

Diagnósticos da leucemia linfóide aguda: uma revisão de literatura

Diagnosis of acute lymphoid leukemia: a literature review

Josue Nelio Brutus¹, Edson Júnior do Carmo², Geraldo Majela Soares³

¹Josue Nelio Brutus – Programa de Residência Multiprofissional em Saúde, Universidade Nilton Lins, Av. Prof. Nilton Lins, 3259 - Flores, Manaus - AM, 69058-030 joshua_nel@hotmail.com

²Edson Júnior do Carmo – Instituto de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Amazonas, Av. General Rodrigo Octavio Jordão Ramos, 1200 - Coroado I, Manaus - AM, 69067-005 ejcarmo@ufam.edu.br

²Geraldo Majela Soares – Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado, Av. Pedro Teixeira, s/n - Dom Pedro, Manaus - AM, 69040-000 Gemaso9@hotmail.com

Resumo

A leucemia é uma propagação neoplásica generalizada ou um acúmulo de células hematopoiéticas, envolvendo ou não o sangue periférico. As leucemias são definidas conforme o tipo célula envolvido e o nível de maturação das células. De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a estimativa de casos novos de leucemia para o ano de 2018 e 2019 no Brasil foi de 5.940 casos em homens e 4.860 em mulheres para cada biênio. O objetivo deste trabalho foi mostrar através de uma revisão de literatura os diagnósticos da leucemia linfóide aguda (LLA). A LLA é uma proliferação clonal de precursores linfóides anormais da medula óssea e seus sintomas mais frequentes são astenia, palidez, petéquias, taquicardia, hematomas, manifestações hemorrágicas, febre por neutropenia bacteriana, dispnéia causada por massa mediastinal, dor de cabeça causada pelo envolvimento com o sistema nervoso central, adenomegalia, hepatomegalia e dor óssea. O diagnóstico laboratorial é geralmente baseado no exame morfológico da extensão sanguínea e medula óssea, com uma alta porcentagem de linfoblastos anômalos. Esse exame deve sempre ser complementado com a observação das células através de testes citoquímicos e imunofenotipagem. Sendo esta última sugerida para definição do sublinhado B ou T e estágio de maturação. Vários exames podem ser feitos para

diagnosticar a leucemia, o hemograma pode ser um exame sugestivo, mielograma, citogenética, imunofenotipagem. Os testes imunofenotípicos são muito importantes e são considerados indispensáveis para o resultado diagnóstico da LLA.

Palavras chaves: Leucemia linfóide, diagnóstico, imunofenotípica

Abstract

Leukemia is a generalized neoplastic spread or an accumulation of hematopoietic cells, whether or not involving peripheral blood. Leukemias are defined according to the cell type involved and the level of maturation of the cells. According to the National Cancer Institute (INCA), the estimate of new cases of leukemia for 2018 and 2019 in Brazil was 5,940 cases in men and 4,860 in women for each biennium. The aim of this study was to show through a literature review the diagnoses of acute lymphoid leukemia (ALL). ALL is a clonal proliferation of abnormal bone marrow lymphoid precursors and its most common symptoms are asthenia, pallor, petechiae, tachycardia, bruising, haemorrhagic manifestations, fever due to bacterial neutropenia, dyspnea caused by mediastinal mass, headache caused by involvement with the central nervous system, adenomegaly, hepatomegaly and bone pain. Laboratory diagnosis is usually based on morphological examination of blood and bone marrow extension, with a high percentage of anomalous lymphoblasts. This examination should always be complemented with observation of cells through cytochemical tests and immunophenotyping. The latter being suggested for underline B or T definition and maturation stage. Several tests can be done to diagnose leukemia, the blood count can be a suggestive test, myelogram, cytogenetics, immunophenotyping. Immunophenotypic tests are very important and are considered indispensable for the diagnostic result of ALL.

Keywords: Leukemia lymphoid, diagnosis, Immunophenotypic

1. Introdução

Este trabalho resultou de uma revisão bibliográfica, tendo como tema diagnósticos da leucemia linfóide aguda cujo objetivo é identificar e analisar, através de artigos acadêmicos, as metodologias e diferentes tipos exames que a comunidade científica aponta para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda (LLA). A leucemia é uma propagação neoplásica generalizada ou um acúmulo de células hematopoiéticas,

envolvendo ou não o sangue periférico. Na maior parte dos casos, as células leucêmicas extravasam para o sangue, podendo ser vista em grande número. As leucemias são definidas conforme o tipo célula envolvido e o nível de maturação das células (SILVA, 2006). Sabe-se que a classificação das leucemias ocorre em duas linhagens sendo elas mieloide e linfóide, desenvolvendo-se de forma aguda ou crônica (GUIMARÃES, 2015). É uma proliferação celular não controlada, sem resposta a fatores reguladores da diferenciação celular, com invasão dos tecidos adjacentes e metástases para órgãos distantes, pela disseminação de células através da corrente sanguínea e linfática (LOPES, 2007). De acordo com Verrastro (2002), as neoplasias hematológicas se dividem em: síndromes mielodisplásicas, mieloma múltiplo, gamopatias monoclonais, síndromes mieloproliferativas, leucemias e linfomas

Os fatores de risco representados para leucemias no geral são os produtos químicos como benzeno, hidrocarbonetos, pesticidas, formaldeído, radiação ionizante, tabagismo, drogas ilícitas, álcool, fumaça, gasolina, entre outros. Levando em consideração que, quanto mais contato com esses fatores o indivíduo tiver, maior a probabilidade de desenvolver leucemia (BELSON et al., 2006; SIEGEL e JEMAL, 2015)

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), a estimativa de casos novos de leucemia para o ano de 2018 e 2019 no Brasil foi de 5.940 casos em homens e 4.860 em mulheres para o biênio (INCA, 2017). O câncer pediátrico representa 0,5% e 3% de todas as neoplasias na maioria das populações. Em geral, a incidência total de tumores malignos na infância é maior no sexo masculino.

Dos cânceres infantis, a leucemia é o tipo mais frequente, dentre essas, a Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é de maior ocorrência em crianças na maioria das populações do mundo, com exceção do Japão, da China e do Zimbábue – países onde a LLA é menos frequente que a Leucemia Mielóide Aguda (INCA, 2007). Representa 12% de todos os casos de leucemias mais diagnosticados nos Estados Unidos, sendo que 60% ocorrem em idades inferiores a 20 anos, caracterizando-se como a doença neoplásica mais comum abaixo dos 15 anos de idade (LICHTMANN et al., 2006). Nesta faixa etária, corresponde a aproximadamente um terço de todos os tipos de câncer e a 80% de todas as leucemias (LICHTMANN et al., 2006).

Embora a LLA possa ocorrer em qualquer idade, sua incidência é maior entre crianças de 2 a 5 anos, numa contagem cerca de 70%, diminuindo entre adolescentes e adultos jovens, entre os quais incidências de leucemias agudas e de 20% (LORENZI, 1999; UCKUN et al 1998) voltando a crescer após os 60 anos de idade. Entre crianças a doença é mais comum naquelas de cor branca e do sexo masculino (FALCÃO et al, 2002).

Nos dados cadastrados entre os anos de 2014 e 2015 na base de dados oficiais do INCA demonstrou ter 140 casos de leucemias no país, 70 casos de leucemia mielóide e 70 indivíduos com leucemia linfóide. Moraes (2017) relata ter encontrado 7.807 casos de leucemia no Brasil, entre 2007 a 2011, obtendo uma média anual de 1.951 casos. É possível visualizar que esse dado se mostra superior em relação aos encontrados no INCA, visto que a qualidade das informações depende do registro e do ano (SILVA, 2009). Oliveira (2017), afirma que o registro incompleto de diversos prontuários e ausência de informações impossibilitaram a identificação dos dados e o desenvolvimento de novas políticas públicas de saúde.

Devido a grande importância sobre o acometimento de leucemia, o objetivo deste trabalho é mostrar através de uma revisão de literatura os diagnósticos da leucemia linfóide aguda (LLA).

2. Metodologia

Este estudo constituiu em uma pesquisa qualitativa, realizada através de revisão sistemática bibliográfica literária. A revisão foi baseada em revistas científicas e artigos na base de dados do Scielo Google Acadêmico e periódico CAPES, e complementarmente, em alguns livros para padronização de conceitos e terminologia. Como critérios de seleção foram considerados os artigos com dados que abordassem os métodos para o diagnóstico da Leucemia Linfóide Aguda utilizando com palavras chaves: Leucemia linfóide, diagnóstico, imunofenotipagem em um período compreendido entre 1989 a 2017.

3. Leucemias

A medula óssea é um tecido esponjoso, que ocupa a cavidade central do osso e onde ocorre o desenvolvimento de células sanguíneas. Um pequeno grupo de células, denominadas células-tronco hematopoiéticas, é responsável por produzir todas as células sanguíneas no interior da medula óssea. O processo de formação das células sanguíneas é chamado hematopoese (ABRALE, 2009). O termo leucemia refere-se a um grupo de doenças complexas e diferentes que afetam entre si a produção dos leucócitos na medula óssea (HAMERSCHLAK, 2008).

A característica comum a todas as leucemias é uma proliferação desregulada, na medula óssea, de uma célula hematopoiética. A célula leucêmica cresce mais que os elementos normais e os substitui em todas as áreas da medula, conseqüentemente, a medula aspirada de qualquer local vai revelar infiltrado leucêmico. As leucemias apresentam sintomas e sinais inespecíficos, que podem simular o quadro clínico de muitas

patologias, entre elas a artrite reumatóide juvenil, febre reumática, lúpus eritematoso sistêmico, púrpura trombocitopênica idiopática, aplasia medular e mononucleose infecciosa, entre outras (BARBOSA, 2002). Portanto faz-se necessário o diagnóstico diferencial.

As leucemias podem ser divididas de acordo com a linhagem celular sanguínea acometida em mielóide e linfóide e, de acordo com sua evolução, o prognóstico varia desde as que conduzem rapidamente à morte até as que evoluem com lentidão, sendo, respectivamente classificadas em agudas ou crônicas. Portanto, são definidos classicamente quatro tipos principais de leucemias: Leucemia Mielóide Aguda (LMA), Leucemia Mielóide Crônica (LMC), Leucemia Linfóide Aguda (LLA) e a Leucemia Linfóide Crônica (LLC) (SÁNCHEZ et al., 2007; SANTOS, 2013).

Nas leucemias agudas a alteração mutacional que acomete na célula progenitora hematopoiética, iniciadora do processo leucemogênico, causa a perda da capacidade de maturação celular, resultando em acúmulo de células imaturas, chamadas blastos na medula óssea e sangue periférico. Já nas leucemias crônicas, a mutação que acomete o progenitor mantém a capacidade de diferenciação e maturação celular, resultando em acúmulo de células maduras na medula óssea, sangue periférico e tecidos linfóides e, conseqüentemente um quadro de leucocitose. Pode-se ainda observar a migração das células leucêmicas para outros órgãos como baço, fígado e sistema nervoso central (SNC) (OLIVEIRA e NETO, 2004).

3.1 Etiologia

As causas precisas do desenvolvimento desta patologia são desconhecidas. Apenas uma pequena porcentagem dos casos (<5%) está associada com a presença de alguma síndrome genética (Síndrome de Down, Síndrome de Bloom, ataxia-telangiectasia, Síndrome de Nijmegen), com exposição à radiação ionizante e/ou eletromagnética, infecção viral ou drogas quimioterápicas (PIU et al 2008). Anormalidades citogenéticas têm sido demonstradas na maioria das leucemias. Alterações cromossômicas podem inativar o gene supressor de tumor ou ativar os oncogênes, permitindo a proliferação irregular de células hematopoiéticas (MCKENNA, 2000).

Indivíduos com história de câncer na infância apresentam 10 a 20 vezes maior risco de desenvolver um segundo câncer em relação à população normal. O tempo de aparecimento deste segundo câncer não está bem definido, mas 3 a 12 % das crianças desenvolvem nos primeiros 20 anos (PEDROSA e LINS, 2002). Esta variação difere de

acordo com a idade, tipo de tratamento proposto no primeiro câncer, diagnóstico do primeiro câncer, condições genéticas propícias para o aparecimento e outros.

Pacientes conhecidos como de maior risco são os portadores de: doença de Hodgkin, mieloma múltiplo, câncer de ovário, retinoblastoma, tumor de Wilms com história genética, pacientes expostos à radioterapia e agentes alquilantes, pacientes portadores de xeroderma pigmentoso, pacientes com doença de Von Recklinghausen, com síndrome de Klinefelter, etc (LOPES et al, 2000).

3.2 Leucimia Linfóide Aguda

A leucemia linfóide aguda (LLA) tem maior incidência em pacientes de cor branca e entre 2 a 5 anos de idade, diminuindo a frequência na adolescência e na idade adulta, crescendo novamente na faixa etária de 60 anos. O tipo de LLA mais comum (CD10+), de células precursoras B, é a que predomina na infância, com incidência igual em ambos os sexos, enquanto a LLA de células T (LLA-T) tem predomínio no sexo masculino. Esta leucemia aguda é mais frequente na América do Norte, na Oceania e no norte da Europa (MELO et al, 2015).

A leucemia linfóide aguda é uma proliferação clonal de precursores linfóides anormais na medula óssea e tem como sintomas mais frequentes astenia, palidez, petéquias, taquicardia, equimoses, manifestações hemorrágicas, febre devido à neutropenia com favorecimento bacteriana, dispnéia causada pela massa mediastinal, cefaléia causada pelo envolvimento com o sistema nervoso central, adenomegalia, hepatomegalia e dor óssea na criança (MELO et al., 2015).

Certas características clínicas e laboratoriais têm valor prognóstico e servem para estratificá-los em grupos de risco para tratamento. O diagnóstico da LLA é baseado principalmente nas análises morfológica e citoquímica das células neoplásicas. Suas características fenotípicas que permitem definir a linhagem, o grau de maturação, bem como, assincronismos de maturação que permitem diferenciar blastos leucêmicos de precursores linfóides normais, o que é muito útil na detecção de doença residual mínima (FARIAS et al, 2000).

Para a investigação laboratorial da LLA existem quatro métodos importantes: morfológico, imunofenotípico, citogenético e molecular. Esses métodos são geralmente complementares e apresentam diferentes de especificidade, sensibilidade e facilidade de uso (MELLO et al, 2007).

3.3 Classificação da leucemia linfóide aguda

A classificação da leucemia inicia com a análise morfológica de Romanowsky pela coloração de Wright, Wright-Giemsa, ou May- Grunwald-Giemsa da extensão sanguínea ou da medula óssea. A leucemia linfóide aguda é classificada pela Friend-American-Briish (FAB) morfológicamente em três categorias: LLA-L1, LLA-L2 e LLA-L3. Cada um desses subtipos apresenta linfoblastos leucêmicos com características próprias. Na criança, aproximadamente 85% dos casos de LLA é do subtipo LLA-L1, cerca de 14% do subtipo LLA-L2 e 1% do subtipo, LLA-L3 (MELO et al, 2015).

Na LLA-L1 há presença predominante de linfoblastos pequenos com núcleo bastante regular com nucléolo de difícil delimitação ou ausente e cromatina homogênea. Além disso, a relação núcleo/citoplasma é elevada, sendo que o citoplasma apresenta fraca basofilia e raras vacuolizações (MELO et al, 2015). Na LLA-L2 o tamanho do blasto o padrão da cromatina, a relação núcleo/ citoplasma, a vacuolização e a basofilia citoplasmática são variáveis neste subtipo da LLA. O formato do núcleo é irregular e pode apresentar-se clivado. O núcleo é múltiplo e proeminente (MELO et al, 2015). Já na LLA-L3, a predominância é de blastos grandes com padrão de cromatina variável. Já o formato do núcleo também é variável, mas geralmente se apresenta ovalado. Por sua vez, o nucléolo normalmente é múltiplo e proeminente. A relação núcleo/ citoplasma é baixa e a basofilia citoplasmática, intensa, além da vacuolização citoplasmática ser frequente.

Os blastos da LLA-L3 são semelhantes as células do linfoma de Burkitt (MELO et al, 2015). As LLA-L3 correspondem a menos de 3% das LLA em crianças e a menos de 5% em adultos. Estão associadas às alterações citogenéticas que ocasionam as translocações t (8;14) (q24;q23) ou, menos comumente, t(2;8) (q12;q24) ou t (8;22) (q24;q11) (OLIVEIRA, 2015). Imunologicamente, os blastos de L3 possuem expressão de cadeia pesada de imunoglobulina de superfície e monoclonada para cadeia leve kappa ou lambda ou seja LLA(B- IV).

Raros casos podem demonstrar imunofenotípico da LLA pré-B (B-II) ou pré-B (B-III). Estudos relatam com a morfologia típica de LLA- L3 de linhagem T ou linhagem híbrida T e B (bifenotípica). Há descrição de casos com morfologia L3 e cariótipo característico t (8;14) (q24;q32), porem sem imunoglobulina de superfície e cadeias leves kappa ou lambda (compatível com imunofenotípico de LLA de célula B precursora), o que demonstra a importância e a necessidade de que mesmo uma morfologia tão característica requer uma avaliação sob critérios de imunofenotipagem e análise cariotípica (OLIVEIRA, 2015).

Morfologicamente podem ocorrer variantes na LLA, variante granular equivalente as LLA- L2, mas com grânulos azurófilos grosseiros e que são negativos para peroxidase.

Alguns desses casos são reportados em crianças com síndrome de Down e estão associados ao cromossomo Filadélfia (Ph+), correspondente a t(9;22). Raros casos de LLA apresentam-se com pancitopenia e medula hipoplásica. Os linfoblastos podem estar ausentes no sangue inicialmente. Em algumas semanas, a medula torna-se hipercelular e o sangue, eminentemente leucêmico. Também poucos casos de LLA cursam com eosinofilia, que desaparece a remissão, mas pode retornar em casos de recidiva (OLIVEIRA, 2015).

3.4 Classificação OMS

A classificação OMS (Organização Mundial de Saúde), baseando-se em dados de imunofenótipo, cariótipo e biologia molecular, permite a classificação de acordo com a linhagem B ou T. A OMS classifica a LLA como leucemia de células B precursoras, leucemia de células T precursoras ou neoplasia de células B maduras, subtipo Linfoma/Leucemia de Burkitt (PEDROSA e LINS, 2002). As classificações da OMS, tanto a primeira como a revisão de 2008, (VANDMAN et al., 2009), contribuíram de forma direta para que isso ocorresse, pois foram fundamentadas essencialmente nos achados citogênicos e imunofenotípicos. Pelo novo critério da OMS de 2008, as LLA T continuam sem subdivisão, sendo apenas alterada a terminologia inicial de 2001 de leucemia linfoblástica aguda de células T precursoras para o termo leucemia linfoblástica/linfoma de células T (OLIVEIRA et al, 2016).

3.5 Diagnósticos da leucemia linfocítica aguda (LLA)

Devido aos achados clínicos inespecíficos e ao retardo no aparecimento de alterações hematológicas, pode haver um atraso no diagnóstico da leucemia, em períodos descritos na literatura de 2 semanas a 13 meses (OSTROV, 1993; BARBOSA et al 2002). Desta forma, hemogramas seriados são indicados para detectar alterações precoces nos casos com suspeita clínica de leucemia. Uma vez que o diagnóstico precoce é fator determinante no tratamento e evolução das leucemias, o objetivo é alertar pediatras e reumatologistas para esta possibilidade em pacientes com queixas articulares e/ou dor em membros, verificando quais são os fatores que, associados, possam nos direcionar para este diagnóstico (GREENBERG, 1989)

O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas baseiam-se, em grande parte, na análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas. A falta de reprodutibilidade desses critérios e a dificuldade para classificar alguns pacientes têm levado à busca de outros parâmetros. Assim, na atualidade, o diagnóstico e a classificação das leucemias

agudas apóiam-se, em grande parte, nos estudos imunofenotípicos por citometria de fluxo, permitindo avançar na identificação de determinados subgrupos dificilmente classificáveis do ponto de vista morfológico (AKADU et al, 1995)

Nos últimos anos, houve também muitos avanços no campo da biologia molecular, ajudando a compreender melhor a doença e definindo com mais rigor os grupos de risco (FARIAS et al.,2004). A bioquímica da LLA também apresenta varias alterações, entre elas hiperfosfatemia e hipocalcemia em decorrência de alta destruição celular, aumento de acido úrico por metabolismo elevado e aumento do HDL pela alta produção celular (MELO et al., 2015)

O líquido deve ser investigado em todos os casos ao diagnóstico, pois, em 5% dos casos os pacientes possuem infiltração líquórica, na maioria não associado a sintomas neurológicos. Os sinais e sintomas quando presentes incluem: dor de cabeça, náuseas, vômitos, letargia, rigidez da nuca e outras manifestações de aumento da pressão intracraniana (PIZZO et al, 2011)

O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas são um argumento de contínua evolução, visto que permitem a identificação do tipo celular envolvido na leucemogênese, o que é essencial, pois orienta a terapêutica e determina, até certo ponto, o prognóstico (CAVALCANTI, 1997).

3.6 Diagnósticos clínicos

Astenia, palidez, petéquias, taquicardia, equimoses, manifestações hemorrágicas, febre devido à neutropenia com favorecimento bacteriana, dispnéia causada pela massa mediastinal, cefaléia causada pelo envolvimento com o sistema nervoso central, adenomegalia, hepatomegalia e dor óssea na criança, são as sintomas mais frequentes para diagnosticar a LLA (MELO et al, 2015). Alguns casos de LLA correspondem à fase de agudização da LMC, aparecendo a alteração citogenética clássica desta: o cromossomo Ph1. Este é mais frequente na LLA do adulto e indica sempre pior prognostico (TEREZINHA et al.,2003)

Certas viroses da infância costumam causar reação linfocitária intensa, aparecimento de pequena porcentagem de linfócitos jovens circulantes (linfoblastos e prolinfócitos) e atipias celulares que levam a suspeita de LLA. Quando a adenomegalia for muito acentuada e houver baço grande, palpável, associado a quadro purpúrico(plaquetopenia), está indicado o mielograma para diagnostico diferencial entre reação linfocitária e LLA (TEREZINHA et al.,2003).

Além dos achados em clínica e histórico do paciente, o diagnóstico da leucemia é embasado por diversos tipos de exames que podem corroborar e confirmar a suspeita médica.

3.7 Diagnóstico laboratorial

3.7.1 Hemograma

Baseia-se no exame morfológico de esfregaços de sangue e de medula óssea, encontrando-se alta porcentagem de linfoblastos mais ou menos anômalos. Este exame deve ser sempre complementado com observação das células através de testes citoquímicos e imunofenotipagem (VERRASTRO, 2002). Geralmente observam-se anemia e plaquetopenia de grau variável. Na maioria dos casos, há leucocitose, porém em alguns pacientes o número de leucócitos pode estar normal ou diminuído, com blastos linfóides.

O hemograma revela anemias normocrômica e normocítica, trombocitopenia, a contagem dos leucócitos está ocasionalmente muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída. Os blastos são raros ou ausentes em pacientes leucopênicos, mais em casos de leucocitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria (RIZZATTI et al, 2002). Cerca de 60% dos pacientes apresentam leucometria superior a $100.000/\text{mm}^3$. Entretanto, 25% dos pacientes com LLA são leucopênicos leucócitos abaixo de $4.000/\text{mm}^3$ (NAOUM, 2006), nesse caso os blastos são raros ou ausentes (FARIAS et al 2000). Nos casos com leucocitose, os linfoblastos são as células predominantes e são observadas também sobras nucleares ou manchas de Gumprecht. Por outro lado, os indivíduos leucopênicos podem apresentar linfoblastos em pequeno número ou ausentes, situações denominadas por alguns autores “aleucemica” (NAOUM, 2006).

Para o hemograma, é mais prudente apenas descrever as características morfológicas dos blastos, como tamanho, relação núcleo-citoplasmática, padrão de cromatina nuclear, nucléolos (se regular e uniforme ou se irregular ou clivado), padrão de coloração citoplasmática (se leve, moderada ou intensamente basofílica), vacuolização (apenas se estiver presente), e presença ou não de grânulos azurófilos citoplasmáticos, ou no máximo apontar sua provável linhagem (OLIVEIRA et al, 2016).

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

3.7.2 Mielograma

Em quase todos os pacientes com LLA, as descrições do mielograma incluem medula óssea hiper celular com intensa infiltração por linfoblastos (NAOUM, 2006) com substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas, com precursores mielóides e eritróides residuais de aspecto normal e megacariócitos diminuídos ou ausentes (FARIAS et al , 2000).

Pode haver fibrose medular em 10 a 15% dos casos. O material aspirado da medula óssea deve ser submetido à coloração citoquímicas (Sudan black, mieloperoxidase, PAS e esterases) (SCHWARTSMANN, 1991).

O diagnóstico da LLA fundamenta-se na demonstração de mais de 25% de linfoblastos na medula óssea (FALCAO, 2002, LEE et al 1998, MAUER, 1995). A medula encontra-se hiper celular com substituição de espaços adiposos e elementos medular normais por células leucêmicas, com precursores mielóides e eritróides residuais de aspecto normal e megacariócitos diminuídos ou ausentes (LEE, et al 1998)

3.7.3 Citoquímica

Uma regra básica para interpretação das provas citoquímicas em leucemias agudas é que quando uma reação citoquímica específica para o blasto de determinada linhagem celular for positiva, ela faz critério diagnóstico da leucemia aguda para aquela linhagem. Por outro lado quando for negativa, ainda não descarta a possibilidade de diagnóstico da leucemia para aquele linhagem (OLIVEIRA et al, 2016).

A citoquímica é uma técnica de coloração que foi muito utilizada no auxílio diagnóstico, as colorações são usadas para diferenciar as leucemias linfóides agudas (LLA) das não agudas (NLLA). Foram essenciais para a identificação dos subtipos pertencentes a cada um desses grupos principais. As reações mieloperoxidase e sudan Black são úteis para estabelecer e confirmar o diagnóstico da LMA, uma vez que os linfoblastos são uniformemente negativos (LEE et al 1998, UCKUN et al, 1998). Os linfoblastos T revelam atividades paranuclear na esterase inespecífica logo que realizada em pH ácido, tendo uma atividade maior de 75% na fosfatase ácida (UCKUN et al, 1998).

No teste de ácido Periódico de Schiff (PAS), os linfoblastos da LLA frequentemente demonstram uma evidente coloração e forma de anéis concêntricos de grânulos grosseiros ou blocos maciços. Uma PAS negativa é mais frequentes na LLA da linhagem T que na linhagem B (LEE et al 1998, LORENZI, 1999). Os mieloblastos podem ser positivos ou negativos para o PAS; mas quando positivos, não apresentam o

aspecto granular observado nos linfoblastos (LEE et al 1998). A Fosfatase ácida é positiva em graus variáveis na maioria dos leucócitos normais e anormais. Os linfócitos contém pouca atividade; as células T reagem positivamente, as células B são usualmente negativas (HENRY, 1995).

Por fim, uma coloração grosseira e em coroa para o ácido periódico de Schiff (PAS) é característica dos linfoblastos; portanto, blastos positivos em coroa para o PAS, quando associados a peroxidase negativa, faz diagnóstico das leucemias linfoblásticas (LLA), mas uma reação negativa para PAS nos blastos não descarta a possibilidade de LLA(tampouco inclui o diagnóstico da LMA). Então, citocímica negativa pouco contribuiu para o diagnóstico da linhagem de uma leucemia aguda (OLIVEIRA et al 2016) . Na Tabela 01 é mostrada a relação dos tipos morfológicos com os resultados de coloração citocímica.

Tabela: 01 - Relação entre tipo morfológico (FAB) e coloração citocímica

	LMA MO	LMA M1,M2,M3	LMA M4	LMA M5	LMA M6	LMA M7	LLA
Mieloperoxidase	-	+	+	-	-	-	-
Cloroacetato	-	+	+	+/-	-	-	-
Alfa-Naftil acetato	-	-	+	+	-	+/-	-
Sudan Black	-	+	+	-	-	-	-
PAS	-	-	+/-	+/-	+	-	+

Fonte: Adaptado de Buga et al.(2014)

Nota: LMA – Leucemia Mielóide Aguda, PAS - ácido para-aminossalicílico

3.7.3 Citogenético

Certas anomalias citogenéticas são encontradas com maior frequência na LLA. Algumas representam sinal de pequeno risco de falha na terapêutica. A linhagem linfocitária proliferante é quase sempre, de tipo B, evidenciada pelos marcadores CD10, CD19 e CD20 (TEREZINHA et al.,2003). A hiperdiploidia, por exemplo, é considerada fator de bom prognóstico, embora com normodiploidia também se consiga bom resultado no tratamento. Verificou-se que quando o número de cromossomos varia de 54 a 58 os resultados da terapêutica são bem melhores do que naqueles em que esse número fica

baixo de 51 entre os pacientes que apresentam hiperdiploidia (TEREZINHA et al.,2003). Aproximadamente 90% das LLAs apresentam alterações no cariótipo ao diagnóstico (AZEVEDO, 2013)

3.7.5 Imunofenotipagem

Para o diagnóstico das leucemias agudas devem ser enfocados três pontos básicos : Encontrar a população de interesse (os blastos), caracterizar o imunofenótipo dos blastos e interpretar esse imunofenótipo no contexto morfológico e clínico a fim de classificar o subtipo de leucemia aguda (OLIVEIRA et al, 2016).

Na década dos anos 70, iniciou o estudo das características imunológicas das células blásticas, os pesquisadores observam casos com imunologia das células precursoras T ou células B maduras tinham pobre resposta ao tratamento quimioterápico. Diversos autores têm proposto uma classificação imunológica das LLAs de acordo com a expressão de antígenos específicos, podendo, inicialmente, essas leucemias ser classificadas de linhagem T ou B, de acordo com as características imunofenotípicas dos linfoblastos, sendo possível detectar com bastante precisão, além da linhagem celular, o nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico (CAVALCANTE, 1997).

A imunofenotipagem é fundamental para agregar ao diagnóstico morfológico as LLA determinação da linhagem (B ou T) e estágio de maturação dos linfoblastos (NAOUM, 2006). Também auxilia na classificação prognóstico, tratamento e investigação da doença residual mínima (MELLO, 2007). Com base em suas características imunofenotípicas em uma maturação normal, os blastos são definidos como células que se diferem das demais por expressarem marcadores (antígenos) de imaturidade (como CD34 e HLA- DR) e por não terem marcadores linhagem específicos (OLIVEIRA et al, 2016). Além disso, os blastos têm, em geral, CD45 de fraca a moderada fluorescência e apresentam baixa granularidade ou complexidade interna.

De acordo com o *guideline* da classificação OMS de 2008 para as neoplasia hematológicas agudas (Vandigan et al., 2009), a determinação do percentual de blastos pela análise imunológica do CD34+ por citometria não é recomendada como substituto da contagem morfológica dos blastos por microscopia, devido a perda de expressão do CD34 em alguns casos, e à tendência a maior hemodiluição dos espécimes de medula óssea usados para a citometria em relação aos primeiros espécimes colhidos para constituírem os esfregaços de medula óssea (OLIVEIRA et al, 2016).

Os blastos linfóides são subdivididos em B e T. Os linfoblastos B podem ser diferenciados das linfóides B mais maduras por expressarem marcadores de imaturidade,

como CD34+, TdT+, ausência da imunoglobulina de superfície, mIgM, e ausência do CD20 em suas fases iniciais (OLIVEIRA et al, 2016). Já os blastos linfóides T distinguem-se das células T mais maduras, pois possuem marcadores de imaturidade, como CD34+ e TdT+. São especificamente positivos para CD3 em citoplasma (citCD3+) e negativos para CD3 em membrana (mCD3-). Dependendo da sua fase maturativa no timo, podem ou não expressar CD1a+ (OLIVEIRA et al, 2016).

A correlação entre a imunofenotipagem e a citogenética nas neoplasias do tecido linfóide, ou seja, o reconhecimento da anormalidade citogenética das células tumorais pelo imunofenótipo tem ganhado relevância, pois tem demonstrado ótima sensibilidade e especificidade, além de permitir maior rapidez no processo de identificação de causa, levando-se em conta maior facilidade técnica na execução da imunofenotipagem, principalmente por citometria de fluxo. Em linhas gerais, o diagnóstico é feito quase que exclusivamente com base nos achados da imunofenotipagem.

4. Conclusão

Com base nesta revisão de literatura, diversos exames devem ser feitos para diagnosticar a leucemia linfóide aguda. Aplicação de anamnese, a verificação de condições sócio-epidemiológicas e os diagnósticos clínicos podem ser critérios subjetivos para diagnosticar leucemia. Os diagnósticos laboratoriais, hemograma, mielograma, citoquímico e imunofenotipagem são exames para fechar o diagnósticos. O hemograma revela anemias normocrômica e normocítica, trombocitopenia, a contagem dos leucócitos esta ocasionalmente muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída. Nem todos os casos de leucemias apresentam leucocitose. Cerca de 60% dos pacientes apresentam leucometria superior a 100.000/mm³. Entretanto, 25% dos pacientes com LLA são leucopênicos leucócitos abaixo de 4.000/mm³. Nos casos com leucocitose, os linfoblastos são as células predominantes e são observadas também sobras nucleares ou manchas de Gumprecht. Não há relato de manchas e Gumprecht na literatura atual.

O diagnóstico da LLA fundamenta-se na demonstração de mais de 25% de linfoblastos na medula óssea. O material aspirado da medula óssea deve ser submetido à colorações citoquímicas (Sudan black, mieloperoxidase, PAS e esterases). Atualmente quase não se usa citoquímica – o diagnóstico é morfológico, imunológico e citogenético.

Para diferenciar as leucemias linfóides das não linfóides é feita a técnica citoquímica. As reações mieloperoxidase e sudan Black são úteis para estabelecer e confirmar o diagnóstico da LMA, uma vez que os linfoblastos são uniformemente negativos. Uma PAS negativa é mais frequentes na LLA da linhagem T que na linhagem

B. A Fosfatase ácida é positiva em graus variáveis na maioria dos leucócitos normais e anormais. Se, de acordo com a morfologia e a citoquímica há suspeita de medula óssea compatível com LLA, subtipo morfológico FAB LLA- L1, sugere-se imunofenotipagem para definição da sublinhagem B ou T e estagio de maturação. Os testes imunofenotípicos são muitos importantes e consideram-se indispensáveis para um desfecho de diagnóstico de leucemia linfóide aguda. Vários exames podem ser feitos para diagnosticar a leucemia, o hemograma que pode ser um exame sugestivo, mielograma, citogenética, imunofenotipagem. Contudo, os testes imunofenotípicos são muito importantes e são considerados indispensáveis para o resultado diagnóstico da leucemia linfóide aguda.

Agradecimentos

Nós agradecemos a Fundação de Medicina Tropical Doutor Heitor Vieira Dourado pelo suporte de infraestrutura, ao Programa de Residência Multiprofissional da Universidade Nilton Lins e ao Ministério da Saude pelo fomento da Bolsa de Estudos.

Referências

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE LINFOMA E LEUCEMIA (ABRALE). O que é leucemia. Disponível em: <<http://abrale.org.br/doencas/leucemia/index.php>>. Acesso em: 19 sept. 2019

AZEVEDO, M. R. A. Hematologia básica e diagnóstico laboratorial.-5° Ed.- Rio de Janeiro: **Revinter**, 2013

BARBOSA, C. M. P. L.; NAKAMURA, C.; TERRERI, M. T.; LEE M. L. M.; PETRILLI, A. S.; HILÁRIO. M. O. E. Manifestações músculo-esqueléticas como apresentação inicial das leucemias agudas na infância. **J. Pediat**, Porto Alegre, v. 78, n. 6. p. 481-484, nov./dez. 2002.

BELSON, M.; KINGSLEY, B.; HOLMES, A. Risk factors for acute leukemia in children: a review. **Environ. Health Perspect.**, v. 115, n. 1, p. 138-145, 2007.

BENE MC, CASTOLDI G, KNAPP W, LUDWIG WD, MATUTES. E ORFAO. A; VAN'T VEER. MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. **Leukemia** 9:1783-1786. 1995

BUGA C. V.; GLÜCK, A.; ARION, C. Actual biological diagnosis of acute myeloblastic leukemia in children. **J. Med Life.**, Bucareste, v. 7, n.2, p.291-295,2014.

CAVALCANTI JR., GERALDO. B., MAIA, R. C; DOBBIN, J. A.; CARRICO. M. K.; HERAB. R. C.;SAVINO. W; OLIVEIRA, M. S. P. Importância da aplicação de anticorpos monoclonais no diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **Rev Bras Anal Clin**, v. 29, n. 3, p. 159-67, 1997.

FALCAO, R.P et al Leucemia linfóide aguda em adultos e crianças: características morfológicas e imunofenotípicas Ser Monogr. **ESC Bras Hemat** v. 9, p. 25-35, 2002

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.** vol.40 no.2 Rio de Janeiro Apr. 2004

GREENBERG AS, KAZAK AE, MEADOWS AT- Psychologic functioning in 8-16 year old câncer survivors and their parents. **J Pediatr** : 1989; 114-488.

GUIMARÃES, L. O. Caracterização de subpopulações de Leucemia Mieloide Aguda portadora do rearranjo MLL quanto à resposta diferencial ao tratamento em longo prazo com Citarabina. 2015. **Tese de Doutorado**. Universidade de São Paulo, 2015.

HAMERSCHLAK, N. Manifestações reumáticas associadas a doenças oncohematológicas. **Einstein**, São Paulo, v. 6, supl. 1, p. S89-S97, set. 2008.

JHENRY J.B. Diagnósticos clínicos e tratamento por métodos laboratoriais. ed. 18º Editora **Manole LTDA** ,São Paulo,1995, pág.814-816.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2018: incidência de câncer no Brasil: Coordenação de Prevenção e Vigilância. Rio de Janeiro: **INCA**, 2017. Disponível em: <http://www.inca.gov.br/estimativa/2018/> Acesso em: 19 de sept. 2019.

L.F. LOPES, B. DE CAMARGO, A. BIANCHI. Os efeitos tardios do tratamento do câncer infantil. **Rev. Assoc. Med. Bras.** vol.46 n.3 São Paulo July/Sept. 2000

LEE, R, G.; THOMAS, C. B.; JOHN, F.; JOHN. W. A.; JOHN. N. L. Wintrobe Hematologia clinica. I. Ed. São Paulo : **Manole**, 1998

LICHTMANN MA, BEUTLER E, KIPPS TJ, SELIGSHON U, KAUSHANSKY K, PRCHAL JT. Williams Hematology. 7th Ed. New York; **McGraw-hill medical**; 2006

LORENZI, T. Manual de Hematologia. Rio de Janeiro: **MEDSI** , 1999

MAUER, A, M. Acute lymphocytic Leukemia, In; WILLIAM, W. J. Hematology. 5. Ed. **McGraw-Hil**, Publishing company 1995.P.1004-101

MCKENNA SJ. Leukemia. **Oral Surg Oral Méd Oral Pathol.** 2000; 89: 137-39.

MELLO, M. R. B. Avaliação imunofenotípica, estudo do índice de DNA e de alterações moleculares em células blásticas de pacientes portadores de leucemia linfóide aguda diagnosticados na Fundação Hemope. 2007. 68f. **Dissertação (mestrado)** - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Ciências Médicas, Campinas, SP.

MELO; SILVEIRA. Laboratorio de hematologia : teóricas, técnicas e atlas. 1. Ed.- RIO DE JNEIRO: **Rubio**, 2015

MORAES, E. S.; MELLO, M. S. C.; NOGUEIRA, F. A. M.; OTERO, U. B.; CARVALHO, F. N.. Análise de indivíduos com leucemia: limitações do sistema de vigilância de câncer. **Ciência & Saúde Coletiva**, v. 22, p. 3321-3332, 2017.

NAOUM F. A.; NAOUM P. C. Hematologia Laboratorial - Leucócitos 1 ed. **Academia de Ciências e Tecnologia**, São Jose do Rio Preto, pag.91-98. 2006,

OKUDA T, SHURTLEFF SA, VALENTINE MB, RAIMONDI SC, HEAD DR, BEHM F, CURCIO-BRINT AM, LIU Q, PUI CH, SHERR CJ. Frequent deletion of p16INK4a/MTS1 and p15INK4b/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v. 9, n. 85, p. 2321-30, May 1 1995.

OLIVEIRA, R. A. G.; NETO, A. P. Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais. 1 ed. São Paulo: **Roca**, 2004. 421 p.

OLIVEIRA, R. A. G: Hemograma como fazer e interpretar. 2. Ed.- São Paulo, **Red Publicações**, 2015.

OLIVEIRA, R. A.; PEREIRA, J. BEATRIZ, B. Mielograma e imunotipagem por citometria de fluxo em hematologia: prática e interpretação -1, Ed. –Rio de Janeiro: **Roca**, 2016

OLIVEIRA, T. F. Perfil clínico epidemiológico de pacientes com leucemia aguda de um hospital público do Distrito Federal. **Rev. Enferm. da FACIPLAC**, v. 2, n. 3, 2017. ISSN 2526-6098.

OSTROV BE, GOLDSMITH DP, ATHREYA BH. Differentiation of systemic juvenile rheumatoid arthritis from acute leukemia near the onset of disease. **J Pediatr** 1993;122:595-8.

PEDROSA, F; LINS, M. Leucemia linfóide aguda: uma doença curável **Rev. Bras. Saude Mater. Infant.** vol.2 no.1 Recife Jan./Apr. 2002

PIZZO PA, Poplack DG, principles and practice of pediatric oncology 6^o edition, Philadelphia: **Lippincott Williams & wilkins**; 2011

PUI CH, ROBISON LL, LOOK AT. Acute lymphoblastic leukaemia ;**Lancet** 371:1030-1043, 2008

SÁNCHEZ, M. A. O; ORTEGA, M. L. O; BARRIENTOS, J. V. R. Leucemia linfoblástica aguda. Medicina Interna de México, **Pachuca**, v.23, n.1, p.26-33. 2007.

SANTOS, P. C. J. L. Hematologia: métodos e interpretação. 1. ed. São Paulo: **Roca**, 2013. 450 p.

SCHWARTSMANN. G. Oncologia Clínica: Princípios e práticas. 1^aed. **Editora Artes Medicas Sul LTDA**, Porto Alegre, 1991, pg.153-157.

SIEGEL, R.; JEMAL, A. Cancer facts & figures 2015. **American Cancer Society Cancer Facts & Figures**, 2015.

SILVA, F. A. Avaliação epidemiológica das leucemias linfoblásticas em crianças brasileiras e implicação de infecções na sua patogênese. Rio de Janeiro (RJ): **Instituto Nacional de Câncer**, 2009

SILVA, G. C.; PILGER, D. A.; CASTRO, S. M.; WAGNER, S. C. Diagnóstico laboratorial das leucemias mieloides agudas. **J. Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 42, p. 77-84, 2006.

SILVA, P. H.; ALVES, H. B.; COMAR, S. R.; HENNEBERG, R.; MERLIN, J. C.; STINGHEN, S. T. Hematologia laboratorial: teoria e procedimentos.- Porto Alegre: **Artmed**, 2016

TEREZINHA F. LORENZI, ELBIO D'AMICO MAURO MIGUEL DANIEL, PAULO AUGUSTO A. SILVEIRA, VALERIA BUCCHERI. Manual de hematologia propedêutica e clínica. 3º edição MEDSI, Editora **Guanabara Koogan S.A** . Rio de Janeiro, 2003

UCKUN, F.M.; HATTEN, K. H.; CROTTY, M. L.; SENSEL, M. G.; SATHER, H. N.; AHLGREN, L. T. SARQUIS, M. B.; BOSTROM, B.; NASHMAN, J. B. ; STEINHERZ, P. G.; GAYNON, P. S.; HEEREMA, N. clinical significance MLL-AF4 fusion transcript expression in the absence of cytogenetically detectable, t(4;11)(q21;q23) chromosomal translocation **Blood**, v, 3, n92 p.810-21, Aug 1 1998

VARDIMAN JW, THIELE J, A.; BRUNNING, RD.; BOROWITZ, WJ. PORWIT, A.; HARRIS, NL. ; LE, B. MN. ;HELLSTROM, L. E.; TEFFERI, A.; BLOOMFIELD, CD. The 2008 revision of the health organization (HWO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. **Blood**. 2009;114(5);937-51