados.

METODOLOGIA

O presente estudo foi uma revisão da literatura realizada por meio de busca on-line de artigos científicos, a partir das principais bases de dados bibliográficos em: Scielo (*Scientific Eletronic Library Online*), Google Acadêmico, *Pubmed (US National Library of medicine)*, Biblioteca Virtual em Saúde Ministério da saúde (BVSMS), livros e sites científicos, dentre os materiais coletados foram utilizados artigos de revistas, dissertações e teses. Os conteúdos foram selecionados a partir de artigos publicados em sua maioria entre os anos de 2013 e 2023.

LEUCEMIAS AGUDAS

Caracterizadas como uma alteração genética na célula tronco hematopoiética de origem linfóide ou mielóide, as leucemias agudas cursam com a proliferação neoplásica de um clone hematopoiético alterado que perde sua capacidade de controle do ciclo celular e da sua capacidade de maturação ⁽²⁾.

As leucemias agudas apresentam maior incidência na população infanto juvenil. Nas últimas décadas a taxa de mortalidade obteve valores decrescentes devido aos avanços de tratamentos e terapias, principalmente em países de primeiro mundo com alta renda, enquanto em países da América latina a diminuição na taxa de mortalidade em relação a este câncer pediátrico, não se manteve na mesma proporção e somente conseguiu-se atingir esta diminuição em períodos mais longos. Estima-se que de todos os casos de câncer, 25,6% atingem jovens na faixa etária de 0 a 19 anos. Diminuindo-se a faixa etária para 14 anos a porcentagem aumenta para 33,2% com predominância das leucemias de linhagem linfóide, sendo menos comum as de linhagem mielóide ⁽⁷⁾.

Segundo os estudos epidemiológicos, no Brasil, de 1980 a 2015 ocorreram 10.135 óbitos em crianças e adolescentes sendo 5.854 óbitos correspondentes ao sexo masculino e 4.276 ao sexo feminino e cinco óbitos não foram revelados o gênero. Estes dados foram fornecidos pelo sistema de informações sobre mortalidade (SIM), que é gerenciado pelo Ministério da Saúde e notou-se a diminuição da taxa de mortalidade de 2,73 para 1,58 de 100 mil habitantes. Caso seja feita uma análise mais profunda dividindo-se os tipos de leucemias, os números demonstram reduções respectivamente de 1,21 para 0,98 de 100 mil habitantes para leucemia linfóide e 0,83 para 0,45 de 100 mil habitantes para leucemia mielóide. Cabe ressaltar que estes dados abrangem todas as 26 capitais dos estados brasileiros e Distrito Federal ⁽⁸⁾.

Os centros que oferecem assistência de tratamento oncológico financiados pelo SUS foram essenciais para redução da taxa de mortalidade, entretanto apenas as grandes capitais usufruem destes centros, conseqüentemente, os resultados foram superiores nos estados com melhores condições socioeconômicas e o mesmo vale para as famílias, pois devido aos deslocamentos de domicílio para o tratamento de longo prazo alguns acabam abandonando o tratamento e isto reflete nos índices de mortalidade, a porcentagem de desistência varia de 16% a 50% ⁽⁷⁾.

Em relação à leucemia mielóide aguda há uma peculiaridade, pois, a incidência dos casos aumenta quanto maior for a idade do indivíduo podendo ocorrer em crianças e adolescentes também, porém sendo mais incomum, nas crianças. Cerca de 15 a 20% dos casos são diagnosticados com leucemia mielóide aguda já nos adultos a porcentagem aumenta para 80% ⁽²⁾.

As últimas estatísticas do ano de 2018, segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) demonstraram que eram estimados 10.800 novos casos de leucemia sendo 5.940 para o sexo masculino e 4.860 para o feminino ⁽⁹⁾.

Os principais sinais e sintomas observados nas leucemias agudas são conseqüências do mau funcionamento da medula óssea liberando células defeituosas e imaturas na circulação sanguínea. Devido à baixa quantidade de células saudáveis, o paciente apresenta anemia causando-lhe palidez, fadiga, letargia, inclusive trombocitopenia acarretando frequentes hemorragias. Os leucócitos também são afetados apresentando quadros de leucocitose e leucopenia, assim o paciente é suscetível a diversas infecções pela sua imunidade baixa ⁽⁹⁾.

Os blastos ao atingirem o sangue periférico acabam se infiltrando em alguns órgãos causando hepatomegalia, esplenomegalia, linfadenomegalia e devido a esses aumentos acabam causando dores abdominais, dores ósseas ou articulares pela expansão da medula óssea e à invasão no periósteo. Caso as células leucêmicas afetem o sistema nervoso central, os pacientes apresentam cefaleia e náuseas, mas não são tão comuns quantos os demais sintomas citados. Outros sintomas que podem ser encontrados são febre, alterações nas funções hepáticas e renais ⁽⁹⁾.

CLASSIFICAÇÃO DAS LEUCEMIAS AGUDAS

As leucemias são classificadas de acordo com o tipo celular envolvido e o grau de maturação das células. Os primeiros sistemas de classificação das LA eram baseados somente em investigações citomorfológicas e citoquímicas. Atualmente, as formas de classificação citoquímicas estão em desuso.

Os estudos citomorfológicos ainda são importantes pois evidenciam presença de granulosidade citoplasmática ou bastões de Auer, achados mais característicos de LMA ⁽⁶⁾.

A classificação segundo o grupo Franco Americano Britânico (French-American-British – FAB) de 1976 é baseada na morfologia e citoquímicas e atualmente complementada pela imunofenotipagem. O grupo FAB considera a instalação de leucemia através da presença de mais de 30% de blastos na medula óssea ⁽⁵⁾.

A classificação MIC é baseada pela análise de morfologia, imunofenotipagem e citogenética. A imunofenotipagem revela a expressão de antígenos na superfície celular tendo informações como base de painéis de anticorpos monoclonais, diferenciando-as entre mielóide e linfóide. Há minorias que apresentam traços de linhagem mielóide e linfóide, isso é denominado leucemia de linhagem híbrida, mista ou bifenotípicas aguda (BAL) ⁽⁷⁾.

O grupo Europeu (European Group for the Immunological Classification of Leukemias – EGIL) classifica as leucemias apenas pela imunofenotipagem; enquanto a OMS classifica as leucemias quanto às características morfológicas, imunofenotípicas além de genético-moleculares e diferentemente do grupo FAB, considera a leucemia instalada com a presença de mais que 20% de blastos na medula óssea ⁽⁷⁾.

O diagnóstico morfológico analisa 200 células do sangue e 500 células no mielograma para saber a porcentagem dos blastos, a identificação das linhagens comprometidas, a determinação do grau de maturação das células tronco e comportamento das anormalidades displásicas ⁽⁸⁾.

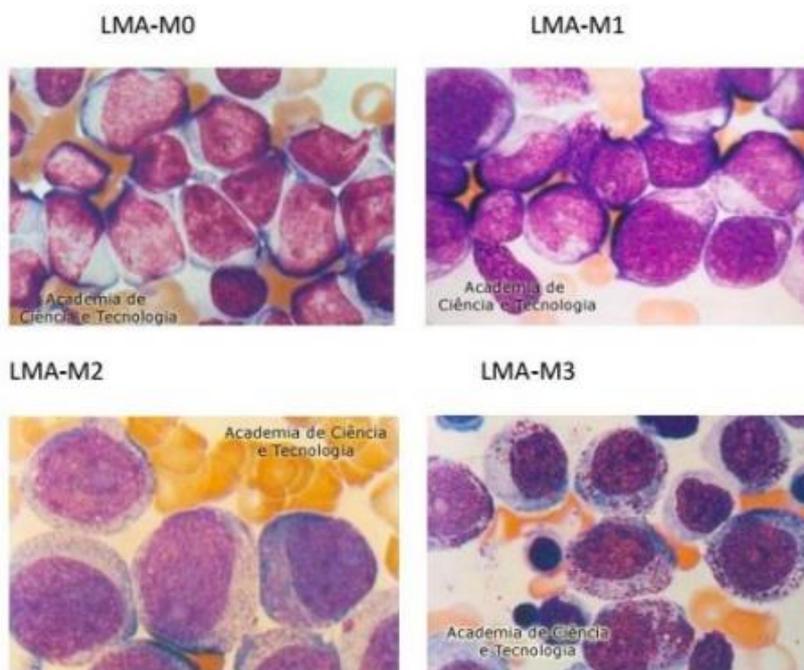
Os estudos imunológicos e moleculares mostram que muitas LA 's podem apresentar características de mais de uma linhagem celular. Estas observações permitiram que fossem então descritas duas categorias de LÁ que demonstram “infidelidade de linhagem”, são elas: LLA com antígenos associados à linhagem mielóide (LLA My+) e LMA com antígenos associados à linhagem linfóide (LMA Ly+). Os estudos dos imunofenótipos sublevam para 99% o percentual de casos que são separados e classificados corretamente admitindo identificar a linhagem celular e os diferentes estágios de maturação da célula ⁽⁸⁾.

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

A leucemia mielóide aguda (LMA) é caracterizada por uma doença clonal do tecido hematopoiético, pela produção anormal de células caracterizadas pela linhagem mielóide (mieloblasto), sendo assim, a infiltração da medula é frequentemente acompanhada de neutropenia (diminuição de neutrófilos no sangue), anemia (diminuição da taxa de hemoglobina) e plaquetopenia (diminuição de plaquetas no sangue), sendo essas doenças, caracterizadas por baixas concentrações de células sanguíneas. De acordo com o sistema de classificação French-American-British (FAB), as LMA são ainda morfológicamente classificadas em oito tipos de acordo com seu estágio: LMA M0 a M7 ⁽²⁾.

Estes fenótipos de LMA, podem ser visualizados nas figuras 1 a seguir, a subclassificação da LMA 0,1,2 e 3, sob o ponto de vista histológico:

Figura 1- Histologia das subclassificações da LMA



Fonte: Oliveira, 2021

Em relação às características morfológicas têm-se que a LM0, tem blastos muito indiferenciados, sendo que a citologia e sua imunocitoquímica não definem dados específicos, A LM1 já possui blastos indiferenciados em alta % (>30%). Pouca maturação para mieloblasto. Além do surgimento de bastonetes de Auer às vezes.

A Leucemia M2, também possui blastos indiferenciados (30%) e diferenciação até promielócito (<20%). Citoplasma e grânulos azurófilos e bastonetes de Auer. A LM3, é caracterizada pela presença de promielócitos hipergranulares (M3 clássica), mas pode apresentar variações com presença de células hipogranulares (M3v). A Me hipergranular é considerada uma das leucemias mais agressivas, pois pode desencadear um quadro trombótico importante. A presença de Bastonetes de Auer é comum e o núcleo reniforme ou bilobado ⁽¹⁰⁾.

O subtipo M4 (figura 2) mielomonocítica, são células monocíticas (20% dos casos, possui eosinofilia), sendo considerados critérios como 30% de mieloblasto e linhagem monocítica de 20-80%.

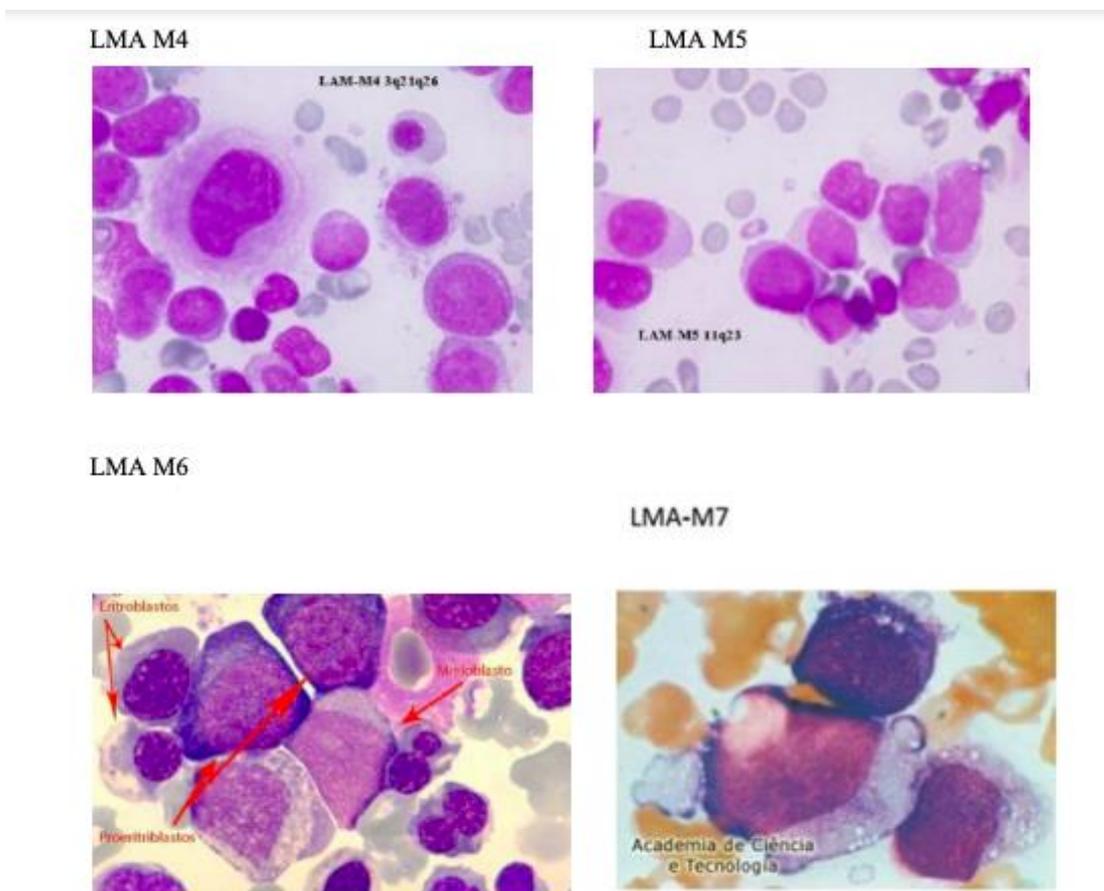
O subtipo M5 (figura 2) é caracterizada como leucemia monocítica aguda com 9% dos casos, sendo que 30% das células são blastos e mais de 80% são células da linhagem monocítica. A LMA M5 apresenta o subtipo M5a e M5b. O subtipo M5a tem uma morfologia monoplástica de mais de 80%, porém com diferenciação até monócito, sendo que a quantidade de monócitos no sangue é maior que na medula; já o subtipo M5b a característica morfológica da sua linhagem é promonocítica (mais de 80% são promonócitos); possui blastos grandes com cromatina delicada, além de citoplasma basófilo e volumoso e pseudópodes ^(11,12).

O subtipo M6 (figura 2) é classificado em leucemia eritróide aguda ou eritroleucemia, correspondendo cerca de 3-5% dos casos, com presença de mieloblastos e promielócitos (dentro das

células não eritróides), sendo que são uma associação de blastos M1, M2 ou M4.a principal característica é a presença de mais de 50% de eritroblastos displásicos

O subtipo M7 (figura 2) megacarioblástica é um tipo raro de leucemia, pois atinge cerca de 1% dos portadores de LMA, que afeta os megacariócitos, acometendo principalmente as crianças, mas também pode ocorrer em adultos. Em adultos quando aparece está relacionada a doenças mielodisplásicas ou quimioterapia ativa ^(9,10,13).

Figura 2-Histologia da LMA 4,5,6 e 7



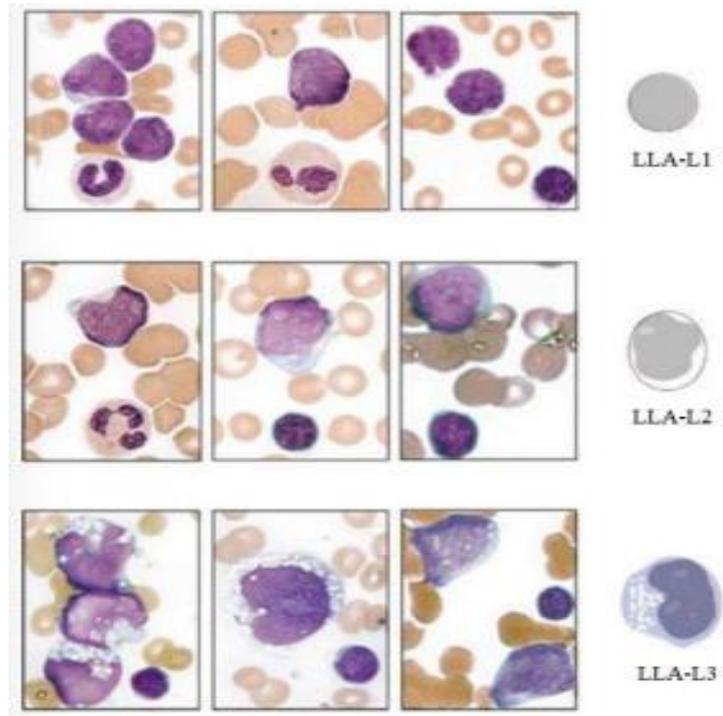
Fonte: Oliveira, 2021

LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é a forma mais comum de câncer na infância sendo caracterizada por evolução rapidamente fatal em pacientes não-tratados. É uma doença maligna derivada de células linfóides ainda não diferenciadas (linfoblastos – célula linfóide imatura) que apresentam grande número na medula óssea, timo e gânglios linfáticos, estruturas que fazem parte do sistema de defesa/resposta imunológica ⁽⁸⁾.

As LLA são subclassificadas em linhagens T e B pelas características imunofenotípicas dos linfoblastos, detectando-se o nível de diferenciação do processo leucêmico. A LLA é subdividida, também pela classificação FAB em: L1, L2 e L3, conforme indica a figura 3 ⁽⁵⁾.

Figura 3- Morfologia LLAs



Fonte: Hilário, Hilário, 2021

As células L1 são células pequenas e homogêneas, cromatina fina ou aglomerada, com presença de núcleo regular e citoplasma escasso. As células L2 são células de maior tamanho quando comparadas a L1. Apresentam citoplasma abundante, núcleo irregular com presença de um ou mais nucléolos e cromatina fina. As células L3: Células grandes com nucléolos, basofilia citoplasmática e vacúolos, este subtipo apresenta imunofenótipos B e é considerado a forma leucemia do linfócito Burkitt⁽⁵⁾.

Em relação aos aspectos morfológicos da LLA tem-se a tabela 1 explicativas abaixo:

Tabela 1- Classificação morfológica dos tipos de LLA

Classificação morfológica (FAB) da LLA			
Morfologia	L1	L2	L3
Diâmetro e aspecto celular	Baixo e homogêneo	Grande e heterogêneo	Grande e homogêneo
Cromatina	Fina ou aglomerada	Fina	Fina
Forma do núcleo	Regular com fenda ou indentação	Irregular com fenda ou indentação	Regular, redondo ou oval
Nucléolos	Indistintos ou não visíveis	Múltiplos e proeminentes	Múltiplos e proeminentes
Volume citoplasmático	Escasso	Moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligeira	Ligeira	Evidente
Vacúolos citoplasmático	Variável	Variável	Evidentes

Fonte: Hilário, Hilário, 2021

DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

HEMOGRAMA

O hemograma é um exame de triagem e um dos primeiros exames a serem solicitados pelo médico, por realizar uma sondagem hematológica quanto à celularidade apresentada em cada uma das suas linhagens eritrocíticas, leucocitárias e megacariocíticas ⁽⁷⁾.

A leucocitose e a anemia e a trombocitopenia apresentada na maior parte dos casos de leucemias agudas podem indicar ao médico a necessidade de exames laboratoriais mais específicos para o diagnóstico correto do tipo e subtipo de leucemia apresentada. ⁽⁷⁾.

Segundo Hilário⁽¹²⁾, a principal característica da anemia é normocitose e normocromia e cerca de 51% dos casos de LLA, o nível de hemoglobina é menor que 7,5g/dL, portanto infere-se que a faixa de 7,5g/dL a 10g/dL de Hb pode ter um caráter sugestivo de LLA quando se junta a clínica e a outros resultados de exames ⁽¹⁴⁾. De acordo com o estudo de Dutra, et al 2020, aproximadamente metade dos casos de leucemia têm nível de hemoglobina abaixo de 8g/dL, porém em alguns casos pode ser que estes valores sejam normais. Apesar da normocitose, podem ser encontrados poiquilocitoses do tipo dacriócitos bem como a presença de eritroblastos⁽¹⁵⁾.

Já em relação aos leucócitos, o que pode variar nas leucemias é uma leucopenia com valores abaixo de 4000/mm³ e/ou ainda uma leucocitose com valores maiores que 100000/mm³. Em pacientes com leucopenia, que é o caso de até 30% dos pacientes com LLA, os linfoblastos são pouco frequentes

no esfregaço do sangue periférico, mas aqueles pacientes que apresentam leucocitose a presença de linfoblastos é predominante. Já em relação ao número de plaquetas, tem-se que valores abaixo de 15000/mm³ são comuns ⁽¹¹⁾.

MIELOGRAMA

O mielograma tem como finalidade avaliar a medula óssea. O mielograma é realizado por meio de uma punção óssea, seguida de aspiração. Os ossos mais puncionados são o íliaco, o esterno e a tíbia, através de anestesia local. A agulha de coleta é introduzida até que chegue ao interior do osso sendo feita a aspiração do sangue da medula óssea ou retirando-se um pequeno fragmento ósseo. Para a realização de um exame complementar ao mielograma, a biópsia modular (BMO). No mielograma podemos analisar o nível quantitativo de blastos presentes no tecido, se esse número estiver maior que 25% da concentração normal se obtém o diagnóstico de L.A. A medula encontra-se hiper celular com substituição do espaço adiposo e elementos medulares normais por células leucêmicas, com precursores eritróides residuais de aspecto normal na maioria das vezes, e megacariócitos com uma porcentagem menor ou quase ausente ⁽⁵⁾.

A medula na LMA tem características singulares tais como hiper celularidade às custas de blastos, sendo que esta deve ser analisada a fim de classificar os mieloblastos tipo 1: como mieloblastos com cromatina frouxa, além de nucléolos proeminentes e citoplasmas sem grânulos, além disso tem-se os blastos tipo II que são semelhantes ao tipo 1, exceto por terem de 1 a 15 grânulos azurófilos, tendo ainda com classificação os blastos tipo III que contém uma área que corresponde ao complexo de Golgi além de numerosos grânulos azurófilos ⁽¹²⁾.

Pode ser visto ainda que estes mieloblastos podem se apresentar Bastão de Auer e positividade para as reações enzimático-citoquímicas como peroxidase, além de natil-cloro-acetato esterase e negro de Sudam ⁽¹²⁾.

Em relação ao mielograma da LLA tem-se que há uma intensa infiltração por linfoblastos além de uma substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas, com precursores mielóide além de eritróides residuais, mas com aspecto normal e ainda há diminuição ou até ausência de megacariócitos, podendo haver cerca de 10 a 15% dos casos que apresentam fibrose medular ^(13,14,16).

IMUNOFENOTIPAGEM

A Citometria de fluxo é realizada com maior frequência para distinção entre as leucemias mielóide e linfóide, o que é de crucial importância, e na monitorização pós-tratamento da LMA para detecção de doença residual mínima ⁽⁶⁾.

O citômetro é constituído por cinco sistemas: Fluido, óptico, eletrônico, de amplificação e computacional, sendo assim, se beneficia por equipamentos modernos que tem seu funcionamento através de laser, o que permite maior precisão nos resultados. A citometria de fluxo possibilita realizar a separação e contagem individual de células, sendo uma técnica utilizada para examinar e classificar também, partículas microscópicas suspensas em meio líquido em fluxo incluindo então no diagnóstico

laboratorial para LMA, a citometria de fluxo, possibilita também distinguir entre leucemia mielóide e linfóide ⁽⁶⁾.

Em relação aos marcadores fenotípicos tem-se que o estudo de Cruz, Lang, 2021, pontua que:

A tecnologia de imunofenotipagem por citometria de fluxo distingue clones de leucemia por características fenotípicas, que também ajudam a definir com precisão o estado clínico dos pacientes e ajudam a alcançar um bom tratamento, mostrando moléculas de superfície celular alteradas e marcadores de CD (do inglês, "cluster of differentiation") confirmando o diagnóstico de LMA, que se assemelha à citometria de fluxo. Existem certos antígenos mais associados às células da LMA como CD17, CD13, CD33, CD65, CD14, CD64, CD41, CD61 que estão presentes como marcadores de superfície celular mais utilizados nesta confirmação ⁽¹⁵⁾.

É sabido ainda que cada subtipo apresenta antígenos específicos como demonstra a tabela 2.

Tabela 2 -Marcadores fenotípicos da LMA

Subtipo de LMA	Descrição	Marcadores fenotípicos
M0	Minimamente diferenciada	CD13, CD33, CD34
M1	Sem maturação	CD13, CD33
M2	Com maturação	CD19 ou CD56+ CD33 e CD13
M3	Promielocítica e varmicrogranular	CD13 e CD3 + CD34
M4	Mielomonocítica	CD13, CD14, CD15 e CD1b
M5	Monocítica a- sem maturação b- com maturação	CD14, CD1b, CD15
M6	Eritroleucemia	Glicoforina A
M7	Megacarioblástica	CD41, CD42 ou CD61 positivos.

Fonte: CRUZ, LANG,2021

A realização da imunofenotipagem é de extrema importância para um diagnóstico preciso para se determinar a linhagem de linfoblastos e para se determinar um prognóstico da LLA. Deve-se ainda fazer uma diferenciação entre a linhagem B e T de acordo com a expressão de antígenos, para melhores esclarecimentos tem-se segundo o estudo de Hilário, Hilário, 2021.

A LLA de linhagem B foi estratificada de acordo com os estágios de diferenciação dos progenitores B na medula, sendo divididas em LLA pró-B, comum, pré-B e Bmadura. A LLA do tipo pró-B representa 5% dos casos em crianças e 10% em adultos. A LLA do tipo comum representa 75% dos casos em crianças e 50% em adultos. A leucemia pré-B representa 15% dos casos em crianças com LLA e 10% em adultos. Já a LLA do tipo B maduro está presente em 2% a 5% em crianças e adultos. Esta última, apresenta blastos com características morfológicas L3 e é a leucemia que apresenta o pior prognóstico, pois compromete o sistema nervoso central e a resposta à terapia geralmente é refratária. A LLA de linhagem T é dividida em LLA pré-T, Tintermediária e T-madura e acomete cerca de 25% dos adultos e 15% das crianças, além disso, indivíduos do sexo masculino se mostram mais propensos a desenvolver a doença⁽¹²⁾.

Para melhor observação tem-se a tabela 02 a seguir:

Tabela 3- Imunofenotipagem das linhagens da LLA

Marcador	Linhagem B				Linhagem T		T
	Pró-B	Comum	Pré-B	B	Pré-T	Intermediário	
HLA-DR	+	+	+	+	+/-	-	-
TdT	+	+	+	+/-	+	+	+
CD19	+	+	+	+	-	-	-
CD22c	+/-	+	+	+	-	-	-
CD10	-	+	+	-/+	+/-	+/-	-/+
CD20	-	+/-	+	+	-	-	-
cμ	-	-	+	-	-	-	-
SmIg	-	-	-	+	-	-	-
CD7	-	-	-	-	+	+	+
CD2	-	-	-	-	-	+	+
CD3(c)	-	-	-	-	+/-	+	+
CD1a	-	-	-	-	-	+/-	-
CD3	-	-	-	-	-	-	+
CD4/CD8	-	-	-	-	-	+/-	-

Fonte: Hilário, Hilário, 2021

CITOGENÉTICA

Na citogenética periodicamente detectam anormalidades, sugerindo o diagnóstico ou prognóstico. A análise é normalmente feita por inspeção microscópica dos cromossomos das células da medula óssea. A técnica de hibridização in situ, nomeadamente hibridização fluorescente in situ (FISH), complementa. A metodologia se baseia então, em marcadores de linhagem de células B, células

T e mielóide, além de incluir marcadores associados à imaturidade celular. Segue-se para a segunda etapa, que utiliza anticorpos direcionados à linhagem maligna, com a intenção de subclassificar o tipo de leucemia, conforme o estágio de caracterização da célula tumoral. Uma terceira etapa consiste em avaliar o conteúdo de DNA das células neoplásicas por citometria, usando reagentes que intercalam no DNA, por meio da PCR, ou análise do RNA ⁽¹⁰⁾. A identificação de alterações genéticas específicas concede o tratamento do paciente, no caso de colaborar, entre usar um tratamento mais agressivo ou mais leve, de acordo com o risco de cada paciente ^(14,17).

A citogenética se faz importante por auxiliar não apenas no diagnóstico, mas também na classificação, no prognóstico, no acompanhamento evolutivo, na orientação e no monitoramento terapêutico das leucemias⁽¹⁸⁾.

Algumas alterações genéticas da LMA podem ocorrer através de translocações, inversões cromossômicas ou trissomias, conforme indica a tabela 4.

Tabela 4 – Alterações cromossômicas encontradas na LMA

Análise citogenética: cromossomos anormais na LMA			Frequência	
Anormalidades	Fusão de genes	Subtipo	Crianças (%)	Adultos (%)
t(8;21)(q22;q22)	AML1-ETO	M2/M1	10-15	8-12
inv(16)(p13q22)	CBFβ-MYH11	M4eo	6-12	8-12
t(15;17)(q22;q21)	PML-RARα	M3/M3v	8-15	8-10
t(9;11)(p22;q23)	MLL-AF9	M5a	8-10	1-2
t(3;21)(q26;q22)	AML1-EAP/EVII	-	1	< 1
t(6;9)(p23;q34)	DEK-CAN	M1/M2	1-2	Rara
inv(3)(q21;q26)	EVII	-	< 1	1-2
t(1;22)(p13q13)	OTT-MAL	M7	2	< 1
Trissomia do 8	-	-	1-4	3-5
Trissomia do 11	-	M1/M2	-	< 1
Complexo	-	-	6	10-20

As alterações cromossômicas mais observadas na LMA são as deleções. E ainda cerca de 70-80% dos casos apresentam aberração cromossômica no diagnóstico. Para que haja uma análise citogenética satisfatória vários detalhes devem ser observados, tais como amostra com células blásticas, e isto o modo de coleta deve ser feito de forma crítica pois deve-se evitar a hemodiluição bem como a aspiração de conteúdo insuficiente, o que pode alterar o resultado. Outro fator importante é que a coleta deve ser feita antes de se iniciar a quimioterapia, deve-se usar anticoagulante adequado no caso da heparina sódica. ^(13,19).

Nessa análise pode-se observar que há uma identificação de genes que são implicados na patogenicidade da doença, que devem ser analisados pela citogenética. Já as alterações citogenéticas da LLA têm alterações de cariótipo no diagnóstico. As LLA então são hipodiploides em geral com trissomias dos cromossomos 4,6,8,10,21,22 e X tendo estes bons prognósticos, outras alterações como a hipodiploidia ou para-ploidia são raras e têm por isso um prognóstico desfavorável ^(12,20).

Em relação às mutações mais frequentes da LLA, as mutações nos genes da via RAS-PI3K podem acontecer nesta via poligênica tendo origem intrauterina da LLA. Em relação a LMA tem-se uma grande heterogeneidade genética, sendo muito observadas mutações nos genes FLT3 que codifica um receptor tirosina quinase ativando os processos celulares que culminam no apoptose celular. Dois tipos de mutações são comuns nesse gene: a FLT3-ITD e FLT3-TKD ^(16,17). Segue algumas das principais alterações cromossômicas (tabela 5) encontradas nas LLAs.

Tabela 5 – Principais alterações cromossômicas encontradas nas LLAs

Anomalia	Imunofenótipo	t(17;19)(q23;p13)	pró B
t(1;3)(p34;p21)	pró B	-20	pré B ou comum
t(1;7)(p32;q34)	cél T	t(11;14)(p15;q11)	T
t(1;11)(p32;q23)	pré B	t(4;11)(q21;q23)	pró B/mista
t(1;19)(q23;p13)	pré B	del 6q	B
t(2;14)(p13;q32)	pré B	t(7;7)(p15;q11)	T
t(5;14)(q31;q32)	pré B	t(7;10)(q34;q24)	T
dic(7;9)(p11;p11)	pré B	t(7;11)(q35;p13)	T
t(7;9)(q35;q34)	cél T	t(7;19)(q34;p13)	T
dic(7;12)(p11;p12)	pró B	t(8;14)(q24;q11)	T
t(9;22)(q34;q11)	pró ou pré B	t(9;22)(q34;q11)	B
dic(9;12)(p11;p12)	pré B	dup(1p12-31)	B
t(12;13)(p13;p14)	T ou B	t(2;8)(p12;q24)	B
dic(12;17)(p11;p11)	T ou B	t(8;14)(q24;q32)	B
t(12;17)(p12;q21)	pré B	t(8;22)(q24;q11)	B

Fonte: <https://www.fleury.com.br/medico/manuais-diagnosticos/hematologia-manual/citogenetica-classica-molecular>

CONCLUSÃO

O diagnóstico laboratorial das doenças leucêmicas e linfoides são complexas e devem ser entendidas de maneira clara e precisa, para além do conhecimento próprio o esclarecimento de dúvidas, os principais exames utilizados devem ser vistos de forma natural pelo biomédico e compreendidos em sua totalidade. Este estudo de revisão ajuda o profissional nessa parte do entendimento.

Além disso, é visto a importância de se saber diferenciar cada classificação das doenças mieloides, pois isso influencia no seu diagnóstico bem como no tratamento em si, por isso o biomédico tem grande importância no espaço multiprofissional que esta doença traz.

Por fim, fora visto que se atingiu o objetivo proposto para que os leitores possam compreender de forma simples o processo e o diagnóstico laboratorial bem como as classificações das doenças mieloides, bem como sua diferenciação em leucemias mieloides e linfomas agudos.

REFERÊNCIAS

- 1 Gartner LP, Hiatt JL. Tratado de Histologia. 2ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan; 2003.
- 2 Ross MH, Pawlina W. Histology: A text and atlas: With correlated cell and molecular biology (6th ed.). Philadelphia: Lipincott Williams & Wilkins; 2010.
- 3 Hamerschlak Nelson. Leucemia: fatores prognósticos e genética. *Jornal de Pediatria online*. 23 out 2008;84(4):S52-S57. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0021-75572008000500008>
- 4- Silva GC, Pilger DA, Castro SM, Wagner. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. *Bras Patol. med. Lab.* 2006;42(2):77-84. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbpm/a/C6NQ7KQYbZNsdpp7TGW7vpk/?format=pdf&lang=pt>
- 5 FARIAS GM, Castro SM. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*. 2004;91-98. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1676-24442004000200008>.
- 6 Alves da Cruz H, Karina Lang D. Exames Laboratoriais e Aspectos Celulares no Diagnóstico de Leucemia Mielóide Aguda: Uma revisão da literatura. *REVISTA DE EXTENSÃO E INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UNISOCIESC*. 5 nov 2022;9(2).
- 7 Lopes Antônia de Jesus Rosa, Marques Amilton. Exames Laboratoriais Para Diagnóstico e Acompanhamento Terapêutico em Pacientes com Leucemia Mielóide Aguda. 9 dec. 2020. Fundação de Ensino e Pesquisa do Sul de Minas. [Acesso em: 13 out. 2022.]; Disponível em: <http://repositorio.unis.edu.br/handle/prefix/1440>.
- 8 Helman R, Santos FP de S, Simões B, Atta EH, Callera F, Dobbin J de A, et al. Acute myeloid leukemia: update in diagnosis and treatment in Brazil. *Einstein (São Paulo) [Internet]*. Einstein. 2011 Apr;9(2):179–83. Available from: <https://doi.org/10.1590/S1679-45082011AO1853>
- 9 Murador Priscila, Deffune Elenice. Aspectos estruturais da membrana eritrocitária. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia [online]*. 2007;29(2): 168-178 [Acessado 21 março 2023]; Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1516-84842007000200016>
- 10- Oliveira CC. Perfil epidemiológico de pacientes com leucemia mielóide aguda. [Trabalho de Conclusão de Curso]; Santa Maria, RS: Mestre em Ciências da Saúde; 2021. Disponível em: https://repositorio.ufsm.br/bitstream/handle/1/24204/DIS_PPGCS_2021_OLIVEIRA_CAROLINE.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- 11- Silva L. Leucemia Mielóide Aguda. [Trabalho de Conclusão de Curso] - Pós Hematologia avançada. São Jose do Rio Preto, SP: Universidade de São Jose do Rio Preto; 2012. Disponível em: ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/bibliotecadigital/hematologia/serie_branca/leucemias_linfomas_mieloma/leucemias/63.pdf
- 12- Hilário WF, Hilário LSM. Principais alterações hematológicas da Leucemia linfocítica aguda (LLA). *Pecibes*. 2021;1(1):13-17. Disponível em: <https://periodicos.ufms.br/index.php/pecibes/article/view/13323>
- 13- Fleury Hematologia. (site de busca), 2023. Disponível em: <https://www.fleury.com.br/medico/manuais-diagnosticos/hematologia-manual/leucemia-mielóide-cronica>
- 14- Fadel AP. Investigação Laboratorial de LLA. *AC&T Científica*. 2013;1(1):1-10. Disponível em: https://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/artapfadel.pdf
- 15- Dutra RA, et al. A importância do hemograma no diagnóstico precoce da leucemia. *REAS/EJCH*, 2020;12(7):1-8. Disponível em: <https://acervomais.com.br/index.php/saude/article/view/3529/2138>

16- Sanchez LHB. Diagnostico Laboratorial das Leucemias Agudas. [Trabalho de conclusão de curso]. São José do Rio Preto: Acadêmica de Ciência e Tecnologia; 2020. Disponível em: http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie_branca/leucemias_linfomas_mieloma/leucemias/79.pdf

17-Carloto FM, Gelain AP, Zanotelli C, Weber D. Leucemia Megacarioblástica aguda: Um relato de Caso. Hematol Transfus Cell Therapy. 2022;44(52):169. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S253113792200400X?token=1316D5D0EF44E09A071C9960EB0F8450F1C663DDF510AED6987A8FA59B4B6F3CCD6C6B01D9460441760CAE743B17B9F0&originRegion=us-east-1&originCreation=20230501224219>

18- Cruz HÁ, Lang DK. Exames laboratoriais e aspectos celulares no diagnóstico de leucemia mieloide aguda: uma revisão da literatura. [Trabalho de Conclusão de Curso] Florianópolis: Universidade Sociedade Educacional de Santa Catarina- SC; 2021. Disponível em: <https://repositorio.animaeducacao.com.br/bitstream/ANIMA/25957/1/TCC%20FINAL.pdf>

19- Santos-Bueno FVD, Cabral YDS, Silva PVB, Lima SCS, Pombo-De MS. Mutações na via RAS-PI3K nas leucemias linfoblasticas agudas da primeira infância. Hematology, Transfusion and Cell Therapy. 2021;44(2):180-181. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2531137922004205>

20- Bonzuada HFA, et al. Mutações da via RAS-PI3K nas leucemias linfoblasticas agudas da primeira infância. Hematology, Transfusion and Cell Therapy. 2022;44(2):51-69. Disponível em: <https://reader.elsevier.com/reader/sd/pii/S2531137922004205?token=00FDAAE63B4A1C332EDFFB892F57D2B41450B49AC65BEFA95384A1098E39EE56FEB1CC043030BDC7B682E10191C950CE&originRegion=us-east-1&originCreation=20230502010848>