

Diagnóstico laboratorial para identificação da Leucemia Mieloide Aguda através da técnica de imunofenotipagem

Laboratory diagnosis for the identification of Acute Myeloid Leukemia by immunophenotyping technique

DOI:10.34117/bjdv9n4-074

Recebimento dos originais: 08/03/2023

Aceitação para publicação: 14/04/2023

Thalisson Arthur Ribeiro Gomides

Doutor em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,

CEP: 35020-220

E-mail: thalisson.gomides@univale.br

Marcelo Henrique Fernandes Ottoni

Doutor em Ciências Fisiológicas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,

CEP: 35020-220

E-mail: marcelo.ottoni@univale.br

Luísa Helena Perin de Melo

Doutora em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,

CEP: 35020-220

E-mail: luisa.melo@univale.br

Carlos Alberto Silva

Mestre em Ciências Farmacêuticas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,

CEP: 35020-220

E-mail: carlos.silva@univale.br

Patrícia Figueiredo Santo Pimenta

Doutora em Química

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,

CEP: 35020-220

E-mail: patricia.pimenta@univale.br

Claudine de Menezes Pereira Santos

Mestre em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,
CEP: 35020-220

E-mail: claudine.santos@univale.br

Marcos Daniel Silva Pinheiro

Mestre em Bioquímica e Biologia Molecular

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,
CEP: 35020-220

E-mail: marcos.pinheiro@univale.br

Michel Peçanha

Pós-graduado em Residência em Análises Clínicas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,
CEP: 35020-220

E-mail: michel.pecanha@univale.br

Suely Maria Rodrigues

Doutora em Saúde Coletiva

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,
CEP: 35020-220

E-mail: suely.rodrigues@univale.br

Pedro Henrique Ferreira Marçal

Doutor em Ciências Biológicas

Instituição: Universidade Vale do Rio Doce (UNIVALE)

Endereço: Rua Israel Pinheiro, 2000, Santos Dumont, Governador Valadares – MG,
CEP: 35020-220

E-mail: pedro.marcal@univale.br

RESUMO

Leucemia mieloide aguda (LMA) consiste em uma neoplasia maligna das células do tecido hematopoiético com proliferação clonal, bloqueio maturativo das células e substituição difusa da medula óssea por células neoplásicas. Via de regra, metade das pessoas acometidas pela LMA manifesta os sintomas três meses antes de a doença ser de fato diagnosticada e, diante disso, a imunofenotipagem se torna atraente, pois, além de ser uma metodologia ágil para ser incorporada na prática médica de rotina, é uma metodologia direcionada à caracterização fenotípica de células e capaz de revelar informações importantes para o diagnóstico, como o estágio de maturação das populações celulares analisadas, a presença de células com fenótipo significativamente anormal, além de avaliar a presença de marcadores associados ao prognóstico ou até mesmo que são alvos terapêuticos. O presente trabalho visa compilar e analisar as principais características da patologia e do diagnóstico da LMA por imunofenotipagem abordadas em livros científicos e artigos acadêmicos.

Palavras-chave: Leucemia, imunofenotipagem, diagnósticos, laboratório.

ABSTRACT

Acute myeloid leukemia (AML) consists of a malignant neoplasm of hematopoietic tissue cells with clonal proliferation, maturative cell blockage and diffuse bone marrow replacement by neoplastic cells. As a rule, half of people with AML manifest symptoms three months before the disease is actually diagnosed, and immunophenotyping becomes attractive because of this, as well as being an agile methodology to be incorporated into routine medical practice. , is a methodology directed to the phenotypic characterization of cells and capable of revealing important diagnostic information, such as the stage of maturation of the analyzed cell populations, the presence of cells with significantly abnormal phenotype, as well as to evaluate the presence of prognostic markers or even markers that are therapeutic targets. This paper aims to compile and analyze the main features of the diagnosis of AML by immunophenotyping addressed in scientific books and academic articles.

Keywords: Leukemia, immunophenotyping, diagnostics, laboratory.

1 INTRODUÇÃO

A leucemia mieloide aguda (LMA) consiste em uma neoplasia maligna das células do tecido hematopoiético com proliferação clonal, bloqueio na maturação das células sanguíneas e substituição difusa da medula óssea por células neoplásicas. Com grande heterogeneidade clínica, morfológica e molecular, sua classificação se baseia primariamente na análise morfológica das células leucêmicas encontradas no sangue periférico (HELMAN, 2011), mas tem sido amplamente modificada nas últimas décadas graças a introdução das análises moleculares, de citogenética e de marcadores de superfície celular no processo de diagnóstico (HENRY, 2011), (MACHADO, 2013).

De acordo com Deschler (2006), a LMA é a variável de leucemia aguda mais comum em adultos e representa cerca de 80% dos casos nesta faixa etária. Raramente é diagnosticado antes dos 40 anos, com índice de incidência aumentando progressivamente com a idade e sendo a média de idades dos doentes diagnosticados com LMA de 65 anos. Nos Estados Unidos e na Europa, a incidência tem-se mantido estável nos últimos anos correspondendo a 3 a 5 casos por 100.000 habitantes. Em contraste, a LMA representa 15 a 20% dos casos em doentes com menos de 15 anos de idade e embora as taxas de sobrevivência tenham melhorado notavelmente neste grupo etário mais jovem, a LMA continua a ter a menor taxa de sobrevivência de todas as leucemias, tendo ainda um prognóstico muito pobre em doentes mais velhos.

Com relação a sintomatologia, na maioria das vezes pessoas acometidas pela LMA apresentam sinais e sintomas pouco específicos, que podem começar de forma gradual ou abrupta. Em decorrência dos quadros de leucopenia, anemia e trombocitopenia, se não tratada adequadamente, a LMA leva a morte por hemorragias, infecções, leucostasia e síndrome de lise tumoral. Felizmente, nota-se que o número de pessoas diagnosticadas e que vão a óbito antes de serem encaminhadas para centros de tratamento especializados diminuiu bastante nos últimos anos. Isso se deve principalmente às inovações nos métodos de diagnóstico, em consonância com os avanços da medicina.

O Instituto Nacional do Câncer (INCA) cita os seguintes exames necessários para o diagnóstico da LMA: Morfologia e Citoquímica de Sangue periférico e medula óssea; Imunofenotipagem (medula óssea ou sangue periférico); Biópsia de medula óssea: quando os exames acima não permitem o diagnóstico; Punção Lombar: realizada ao diagnóstico para pacientes com sintoma neurológicos e nos demais casos após desaparecimento de blastos no sangue periférico; Citogenética da medula óssea; Marcador molecular do sangue periférico e medula óssea. Neste contexto, a aplicação das técnicas de imunofenotipagem e citogenéticas, em conjunto com as já estabelecidas análises morfológicas, compõem a tríade da abordagem multifacetada e indispensável ao diagnóstico rápido e acurado deste grupo de patologias. Em especial, a imunofenotipagem é útil tanto no diagnóstico como na classificação, prognóstico, estadiamento e monitoramento das leucemias através da caracterização fenotípica das células hematopoiéticas patológicas em diferentes estágios de maturação (SOUZA; PEDRAZZANI, 2019; MACHADO, 2013).

2 METODOLOGIA

Este trabalho é uma pesquisa bibliográfica com abordagem qualitativa descritiva em que foram compiladas e analisadas as principais características do diagnóstico da LMA por Imunofenotipagem por citometria de fluxo, bem como sua importância na detecção e classificação da doença, abordadas em livros e artigos científicos selecionados em consulta às bases de dados eletrônicos da Lilacs (Literatura latino-americana em crônicas de saúde), Scielo (Scientific Electronic Library online), do site de busca do Google Acadêmico, além de textos e manuais do Instituto Nacional do Câncer (INCA). Foram consideradas produções científicas de enfermagem, medicina, biologia e biomedicina entre os anos de 1991 a 2019. Os termos chave utilizados nos mecanismos

de busca foram: Leucemia mieloide aguda; imunofenotipagem; importância; diagnóstico laboratorial.

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA—ASPECTOS CLÍNICOS, SINTOMATOLOGIA, DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Segundo Henry (2008, p. 694):

O início LMA frequentemente assemelham-se aos de uma infecção aguda ou mesmo de uma condição séptica. Outras alterações incluem sinais de insuficiência granulocítica, com ulcerações das membranas mucosas (especialmente na boca e na garganta) e febre. Aumento de linfonodos, baço e fígado não é pronunciado, prostração marcante e mal-estar geral podem estar presentes (HENRY, 2008, p. 694).

Essas apresentações clínicas surgem como consequências da redução na produção de células hematopoiéticas normais e da invasão de blastos leucêmicos na medula óssea, ou outros órgãos; um quadro que leva à leucopenia, anemia e trombocitopenia quase sempre severas. Em decorrência dessas alterações sanguíneas, há tendência a infecções constantes, sangramentos, coagulação intravascular disseminada (CIVD) e características variantes promielocíticas da LMA.

Uma vez instalada, a LMA progride rapidamente, exigindo que o tratamento seja iniciado imediatamente após o diagnóstico e a classificação do tipo de leucemia (INCA), (REUTER, 2014), (HOLFFBRAND, 2013). Via de regra, metade das pessoas acometidas pela LMA manifesta os sintomas até três meses antes de a doença ser de fato diagnosticada, sendo que a maioria menciona astenia, fadiga e artralgia (entre crianças, dores nas extremidades e articulações poderão ser os únicos sintomas apresentados) no momento do diagnóstico (MACHADO, 2013). O diagnóstico, iniciado a partir da suspeita clínica, toma por base a avaliação do sangue periférico e da medula óssea: 200 células no sangue e 500 células no mielograma são analisadas para contagem percentual dos blastos e identificação das linhagens comprometidas, determinação do grau de maturação das células neoplásicas e caracterização das anormalidades displásicas. Segundo os critérios FAB para LMA, pelo menos 30 % das células nucleadas visualizadas nessas análises devem ser blastos, porcentagem que foi reduzida pela OMS para 20 % com eliminação de uma das categorias de síndrome mielodisplásica (SMD), a anemia refrataria com excesso de blastos em transformação (AREB-t) (HENRY, 2008). Espera-se ainda encontrar anemia normocrômica e normocítica e trombocitopenia na maioria dos casos.

“Costuma ocorrer leucocitose, e a microscopia de distensão sanguínea mostra número variável de blastos” (HOLFFBRAND, 2013, p. 181).

Segundo Henry (2008, p. 695) “Um achado útil no diagnóstico de LMA é a presença de bastonetes de Auer. Com os corantes Romanowsky, os bastonetes de Auer são inclusões vermelho- purpura, lineares ou fusiformes, nos mieloblastos ou promielócitos.”. Ainda assim, e embora a análise morfológica continue sendo o passo fundamental para o diagnóstico, técnicas adicionais, tornaram-se essenciais e, em alguns casos específicos, constituem ferramentas complementares obrigatórias, entre elas, a imunofenotipagem, a avaliação citogenética e os estudos de genética molecular.

Após a definição diagnóstica, Lorenzi (2006) cita que é imprescindível a realização de outros exames para avaliar as condições gerais dos pacientes antes do início da terapêutica. São eles: radiografia, ultrassonografia e ressonância magnética para detectar infiltrações localizadas e condicionadas a sintomatologia; exame do líquido; exame de urina e fezes; dosagens bioquímicas de rotina para avaliar as condições da função hepática e renal; exame de fundo de olho; coagulograma; avaliação de presença ou ausência de infecções, mediante cultura de sangue, urina, fezes, orofaringe e escarro; eco e eletrocardiograma e reações sorológicas (Hepatite A, B, HIV).

Normalmente, o tratamento da LMA é baseado em poliquimioterapia sistêmica. A profilaxia do SNC não é indicada rotineiramente em adultos pela baixa incidência da complicação. O tratamento consiste de uma fase de indução, usualmente com antracíclicos e citarabina (Ara-C) e de uma segunda fase de pós-remissão, geralmente utilizando-se altas doses de Ara-C. A fase de manutenção não está mais presente nos recentes protocolos de tratamento (HAMERSCHLAK, 2006).

3.2 IMUNOFENOTIPAGEM

A imunofenotipagem consiste em uma análise da expressão antigênica das células através de ligações antígeno-anticorpo. Os anticorpos monoclonais utilizados são marcados com fluorocromo, e emitem luz quando se ligam à célula através de epítomos em sua membrana, citoplasma e intranuclearmente (BIGARDI, 2017). Essa é uma metodologia direcionada, entre outras aplicações, à caracterização fenotípica de células e é capaz de revelar informações importantes para o diagnóstico, como o estágio de maturação das populações celulares analisadas, a presença de células com fenótipo significativamente anormal, além de avaliar a presença de marcadores associados ao

prognóstico ou até mesmo marcadores que são alvos terapêuticos. (SOUZA; PEDRAZZANI, 2019).

O exame utiliza um aparelho de citometria de fluxo ou a imunocitoquímica para a leitura da reação dos anticorpos monoclonais associados ao fluorocromo (BIGARDI, 2017). A dinâmica funcional dos citômetros de fluxo é composta principalmente por três sistemas: o sistema fluídico é o meio utilizado para transportar as células em suspensão para o interior de uma câmara especial. Ele alinha as células uma a uma por diferença de pressão, empregando um fluxo de líquido contínuo a fim de que essas células sejam interceptadas por um ou mais feixes de lasers. O sistema óptico é composto por lasers, filtros e espelhos, tem função de incidir luz e direcionar os fótons emitidos pelos fluoróforos e pela dispersão (scatter) da luz de acordo com as características físicas das células. A luz dispersa na linha do feixe retilíneo denominado espalhamento frontal (Forward Scatter - FSC) é equivalente ao volume celular e o feixe perpendicular ou espalhamento lateral (Side Scatter – SSC) está relacionado à complexidade interna da célula, como exemplo, formato nuclear, quantidade e tipo dos grânulos citoplasmáticos e deformidades da membrana. Há também a captação das fluorescências emitidas pelos fluoróforos conjugados aos anticorpos ligados às células que foram excitados pelo (s) laser (s). Todas essas informações são direcionadas através de filtros ópticos e espelhos para então serem detectados por fotossensores, os fotodiodos de silício e os tubos fotomultiplicadores (PMTs – do inglês, photomultiplier tubes). Por fim, o sistema eletrônico capta os sinais ópticos e os converte em sinais eletrônicos exportando os dados do sistema analógico para o sistema digital que, por sua vez, direciona os resultados para um software, possibilitando a análise dos mesmos (SOUZA; PEDRAZZANI, 2019).

3.3 CARACTERIZAÇÃO DA LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA PELA TÉCNICA DE IMUNOFENOTIPAGEM

Até 2006 a LMA era primariamente classificada de acordo com a morfologia das células leucêmicas encontradas no sangue periférico. Segundo Lorenzi (2006), essa classificação – chamada Franco-América (FAB) – foi substituída posteriormente pela classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), a primeira a incorporar uma componente genética, cromossômica e molecular. Segundo este sistema mais recente de classificação, a LMA é subclassificada com base na presença ou na ausência de alterações genéticas específicas. A leucemia promielocítica aguda (LPA), por exemplo, é assim classificada com base na presença do rearranjo citogenético t (15;17) (q22, q12) ou do

produto da translocação, PML / RAR α resultante da fusão do fator de transcrição (PML) no cromossomo 15 com o gene do receptor alfa do ácido retinoico (RAR α) no cromossomo 17 (MACHADO, 2013)

A caracterização das leucemias por imunofenotipagem se torna particularmente útil quando a morfologia é de difícil interpretação, identificando os subtipos particulares de leucemias não reconhecidos pelos critérios morfológicos e que podem ter significância prognóstica (SILVEIRA; ARRAES, 2008). Foi a imunofenotipagem das células neoplásicas hematopoiéticas pela técnica de citometria de fluxo que permitiu a classificação de um dos subtipos de LMA, o M0: subtipo este que só é diagnosticado através dessa técnica e foi descrito pela primeira vez em 1987 por Lee et al (BENNET et al, 1991). A mesma metodologia também é de grande ajuda na diferenciação, por exemplo, entre a leucemia promielocítica aguda (M3) e os subtipos de LMA M1 e M2, bem como na detecção de formas híbridas da doença – as chamadas leucemias bifenotípicas, ou leucemias de células indiferenciadas: quando algumas células leucêmicas indiferenciadas podem apresentar marcadores tipo CD7 e tipo CD13, concomitantemente (LORENZI, 2005; REUTER, 2014).

Visto que as falhas na produção ou maturação das células sanguíneas podem ocorrer em qualquer etapa da granulocitose os variados aspectos celulares resultantes dessa anomalia acabam por servir de base para o diagnóstico e classificação dos vários tipos de LMA (LORENZI, 2006), como pode ser visto no quadro a seguir:

Quadro 1 - Classificação das leucemias mieloides agudas Segundo a OMS

Classificação das leucemias mieloides agudas Segundo a OMS.
LMA com anormalidades genéticas recorrentes: <ul style="list-style-type: none">• LMA com t(8;21)(q22;q22); AML 1/ETO• LMA com inv(16)(p13;q22); ou t(16;16)(p13;q22);CBFBeta/MYH11• Leucemia promielocítica aguda com t(15;17)(q22;q12);PML/RARAlfa• LMA com anomalia 11q23; rearranjos MLL/XX
LMA com displasia de multilinhagens: <ul style="list-style-type: none">• LMA sem síndrome mielodisplásica (MDS) anterior• LMA após MDS
LMA e MDS associada a terapia: <ul style="list-style-type: none">• LMA após terapia com alquilante• LMA após inibidor da topoisomerase• Outros tipos

Classificação das leucemias mieloides agudas Segundo a OMS.**LMA não classificáveis nos grupos acima**

- LMA com mínima diferenciação (FAB M0)
- LMA sem maturação (FAB M1)
- LMA com maturação (FAB M2)
- Leucemia Promielocítica aguda (FAB M3) e variante (FAB M3v)
- Leucemia Mielomonocítica Aguda (FAB M4)
- Leucemia Mielomonocítica Aguda com eosinofilia (FAB M4Eo)
- Leucemia Monoblástica Aguda (FAB M5a)
- Leucemia Monocítica Aguda (FAB M5b)
- Leucemia Eritroide Aguda (FAB M6)
- Leucemia Megacarioblástica Aguda (FAB M7)
- Leucemia Basofílica Aguda (FAB M2 baso)
- Panmielose aguda com mielofibrose Sarcoma mioeloides

Proliferações mieloides relacionadas com síndrome de Down.**Neoplasia de células dendríticas blástica plasmocitoide Leucemias agudas de linhagem ambígua.**

- Leucemia Aguda Indiferenciada
- Leucemia Aguda de Fenótipo Misto com t(9;22)(q34;q11.2); BCR-ABL 1
- Leucemia Aguda de Fenótipo Misto com t(v;11q23); rearranjo MLL
- Leucemia Aguda de Fenótipo Misto, B/mieloide, NOS
- Leucemia Aguda de Fenótipo Misto, T/mieloide, NOS
- Leucemia Aguda de Fenótipo Misto, NOS - tipos raros

Outras leucemias de linhagem ambígua.

Fonte: Brasil, 2014. Adaptado da portaria nº705 do Ministério da Saúde, de 12 de agosto de 2014.

Fonte: Brasil, 2014. Adaptado da portaria nº705 do Ministério da Saúde, de 12 de agosto de 2014.

A imunofenotipagem por citometria de fluxo leva em consideração o fato de que as células do tecido hematopoiético apresentam antígenos de superfície, intracitoplasmáticos e intranucleares que podem estar associados a uma linhagem celular determinada ou ao estágio de maturação da célula e visa reconhecer cada um desses antígenos (BEZERRA, 2012). Para isso são utilizados anticorpos monoclonais específicos, que recebem uma designação de CD (clusters of differentiation) e são marcados com diferentes fluorocromos, reconhecendo o padrão e a intensidade de expressão dos diferentes antígenos na superfície tanto de células normais quanto leucêmicas. Conhecendo-se o perfil característico de expressão das células normais, é possível detectar as células malignas com base na expressão de fenótipos aberrantes, úteis para sua detecção e classificação (BEZERRA, 2012). Existem diversos marcadores de todas as linhagens celulares, como cCD22, cCD3, cd79a, MPO, CD10, CD2, CD5, CD13, CD33, CD20, CD8, CD117, CD19, TdT, CD7, CD14, CD15, CD24, CD64 entre outros, ou seja, inicialmente, o diagnóstico será fornecido com base na aplasia e na presença de grande quantidade de blastos no sangue periférico e medula óssea, ao passo que a diferenciação entre os tipos e subtipos de leucemia será feito por meio dos exames

imunofenotípicos que indicarão, com precisão, a linhagem dos antígenos presentes nos blastos e o grau de maturação dos mesmos. Na prática, a importância da imunofenotipagem reside, principalmente, no diagnóstico das LMA M0 (detectada exclusivamente por meio desta técnica) e M7, mas também em alguns casos de M5a, além de auxiliar no diagnóstico das LMA M3, LMA M2 e LMA M1/M2, bem como ser essencial para a identificação da leucemia bifenotípica aguda. Existe um painel de marcadores específicos que definem cada linhagem e a partir de sua identificação consegue-se definir o melhor tratamento, a medicação mais específica e é utilizado para avaliar o grau de maturação das células neoplásicas e possíveis recidivas (BIGARDI, 2017), (SILVA et al., 2006).

O teste é geralmente realizado em suspensões de células do sangue periférico e da medula óssea, mas, quando necessário, pode ser feito também em cortes histológicos. No caso da linhagem mieloide, os marcadores mais utilizados são: CD13, CD33, CD65, MPO, CD11c, CD14, CD15, CD36, CD235a, CD41, CD61, CD42, CD34, H-antígeno, CD117, HLA-DR e TdT, com resultados segundo a Tabela 1 (BIGARDI, 2017)

Tabela 1 - Classificação da imunofenotipagem da LMA

Marcadores	LMA-M0/M1/M2	LMA- M3	LMA-M4/M5a/M5b	LMA- M6	LMA- M7
CD13/CD33	++	++	++	+	++
CD65	±/+/++	+	++	±	±
MPO	-/+/++	++	++	+	-
CD11c	- Ou ±	-	++	-	-
CD14	-	-	+ / + / + +	-	-
CD15	±/±/++	±	-	-	-
CD36	-	-	-	++	+
H-antígeno	-	-	-	++	+
CD235a					
(Glicoforina A)	-	-	-	+	-
CD41/CD61	-	-	-	-	++
CD42	-	-	-	-	+
CD34	++/++/+	±	±/+/±	+	++
CD117	++	+	+	+	+
HLA-DR	++/++/+	-	++	+	++
TdT	+	±	+	+	±

Fonte: <10% das leucemias são positivas; ±:10-25% das leucemias são positivas; +:25% a 75% das leucemias são positivas; ++ >75% das leucemias são positivas. Adaptado de BIGARDI, 2017.

Fonte: <10% das leucemias são positivas; ±:10-25% das leucemias são positivas; +:25% a 75% das leucemias são positivas; ++ >75% das leucemias são positivas. Adaptado de BIGARDI, 2017.

Via de regra, as células de LMA possuem cromatina nuclear finamente granular, nucléolos múltiplos e grânulos azurófilos citoplasmáticos. Os subtipos de M0 a M3

refletem graus crescentes de maturação e M4 e M5 possuem algum grau de diferenciação monocítica. A alteração genética mais comum na LMA-M1 é a translocação t (9;22) (q34;q11). O subtipo M3, correspondente à leucemia promielocítica aguda, possui blastos grandes com citoplasma abundante e o núcleo é, geralmente, irregular bilobado ou recortado com um nucléolo visível em cada lobo. O citoplasma das células leucêmicas possui grandes grânulos, são visíveis também bastonetes de Auer distribuídos aleatoriamente no citoplasma, mas não estão presentes em todos os casos. Acredita-se que a liberação de muitos grânulos promielocíticos contendo um pro-coagulante pode originar coagulação intravascular disseminada (CVD), sendo esta a complicação mais grave decorrente da LPA. A LMA M3 com t (15,17) é geralmente caracterizada pela associação de marcadores linfoides, CD2 e CD19, com marcadores mieloides. Os subtipos M1-M4 contêm mieloperoxidase, enquanto que M4 e M5 têm a enzima monocítica esterase inespecífica. Alguns casos de M4 são caracterizados pelo aumento de eosinófilos na medula óssea e é assim classificada de LMA M4e. A eritroleucemia (M6) tem características da linhagem eritroide e a citoquímica dos eritroblastos apresenta reação com ácido periódico de Schiff (periodic acid Schiff - PAS) negativa; as células blásticas expressam uma variedade de antígenos da linha mieloide, como CD13 e CD33. Variantes de M6 podem ser detectadas pela expressão de glicoforina A e ausência de marcadores mieloides. A leucemia megacarioblástica (M7) é rara, ocorre como uma transformação da leucemia granulocítica crônica e da síndrome mielodisplásica. Não existe uma única alteração cromossômica relacionada com a LMA-M7, com a exceção de t (1,22) (q13; q13), encontrada quase exclusivamente em crianças com idade inferior aos 18 meses e sem síndrome de Down (ANTICA, 2011).

Em conjunto com testes de citoquímica, a imunofenotipagem têm tido papel decisivo ao demonstrar que a origem de muitas dessas leucemias não se dá em células já orientadas para a linhagem granulocítica, mas em células mais indiferenciadas, capazes de evoluir para as várias linhagens do sangue. Lorenzi (2005, p. 113), Reuter (2014) e Silva et al (2006, p. 80) afirmam que a citogenética e os estudos moleculares frequentemente detectam anormalidades dentro do clone leucêmico, podendo sugerir o diagnóstico e/ou o prognóstico, ao passo que a imunofenotipagem realizada por meio de anticorpos monoclonais marcados não só permite o reconhecimento de epítomos específicos de antígenos celulares (SILVA et al.,2006, pg. 79), (REUTER, 2014) como proporciona o reconhecimento o clone anormal, definindo a linhagem, o estágio de

diferenciação, características prognósticas e fenótipos aberrantes que auxiliam no monitoramento da doença residual mínima (REUTER, 2014).

4 CONCLUSÃO

Antes da inclusão das técnicas de análise cromossômica, imunofenotipagem e genotipagem molecular, o diagnóstico das leucemias era baseado exclusivamente em testes morfológicos que visavam identificar os diferentes tipos de células anormais presentes no sangue periférico e medula óssea. Esse tipo de abordagem, além de estar mais suscetível a erros, sofria grandes limitações no que diz respeito à diferenciação entre os tipos e subtipos de leucemia.

Atualmente, a imunofenotipagem é prática essencial para o diagnóstico da LMA, devendo ser realizada em conjunto com as análises morfológicas e citogenéticas a fim de maximizar a eficiência do prognóstico, tratamento e acompanhamento após a remissão da doença. Por se tratar de uma doença naturalmente agressiva, é de suma importância que o diagnóstico seja rápido e preciso, o que faz da imunofenotipagem uma excelente ferramenta para ser empregada nos casos de LMA. Ao se basear na presença de anticorpos monoclonais, essa técnica demonstra altos níveis de especificidade e acurácia na identificação dos marcadores moleculares presentes nas diferentes variantes de células leucêmicas, possibilitando assim o direcionamento adequado dos protocolos de tratamento a serem seguidos.

Levando em consideração que o surgimento da leucemia mieloide aguda está ligado à proliferação clonal, é possível que, com os avanços tecnológicos voltados para a área de identificação e controle da expressão genética, possamos tornar o diagnóstico ainda mais preciso e precoce, contribuindo dessa maneira para o aperfeiçoamento da terapêutica e para o aumento na sobrevivência dos grupos de pacientes mais afetados, diminuindo a taxa de mortalidade em decorrência da LMA, que ainda é a mais alta entre todos os tipos de leucemias.

REFERÊNCIAS

- ANTICA, M. (Ed.). Acute Leukemia - The Scientist's Perspective and Challenge. In Tech. 2011. Cap. 1, p. 3-16.
- BENNET, J. M. et al. Proposal for the recognition of minimally differentiated acute myeloid leukaemia (AML – M0). *Brit. J. Haematol.* 1991. v. 78, p. 325-29.
- BEZERRA, E. A. G. O papel da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias. São José do Rio Preto-SP: 2012. Disponível em: <<http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/imunohematologia/35.pdf>> Acesso em: 15 dez., 2019.
- BIGARDI, B.C. A importância da imunofenotipagem no diagnóstico das leucemias, com destaque para a leucemia bifenotípica. *Acad. de Ciênc. & Tec. São Jose do Rio Preto – SP:* 2017. Disponível em: <http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/artigos/leucemia/TCC_Poss.pdf> Acesso em: 16 dez., 2019
- BRASIL; Ministério da Saúde. Portaria n. 705 de 12 de agosto de 2014. Disponível em: <http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/sas/2014/prt0705_12_08_2014.html> Acesso em: 18 dez., 2019.
- DESCHLER, B.; LÜBBERT, M. Acute Myeloid Leukemia: epidemiology and etiology. *Cancer.* 2006, v. 107, p. 2099-107.
- FERREIRA, T. L.; WENDEL,. Hematologia e hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Athenel, 2010.
- HALL, John Edward. Tratado de Fisiologia Médica. 12 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2011.
- HAMERSCHLAK, Nelson et al. Estudo retrospectivo do tratamento de leucemia mieloide aguda com o transplante de medula óssea: a experiência brasileira. *Rev. Bras. Hematol. Hemoter.* São José do Rio Preto. Mar., 2006, v. 28, n. 1, p. 11-18.
- HELMAN, Ricardo et al. Acute myeloid leukemia: update in diagnosis and treatment in Brazil. *Einstein.* São Paulo: Junho, 2011, v. 9, n. 2, p. 179-183.
- HENRY, J.B. Diagnósticos Clínicos e Tratamento por Métodos Laboratoriais. 20. ed. São Paulo: Manole, 2008.
- HOLFFBRAN, A.V Fundamento em Hematologia: recurso eletrônico. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2013.
- LORENZI, T. F. et al. Hematologia e Hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica. São Paulo: Atheneu, 2005.
- LORENZI, T. F. Manual de hematologia: propedêutica e clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

MACHADO, T. I. S. Farmacogenômica na Terapêutica das Leucemias Agudas. Monografia. Univ. do Algarve, Fac. de Ciênc. e Tec. Dep. de Química e Farmácia. Faro, Portugal: 2013 Disponível em: <https://sapiencia.ualg.pt/bitstream/10400.1/6116/1/Monografia_%20A%20Farmacogen%C3%B3mica%20na%20Terap%C3%AAutica%20das%20Leucemias%20Agudas_Final.pdf> Acesso em: 28 dez., 2019.

MARTINS, D.M.; GAGLIANI, L. H. Importância da citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das leucemias. Revista Unilus Ensino e Pesquisa. jan./jun., 2008. v. 5, n. 8. Disponível em: <<http://revista.unilus.edu.br/index.php/ruep/article/view/39>> Acesso em: 28 dez., 2019.

S. L. R.; FALCAO, R. P. A importância da imunofenotipagem na Leucemia Mieloide Aguda. Rev. Assoc. Med. Bras. São Paulo: março, 2000, v. 46, n. 1, p. 57-62. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0104-42302000000100009> Acesso em: 26 DEZ., 2009.

OLIVEIRA, RAG. Hemograma: como fazer e interpretar. 1. ed. São Paulo: Livraria Medicina Paulista, 2007.

REUTER, D. C. Leucemias mieloides agudas: manifestações clínicas e diagnóstico laboratorial. Atualiza cursos pós graduação em enfermagem oncológica. 2014, p. 3-13. Disponível em: <<https://docplayer.com.br/12044767-Leucemias-mieloides-agudas-manifestacoes-clinicas-e-diagnostico-laboratorial.html>> Acesso em 27 Dez., 2019.

SILVA, G. C. et al. Diagnóstico laboratorial das leucemias mieloides agudas. J Bras Patol Med Lab. Rio de Janeiro: Abril, 2006. v. 42, n. 2, p. 77-84. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v42n2/a04v42n2.pdf>> Acesso em: 19 Dez., 2019.

SILVEIRA, N. A.; ARRAES, S. M. A. A. A imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das leucemias agudas: uma revisão. Arq Mudi. 2008, v. 12, n. 1, p. 5-14. Disponível em: <<http://www.periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/19208>> Acesso em: 27 Dez., 2019.

SOUZA, A. A. de; PEDRAZZANI, F. S. Importância do painel de screening de imunofenotipagem por citometria de fluxo para o diagnóstico de leucemias agudas. Revista Inova Saúde. Criciúma: jul., 2019, v. 9, n. 1. Disponível em: <<https://eventos.set.edu.br/index.php/sempeq/article/view/7782>> Acesso em: 28 Dez., 2019.

SOUZA, L. M.; GORINI, M. I. P. C.; Diagnósticos de enfermagem em adultos com leucemia mieloide aguda. Rev. Gaúcha Enferm. Porto Alegre (RS): set., 2006, v. 27, n. 3, p. 417-425. Disponível em: <<https://www.lume.ufrgs.br/bitstream/handle/10183/23566/000573996.pdf?sequence=1>> Acesso em: 30 Dez., 2019.