v7.n7.2026

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

A IMUNOFENOTIPAGEM E SUA RELEVÂNCIA NO DIAGNÓSTICO DAS LEUCEMIAS: UMA ANÁLISE DA LITERATURA

IMMUNOPHENOTYPING AND ITS RELEVANCE IN THE DIAGNOSIS OF LEUKEMIAS: A LITERATURE ANALYSIS

INMUNOFENOTIPIFICACIÓN Y SU RELEVANCIA EN EL DIAGNÓSTICO DE LAS LEUCEMIAS: ANÁLISIS DE LA LITERATURA

Éverton José Ferreira de Araújo[1], Janyerson Dannys Pereira da Silva[2], José Felipe Pinheiro do Nascimento Vieira[3], Maria Clara Sales Rodrigues[4], Julianna Jesus Moura Leandro[4]

e778576
https://doi.org/10.47820/recima21.v7i7.8576

PUBLICADO: 07/2026

RESUMO

O diagnóstico e a classificação das leucemias exigem uma abordagem integrada e multidimensional, na qual a imunofenotipagem por citometria de fluxo se consolidou como ferramenta essencial e pilar diagnóstico segundo a Organização Mundial da Saúde. O método permite identificar linhagens celulares, estágios de maturação e monitorar a resposta terapêutica através da análise de antígenos específicos. O presente estudo constitui uma revisão narrativa da literatura, realizada a partir de artigos científicos de livre acesso sobre imunofenotipagem aplicada ao diagnóstico das leucemias agudas e crônicas. Nas leucemias agudas, marcadas pela proliferação de blastos imaturos, a técnica é fundamental para distinguir a linhagem mieloide da linfoide. A leucemia mieloide aguda associa-se inicialmente aos marcadores CD34 e HLA-DR, além de antígenos como CD13, CD33, CD117 e MPO, cujas combinações auxiliam no mapeamento dos subtipos da classificação FAB, destacando-se também o receptor CD371 como promissor para monitorar a doença residual mínima. Já na leucemia linfoide aguda, a técnica diferencia as linhagens B, que expressam marcadores como CD19, CD20 e CD79a, e T, caracterizada por CD2, CD3, CD5 e CD7. Nas neoplasias crônicas, que mantêm o amadurecimento celular, a aplicação da técnica varia. Enquanto na leucemia mieloide crônica o foco primário reside na identificação genética do rearranjo BCR::ABL1, servindo a imunofenotipagem como suporte prognóstico, na leucemia linfoide crônica o método é critério obrigatório para confirmar a clonalidade através do perfil típico CD5 e CD23 positivos. Por fim, o sucesso da técnica depende de painéis multiparamétricos padronizados, pois nenhum marcador isolado diferencia células normais de neoplásicas.

PALAVRAS-CHAVE: Neoplasias hematológicas. Leucemia. Imunofenotipagem.

ABSTRACT

The diagnosis and classification of leukemias require an integrated, multidimensional approach, in which flow cytometry immunophenotyping has established itself as an essential tool and a diagnostic pillar according to the World Health Organization. This method allows the identification of cell lineages and maturation stages, as well as the monitoring of therapeutic response through the analysis of specific antigens.

[1] Universidade Federal do Piauí. Campus Ministro Petrônio Portella. Teresina (PI). Docente de Hematologia Clínica para Farmácia. Doutor em Biotecnologia (RENORBIO-UFPI).
[2] Universidade Federal do Piauí. Campus Ministro Petrônio Portella. Teresina (PI). Docente de Fisiologia. Doutor em Farmacologia (UNIFESP).
[3] Farmacêutico-bioquímico. HU Brasil. Hospital Universitário da UFPI. Teresina (PI). Mestre em Medicina Tropical (FIOCRUZ).
[4] Universidade Federal do Piauí. Campus Ministro Petrônio Portella. Teresina (PI). Discente do curso de Bacharelado em Farmácia.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

REVISTA CIENTÍFICA - RECIMA21 ISSN 2675-6218

This study is a narrative literature review based on open-access scientific articles addressing the application of immunophenotyping in the diagnosis of acute and chronic leukemias. In acute leukemias, characterized by the proliferation of immature blasts, the technique is fundamental for distinguishing between myeloid and lymphoid lineages. Acute myeloid leukemia is initially associated with CD34 and HLA-DR markers, alongside antigens such as CD13, CD33, CD117, and MPO, whose combinations help map the subtypes of the FAB classification; the CD371 receptor also stands out as a promising marker for monitoring minimal residual disease. In turn, acute lymphoblastic leukemia differentiates B-cell lineages, which express markers like CD19, CD20, and CD79a, from T-cell lineages, characterized by CD2, CD3, CD5, and CD7. In chronic neoplasms, which maintain cellular maturation, the application of the technique varies. While in chronic myeloid leukemia the primary diagnostic focus relies on the genetic identification of the BCR::ABL1 rearrangement, with immunophenotyping serving as prognostic support, in chronic lymphocytic leukemia the method is a mandatory criterion to confirm clonality through the typical CD5 and CD23 positive profile. Ultimately, the success of the technique depends on standardized multiparametric panels, as no single marker can differentiate normal cells from neoplastic ones.

KEYWORDS: *Hematologic neoplasms. Leukemia. Immunophenotyping.*

RESUMEN
El diagnóstico y la clasificación de las leucemias requieren un enfoque integrado y multidimensional, en el cual la inmunofenotipificación por citometría de flujo se ha consolidado como una herramienta esencial y un pilar diagnóstico según la Organización Mundial de la Salud. Este método permite identificar linajes celulares y estadios de maduración, así como monitorear la respuesta terapéutica mediante el análisis de antígenos específicos. Este estudio es una revisión narrativa de la literatura, basada en artículos científicos de libre acceso sobre inmunofenotipificación aplicada al diagnóstico de leucemias agudas y crónicas.En las leucemias agudas, caracterizadas por la proliferación de blastos inmaduros, la técnica es fundamental para distinguir el linaje mieloide del linfoide. La leucemia mieloide aguda se asocia inicialmente con los marcadores CD34 y HLA-DR, además de antígenos como CD13, CD33, CD117 y MPO, cuyas combinaciones ayudan a mapear los subtipos de la clasificación FAB; también destaca el receptor CD371 como un marcador prometedor para monitorear la enfermedad residual mínima. Por su parte, en la leucemia linfoide aguda se diferencian los linajes B, que expresan marcadores como CD19, CD20 y CD79a, y T, caracterizados por CD2, CD3, CD5 y CD7. En las neoplasias crónicas, que mantienen la maduración celular, la aplicación de la técnica varía. Mientras que en la leucemia mieloide crónica el enfoque diagnóstico primario radica en la identificación genética del reordenamiento BCR::ABL1, sirviendo la inmunofenotipificación como soporte pronóstico, en la leucemia linfocítica crónica el método es un criterio obligatorio para confirmar la clonalidad a través del perfil típico CD5 y CD23 positivos. Finalmente, el éxito de la técnica depende de paneles multiparamétricos estandarizados, ya que ningún marcador aislado diferencia las células normales de las neoplásicas.

PALABRAS CLAVE*: Neoplasias hematológicas. Leucemia. Inmunofenotipificación.*

INTRODUÇÃO

As leucemias representam um conjunto amplo e heterogêneo de doenças malignas caracterizadas pela proliferação descontrolada de células do sistema hematopoiético. Diante da complexidade dessas patologias, o diagnóstico preciso requer uma abordagem multidimensional,

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

integrando morfologia, citoquímica, imunofenotipagem, citogenética e biologia molecular (QUIXABEIRA; SADDI, 2008).

Nesse contexto, a imunofenotipagem por citometria de fluxo destaca-se como um método de extrema importância, pois permite a análise simultânea de milhares de células e a identificação de antígenos de superfície e intracitoplasmáticos com a determinação do estágio de maturação e a linhagem das células envolvidas. Os avanços tecnológicos e a incorporação da biologia molecular consolidaram a imunofenotipagem como método de escolha para caracterização das leucemias, síndromes mielodisplásicas, neoplasias linfoproliferativas e gamopatias monoclonais (DUARTE, 2013; MARTINS; FALCÃO, 2000; FALCÃO; DALMAZZO, 2007).

A imunofenotipagem constitui uma ferramenta essencial na investigação diagnóstica das leucemias, uma vez que possibilita a caracterização detalhada das células neoplásicas com base na expressão de marcadores antigênicos específicos. Além do exposto, a técnica contribui para a classificação dos diferentes tipos de leucemia e auxilia na definição do prognóstico, na escolha de estratégias terapêuticas mais adequadas e no monitoramento da resposta ao tratamento (REGO; SANTOS, 2009; ZHONG *et al*., 2022).

Ademais, a classificação mais recente da Organização Mundial de Saúde (OMS) para tumores hematológicos (WHO-HAEM5, 5ª edição, 2022) não trata a imunofenotipagem apenas como um exame complementar, mas como um dos pilares diagnósticos de leucemias e demais neoplasias hematológicas, devendo ser utilizada de modo integrado com a morfologia, a citogenética e os métodos moleculares (ALAGGIO *et al.,* 2022).

Apesar dos avanços diagnósticos, a diversidade de marcadores imunofenotípicos e a complexidade de interpretação dos perfis celulares ainda dificultam a padronização dessa metodologia no diagnóstico das leucemias (SAFT, 2023). Dessa forma, surge a necessidade de reunir e discutir os principais aspectos técnicos e diagnósticos da imunofenotipagem, visando ampliar a compreensão de sua relevância no contexto hematológico.

O presente trabalho constitui uma revisão narrativa da literatura, de natureza qualitativa e descritiva com o objetivo de apresentar um levantamento bibliográfico da aplicação da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico de leucemias agudas e crônicas com base em artigos científicos de livre acesso. Como objetivos específicos, busca-se apresentar o estado da arte e identificar os principais marcadores imunofenotípicos aplicados no diagnóstico das neoplasias hematológicas mencionadas e discutir sua contribuição para classificação, diagnóstico diferencial e prognóstico clínico.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

METODOLOGIA

Para a seleção dos estudos analisados na presente pesquisa, foram consultadas as bases de dados eletrônicas *Scielo* (*Scientific Electronic Library Online*) e *Pubmed* (*National Center for Biotechnology Information*). Foram incluídos artigos de pesquisa original e revisões de literatura publicados no recorte temporal compreendido entre 2000 e 2025 (no *Scielo*) e entre 2015 e 2025 (no *Pubmed)*, nos idiomas português, inglês e espanhol de livre acesso, selecionados a partir da associação dos descritores e operadores booleanos: diagnóstico e citometria de fluxo e imunofenotipagem e leucemia mieloide (ou leucemia linfoide). Foram excluídos estudos em duplicidade, resumos de eventos científicos, cartas ao editor e artigos cujo foco principal estivesse fora do escopo do mapeamento de marcadores, como por exemplo, estudos de caso. A análise dos dados ocorreu de forma descritiva, qualitativa, mediante leitura inicial dos resumos dos artigos que tratavam dos subtipos de leucemia (LMA – leucemia mieloide aguda; LLA – leucemia linfoide aguda; LMC – leucemia mieloide crônica e LLC – leucemia linfoide crônica). Foram selecionados os artigos que após sua leitura integral apresentavam os marcadores imunofenotípicos utilizados na aplicação diagnóstica das leucemias. As informações foram organizadas com base nas combinações de marcadores típicos de cada linhagem permitindo a síntese das evidências apresentadas nesta revisão.

APLICAÇÃO NAS LEUCEMIAS AGUDAS

Classicamente as leucemias agudas podem ser classificadas em leucemias mieloides agudas e leucemias linfoides agudas. A LMA compreende um grupo heterogêneo de neoplasias hematopoiéticas caracterizadas pela proliferação clonal de precursores mieloides imaturos (blastos) com fatores de risco ambientais, como por exemplo, radiações ionizantes, leucemogênese associada a mutações genéticas somáticas e maior agressividade. Nessa perspectiva, tem-se inicialmente que células hematopoiéticas imaturas são caracterizadas por alta expressão do marcador CD34 e que as células iniciadoras da leucemia (Leukemic Stem *Cells* – LSCs) concentram-se principalmente em compartimentos com perfil CD34+/CD38- (WEEDA *et al*., 2022; ALLY; CHEN, 2024; SHIMONY *et al.,* 2025). Outrossim, a imunofenotipagem da LMA pode complementar a classificação genômica e permitir o monitoramento da eficácia terapêutica (LUCAS; HERGOTT, 2023).

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

As leucemias agudas, tanto mieloides quanto linfoides, representam emergências hematológicas que exigem diagnóstico rápido e preciso. A LMA, por sua vez, caracteriza-se pelo bloqueio maturativo. Assim, à medida que a diferenciação celular progride, os progenitores diminuem gradualmente a expressão de marcadores de precursores hematopoiéticos CD34 e HLA-DR (antígeno leucocitário humano MHC de classe II), assim como de CD45 (antígeno leucocitário comum encontrado na superfície de células hematopoiéticas nucleadas), enquanto aumentam a expressão de marcadores específicos. Dito isso, os principais marcadores imunofenotípicos que são positivos em neoplasias agudas mieloides incluem CD13, CD33, CD117 e mieloperoxidase (MPO). Além deles, existem os marcadores imunofenotípicos específicos de componentes celulares de linhagem mieloide que podem estar comprometidas no contexto de uma LMA, isto é, marcadores de componente eritroide, monocítico e trombocítico (Silva *et al.,* 2006; Ally; Chen, 2024).

As LMA são ainda morfologicamente subclassificadas em oito subtipos segundo o tradicional sistema de classificação Franco-Americano-Britânico (FAB), quais sejam: LMA M0 – LMA sem diferenciação morfológica (indiferenciada); LMA M1 – LMA com mínima diferenciação morfológica; LMA M2 – LMA com diferenciação (componente monocítico < 20%); LMA M3 – LMA promielocítica; LMA M4 – LMA mielomonocítica; LMA M5 – LMA monocítica; LMA M6 – eritroleucemia e LMA M7 – LMA megacarioblástica. A classificação FAB retomou relevância clínica devido ao uso do inibidor de BCL-2, venetoclax, que demonstrou menor eficácia em doenças com características monocíticas (subtipos M4/M5). Estudos indicam que a morfologia clássica revela nuances funcionais de resistência ao tratamento não identificadas apenas por análises genômicas modernas (SILVA *et al.,* 2006; PETERS; ANSARI, 2011; POLLYEA, 2025).

A partir daí, tem-se que na LMA M0 pelo menos um marcador mieloide (CD13, CD33 ou CD117) é positivo nos blastos. A LMA M1 apresenta padrão imunofenotípico similar ao da LMA indiferenciada, porém, com expressão de MPO, assim como ocorre na LMA M2. Contudo, na LMA M2 os blastos expressam CD15. Na LMA M3 tem-se caracteristicamente a negatividade para o marcador HLA-DR. Os blastos da LMA M4 e M5 expressam os marcadores monocíticos (CD4, CD11c, CD14, CD15 e CD64), sendo que em LMA M5 é comum a baixa expressão do antígeno CD4 e negatividade para o CD34. Por seu turno, LMA M6 e LMA M7 irão expressar marcadores eritroide (glicoforina A, proteína eritrocitária transmembrana também conhecida como CD235a) e plaquetários (CD41 e CD61), respectivamente (MARTINS; FALCÃO, 2000; SILVA *et al.,* 2006; MERINO, 2010; FERNANDES *et al*., 2024).

Além dos marcadores clássicos apresentados, o estudo de Weeda *et al*. (2022) apresenta o marcador CD371 (*C-type Lectin-Like Molecule-1*) como promissor tanto no

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

diagnóstico quanto no tratamento de LMA. Trata-se de um receptor inibitório que participa da regulação da resposta imune inata que não é expresso nas células-tronco hematopoéticas normais (HSCs) e encontra-se presente em 85 a 92% dos casos de LMA o que permite separar células-tronco leucêmicas das células normais. Ao mesmo tempo, o marcador possui potencial para monitoramento de Doença Residual Mínima (DRM) e vem sendo explorado como alvo para CAR-T e imunoterapia.

Convém observar que mesmo pacientes com remissão morfológica do quadro leucêmico (<5% de blastos) podem apresentar DRM detectável por citometria de fluxo, uma vez que a técnica é capaz de detectar aproximadamente 1 célula leucêmica em 10.000 células normais (10^{-4}). Nesse sentido, a positividade para DRM indica alta probabilidade de recidiva, enquanto a negatividade para DRM caracteriza remissão completa (RC) profunda com baixo risco de recidiva. Dentre os principais marcadores imunofenotípicos úteis para a detecção da DRM por citometria de fluxo têm-se: HLA-DR, CD11b, CD13, CD14, CD15, CD19, CD33, CD34, CD38, CD56, CD64, CD117. A DRM não é definida pela presença de um marcador isolado, mas pela identificação de combinações anormais de marcadores (PETERS; ANSARI, 2011; RÖHNERT *et al*., 2022).

Quanto à LLA, principal leucemia do público infantil, tem-se acúmulo de precursores linfoides B ou T (linfoblastos) neoplásicos na medula óssea e/ou no sangue periférico. O diagnóstico dessas leucemias é feito pela classificação morfológica FAB (L1, L2 ou L3) associada a características do perfil imunológico de malignidades de células T ou B, com base no perfil de expressão de anticorpos monoclonais (AcM) direcionados contra antígenos de diferenciação celular por citometria de fluxo. Assim, a imunofenotipagem é uma importante ferramenta para diagnóstico diferencial entre leucemia linfoide T ou B. Nas formas de linhagem B (LLA-B) há expressão de CD19, CD20, CD22, CD79a, imunoglobulinas e cadeias leves de imunoglobulinas κ e λ. Já nas variantes de linhagem T (LLA-T) há costumeiramente expressão dos marcadores CD2, CD3, CD5, CD7, CD4/CD8 (simples ou duplo positivo) e negatividade para o HLA-DR. Destaca-se que HLA-DR positivo sugere LLA-B ou LMA, enquanto HLA-DR negativo chama atenção para LLA-T ou, principalmente, para leucemia promielocítica aguda (LMA M3) (FARIAS; CASTRO, 2004; SILVA *et al*., 2020; DORFMAN, 2025).

Existem, também, diferentes possíveis estágios de maturação da célula linfoide que podem ser transformados pela leucemia. Historicamente, tendo em vista tais estágios maturativos, considerava-se, então, como subclassificação da LLA: LLA Pró-B, LLA Pré-Pré-B (Comum), LLA Pré-B, LLA Pró-T e LLA Pré-T. Baseado nesse critério os padrões imunofenotípicos relevantes de cada variante de LLA seriam: CD19;CD22;CD79a+ e CD10−

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

(LLA Pró-B); CD10+ (LLA Pré-Pré-B); cadeia μ citoplasmática (cμ)+ e CD34 +/- (LLA Pré-B); cCD3;CD7+ (LLA Pró-T); CD3+/-, CD7+ e CD2;CD5+ (LLA Pré-T) (FARIAS; CASTRO, 2004; ALVES *et al*., 2012; CHIARETTI *et al*., 2014). Quanto ao CD34, destaca-se que ele é frequentemente positivo na LLA-B, assim como nas LMA. Porém, na LLA-T é bastante variável e sua expressão depende principalmente do estágio de maturação em que ocorreu a transformação leucêmica. Em regra, tem-se que em LLA-T imatura, por exemplo, LLA Pró-T e LLA Pré-T, o CD34 frequentemente é positivo, enquanto em LLA-T cortical e LLA-T madura o CD34 geralmente negativo (FARIAS; CASTRO, 2004; ALAGGIO *et al*., 2022; DORFMAN, 2025).

Logo, considera-se que a imunofenotipagem é essencial para a distinção entre LMA e LLA, identificar leucemias bifenotípicas (expressão de marcadores mieloides e linfoides concomitantemente), assim como para detectar blastos aberrantes. Entretanto, a classificação atual da OMS (2022) prioriza a integração de achados imunofenotípicos e genéticos, em detrimento da classificação FAB, predominantemente morfológica (ALAGGIO et al., 2022; ALLY; CHEN, 2024).

APLICAÇÃO NAS LEUCEMIAS CRÔNICAS

Por seu turno, as leucemias crônicas têm como característica marcante a manutenção do amadurecimento celular, diferentemente das leucemias agudas, nas quais, segundo a OMS ocorre anemia, trombocitopenia e a presença de 20% ou mais de blastos (mieloblastos ou linfoblastos) no aspirado de medula óssea ou no sangue periférico. Esse percentual de blastos tipicamente não se associa a leucemias crônicas. As leucemias crônicas caracterizam-se por curso clínico prolongado e acúmulo de células maduras (FARIAS; CASTRO, 2004; SILVA *et al.,* 2006; REGO; SANTOS, 2009).

A LMC é uma neoplasia mieloproliferativa Filadélfia positiva com expansão clonal de uma célula-tronco capaz de se diferenciar em células das linhagens mieloide, monocítica ou megacariocítica e leucocitose evidente. Nesse sentido, a caracterização detalhada de alterações imunofenotípicas em neoplasias mieloides crônicas pode corroborar o diagnóstico diferencial da neoplasia, tendo em vista que a natureza da população blástica pode ser mieloblástica, basofílica, eosinofílica, megacarioblástica, monocítica ou eritroblástica. Existe ainda a possibilidade de ocorrer transformação linfoide em quadros bifenotípicos raros (SOSSELA *et* al., 2017; SAFT, 2023).

Para a LMC é importante destacar que a imunofenotipagem por citometria de fluxo não é o método diagnóstico primário, pois, sua elucidação é focada na demonstração do rearranjo

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

BCR::ABL1 (cromossomo Filadélfia) por cariótipo, FISH ou RT-PCR. Todavia, a imunofenotipagem pode auxiliar no prognóstico e no monitoramento ao sinalizar aumento em contagens celulares específicas e bloqueio maturativo ou, ainda, na distinção de quadros reacionais.

No que concerne à leucemia linfoide crônica (LLC), tem-se como característica marcante a presença de linfocitose persistente. Os linfócitos da LLC expressam tipicamente os marcadores CD19, CD5 e CD23. Além disso, a expressão dos marcadores CD79b, CD22 e de imunoglobulinas de superfície é fraca ou ausente e o marcador FMC7 é sempre negativo na LLC o que auxilia no diagnóstico diferencial de outras neoplasias linfoproliferativas crônicas (LORAND-METZE, 2005).

Nessa esteira, as diretrizes do Grupo Brasileiro de Leucemia Linfocítica Crônica de 2025 estabelecem como critério diagnóstico obrigatório da LLC a confirmação da presença de linfócitos B monoclonais com imunofenótipo específico (CD5+/CD23+) no sangue periférico, com contagem superior a 5 x 10^9/L por mais de 3 meses com avaliação morfológica do esfregaço de sangue periférico e imunofenotipagem por citometria de fluxo do sangue periférico, recomendando painel com os seguintes marcadores: CD19, CD20, CD5, CD23, CD200, CD79b e cadeias leves kappa/lambda (CHIATTONE *et al.*, 2025).

Ademais, destaca-se que a literatura indica que o uso adequado da técnica da imunofenotipagem por citometria de fluxo exige o estabelecimento de um protocolo padronizado e de algoritmos de análise de dados para favorecer o diagnóstico e a classificação mais precisa das leucemias, assim como não existe um único marcador imunofenotípico capaz de distinguir de forma confiável blastos hematopoéticos normais de blastos leucêmicos, o que exige a combinação de múltiplos marcadores em painéis multiparamétricos de citometria de fluxo (WEEDA *et al.,* 2022; ALLY; CHEN, 2024).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A imunofenotipagem por citometria de fluxo consolidou-se como uma das principais ferramentas para o diagnóstico, classificação e monitoramento das leucemias, desempenhando papel indispensável na abordagem integrada preconizada pela OMS. A análise dos estudos revisados evidencia que a interpretação conjunta de painéis multiparamétricos permite identificar com elevada precisão a linhagem celular, o estágio de maturação e os perfis imunofenotípicos característicos das leucemias agudas e crônicas, contribuindo significativamente para o diagnóstico diferencial, a definição prognóstica e a tomada de decisões terapêuticas.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

Além de sintetizar os principais marcadores clássicos empregados na prática clínica para leucemias mieloides e linfoides, esta revisão reúne evidências recentes sobre avanços da imunofenotipagem, destacando a crescente importância da detecção da DRM por citometria de fluxo e o potencial do marcador CD371 como biomarcador para monitoramento e futura aplicação em terapias-alvo na leucemia mieloide aguda. O presente estudo organiza e integra informações atualizadas e oferece um panorama sistematizado que pode auxiliar estudantes, pesquisadores e profissionais da saúde na compreensão da aplicabilidade clínica dos marcadores imunofenotípicos, representando valiosa fonte de consulta.

Desse modo, a utilização de painéis multiparamétricos padronizados, associada à integração entre dados morfológicos, citogenéticos e moleculares, representa o caminho mais consistente para o diagnóstico e o acompanhamento das leucemias. Espera-se que os avanços tecnológicos, a incorporação de novos biomarcadores e a ampliação da padronização dos protocolos de citometria de fluxo contribuam para aumentar a acurácia diagnóstica, otimizar o monitoramento terapêutico e favorecer a implementação de estratégias cada vez mais individualizadas no tratamento das neoplasias hematológicas. Nesse contexto, a padronização dos painéis imunofenotípicos e da interpretação dos resultados permanece como um dos principais desafios para ampliar a reprodutibilidade e o diagnóstico.

QUADRO RESUMO

Quadro 1. Síntese dos marcadores imunofenotípicos aplicados no diagnóstico de leucemias agudas e crônicas conforme levantamento bibliográfico

Leucemia	Principais marcadores	Observações
LMA	CD34, HLA-DR, CD13, CD33, CD117, MPO	Identificação da linhagem mieloide e estágio de maturação (blasto mieloide).
LMA M0	CD13, CD33 ou CD117	Pelo menos um marcador mieloide positivo.
LMA M1	CD13, CD33, CD117, MPO	Expressão de MPO.
LMA M2	CD13, CD33, CD117, MPO, CD15	Diferenciação mieloide com CD15.
LMA M3	CD13, CD33, MPO; HLA-DR negativo	Ausência de HLA-DR.
LMA M4/M5	CD4, CD11c, CD14, CD15, CD64	Diferenciação monocítica; M5: CD34− e baixa expressão de CD4.
LMA M6	CD235a	Linhagem eritroide.
LMA M7	CD41, CD61	Linhagem megacariocítica.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

LLA-B	CD19, CD20, CD22, CD79a, Ig, κ/λ	Define linhagem B.
LLA-T	CD2, CD3, CD5, CD7, CD4/CD8	Define linhagem T.
LLA Pró-B	CD19, CD22, CD79a; CD10−	Estágio inicial B.
LLA Pré-Pré-B	CD10+	Forma comum.
LLA Pré-B	cμ+; CD34+/−	Estágio avançado B.
LLA Pró-T	cCD3, CD7	Estágio inicial T.
LLA Pré-T	CD3+/−, CD7, CD2, CD5	Estágio intermediário T.
LMC	Sem marcador específico	O diagnóstico baseia-se na detecção do rearranjo BCR::ABL1. A imunofenotipagem auxilia no prognóstico e na avaliação da progressão da doença (crise blástica ou quadro de agudização da doença).
LLC	CD19, CD5, CD23, CD20, CD200, CD79b, κ/λ; FMC7−	Confirma clonalidade B.

REFERÊNCIAS

ALLY, F.; CHEN, X. Acute myeloid leukemia: diagnosis and evaluation by flow cytometry. **Cancers**, v. 16, n. 22, p. 3855, 2024. DOI: 10.3390/cancers16223855.

ALVES, G. V. A.; FERNANDES, A. L. A. C.; FREIRE, J. M.; PAIVA, A. S.; VASCONCELOS, R. C.; SALES, V. S. F.; LEMOS, T. M. A. M.; GIL, E. A.; FREIRE, F. H. M. A.; SILVA, D. G. K. C.; MACIEL, J. F. R.; FARKATT, I. G.; JÚNIOR, G. B. C. Flow cytometry immunophenotyping evaluation in acute lymphoblastic leukemia: correlation to factors affecting clinic outcome. **Journal of Clinical Laboratory Analysis**, v. 26, p. 431-440, 2012.

CHIARETTI, S.; ZINI, G.; BASSAN, R. Diagnosis and subclassification of acute lymphoblastic leukemia. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, p. e2014073, 2014. DOI: 10.4084/MJHID.2014.073.

CHIATTONE, C. S.; MARQUES, F. M.; BUCCHERI, V.; YAMAMOTO, M.; FORTIER, S. C.; IKOMA-COLTURATO, M. R. V.; HAMERSCHLAK, N.; FIGUEIREDO, V. L. P.; DA SILVEIRA, T. M. B.; COSTA, A.; LAKS, D.; SCHAFFEL, R.; BARRETO, W. G.; SCHELIGA, A.; FERNANDES, P. A.; NABHAN, S. K.; GAIOLLA, R. D.; GONÇALVES, M. V.; DE FARIAS, D. L. C.; RIBEIRO, G.; DE LACERDA, M. P.; ARRAIS-RODRIGUES, C.; BRAZILIAN GROUP OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA. Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: 2025 recommendations of the Brazilian Group of Chronic Lymphocytic Leukemia of the Brazilian Association of Hematology and Hemotherapy (ABHH). **Hematology, Transfusion and Cell Therapy**, v. 47, n. 2, p. 103822, 2025. DOI: 10.1016/j.htct.2025.103822.

DORFMAN, D. M. The flow cytometric evaluation of B- and T-lymphoblastic leukemia/lymphoma. **Cancers**, v. 17, n. 7, p. 1111, 2025. DOI: 10.3390/cancers17071111.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

DUARTE, A. J. S. (coord.). **Citometria de fluxo: aplicações no laboratório clínico e de pesquisa.** São Paulo: Editora Atheneu, 2013.

FALCÃO, R. P.; DALMAZZO, L. F. F. O valor da imunofenotipagem para o diagnóstico do Mieloma Múltiplo e na avaliação da doença residual mínima. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 29, n. 1, p. 3-9, 2007.

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfoides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 40, n. 2, p. 91-98, 2004.

FERNANDES, A. B. B.; SILVA NETO, A. N.; LIMA, F. R.; BATISTA, S. E. C. Fisiopatologia e diagnóstico de leucemias agudas: uma revisão bibliográfica. **RECIMA21 – Revista Científica Multidisciplinar**, v. 5, n. 11, 2024. DOI: 10.47820/recima21.v5i11.5977.

LUCAS, F.; HERGOTT, C. B. Advances in Acute Myeloid Leukemia Classification, Prognostication and Monitoring by Flow Cytometry. **Clinics in Laboratory Medicine**, v. 43, n. 3, p. 433–452, 2023. DOI: 10.1016/j.cll.2023.04.005.

LORAND-METZE, I. LLC: Critérios diagnósticos, imunofenotipagem e diagnóstico diferencial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 27, n. 4, p. 233-235, 2005.

MARTINS, S. L. R.; FALCÃO, R. P. A importância da imunofenotipagem na leucemia mielóide aguda. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 46, n. 1, p. 57–63, 2000. DOI: 10.1590/S0104-42302000000100009.

MERINO, A. Clasificación de las leucemias agudas mieloides. **Revista del Laboratorio Clínico**, v. 3, n. 3, p. 139-147, 2010.

PETERS, J. M.; ANSARI, M. Q. Multiparameter Flow Cytometry in the Diagnosis and Management of Acute Leukemia. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 135, p. 44-54, 2011. DOI: 10.5858/2010-0387-RAR.1.

POLLYEA, D. A. The French-American-British classification system for acute myeloid leukemia. **Haematologica**, v. 110, n. 10, p. 2246–2247, 2025. DOI: 10.3324/haematol.2025.288546.

QUIXABEIRA, V. B. L.; SADDI, V. A. A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura. **Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC)**, v. 40, n. 30, p. 199-202, 2008.

REGO, E. M.; SANTOS, G. A. S. Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, v. 31, n. 5, 2009. DOI: 10.1590/S1516-84842009005000081.

SAFT, L. The role of flow cytometry in the classification of myeloid disorders. **Pathologie**, v. 44, supl. 3, p. 164–175, 2023. DOI: 10.1007/s00292-023-01272-8.

SHIMONY, S.; STAHL, M.; STONE, R. M. Acute myeloid leukemia: 2025 update on diagnosis, risk-stratification, and management. **American Journal of Hematology**, v. 100, n. 5, p. 860–891, 2025. DOI: 10.1002/ajh.27625.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.

SILVA, G. C.; PILGER, D. A.; CASTRO, S. M.; WAGNER, S. C. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial,** v. 42, n. 2, p. 77-84, 2006. DOI: 10.1590/S1676-24442006000200004.

SILVA, A. S. J.; OLIVEIRA, G. H. M.; SILVA JÚNIOR, L. S. da; FERREIRA, H. H. F.; ARAUJO, M. das G. P.; SOARES, V. L.; FREITAS, R. V.; BAHIA, F.; OLIVEIRA, T. M.; SILVA, D. G. K. C.; SALES, V. S. F.; SOARES, R. D. A.; PAIVA, H. D. de O.; PAIVA, A. S.; CAVALCANTI JÚNIOR, G. B. Clinical Utility of Flow Cytometry Immunophenotyping in Acute Lymphoblastic Leukemia. **Blood**, v. 136, Suppl. 1, p. 8–9, 2020. DOI: 10.1182/blood-2020-142015.

SOSSELA, F. R.; ZOPPAS, B. C. A.; WEBER, L. P. Leucemia Mieloide Crônica: aspectos clínicos, diagnóstico e principais alterações observadas no hemograma. **Revista Brasileira de Análises Clínicas (RBAC)**, v. 49, n. 2, p. 127-130, 2017.

WEEDA, V.; MESTRUM, S. G. C.; LEERS, M. P. G. Flow cytometric identification of hematopoietic and leukemic blast cells for tailored clinical follow-up of acute myeloid leukemia. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 18, p. 10529, 2022. DOI: 10.3390/ijms231810529.

ZHONG, P.; HONG, M.; HE, H.; ZHANG, J.; CHEN, Y.; WANG, Z.; CHEN, P.; OUYANG, J. Diagnosis of acute leukemia by multiparameter flow cytometry with the assistance of artificial intelligence. **Diagnostics**, v. 12, n. 4, p. 827, 2022. DOI: 10.3390/diagnostics12040827.

Este artigo é publicado em acesso aberto (Open Access) sob a licença Creative Commons Atribuição 4.0 Internacional (CC-BY), que permite uso, distribuição e reprodução irrestritos em qualquer meio, desde que o autor original e a fonte sejam creditados.