

EXAMES LABORATORIAIS E ASPECTOS CELULARES NO DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA: UMA REVISÃO DA LITERATURA

LABORATORY TESTS AND CELLULAR ASPECTS IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA: A LITERATURE REVIEW

Helen Alves da Cruz

Graduanda em Biomedicina na Universidade Sociedade Educacional de Santa Catarina

helenalvesdacruz@gmail.com Tel :

(+55 47 991488289)

Djulia Karina Lang

Graduanda em Biomedicina na Universidade Sociedade Educacional de Santa Catarina

djulang2@gmail.com Tel:

(+55 47 99778319)

Resumo:

A leucemia mielóide aguda (LMA) constitui um grupo heterogêneo de neoplasias hematológicas, sendo o tipo mais comum e mais agressivo, o conhecimento das técnicas laboratoriais de diagnósticos estão em constante evolução, a fim de se ter uma melhor resposta de cura. Observando a visão clínica, um diagnóstico de neoplasia é de difícil, devido não se tratar de uma afirmação concreta de sua causa, isso então, realça a importância do diagnóstico laboratorial e da inovação frequente dos métodos. O objetivo deste estudo foi identificar e diferenciar os métodos diagnósticos da LMA, através de uma pesquisa integrativa de literatura, descritiva e exploratória, utilizando a base de dados como PUBMED e Google Acadêmico referente aos métodos laboratoriais utilizados para identificação e diferenciação da LMA e sua evolução.

Palavras-Chaves: leucemia mielóide aguda, exames laboratoriais, diagnóstico da LMA.

Abstract:

Acute myeloid leukemia is a heterogeneous group of hematological neoplasms, being the most common and most aggressive type, knowledge of laboratory diagnostic techniques is constantly evolving, in order to have a better cure response. The objective of this work was to carry out a literature review on the laboratory methods used to identify and differentiate AML and its evolution.

Observing the clinical view, a diagnosis of neoplasm is difficult, because it is not a concrete statement of its cause, this then highlights the importance of laboratory diagnosis and frequent innovation of methods.

Keywords: Acute myeloid leukemia, laboratory tests, diagnosis.

1. INTRODUÇÃO

A medula óssea é um órgão que tem extrema importância na vida de um ser humano, dentre suas funções está a regulação da produção de células sanguíneas, que orienta: formação, desenvolvimento, diferenciação e maturação das células. Este processo ocorre a partir das células-tronco, que por serem indiferenciadas dispõem da competência de gerar variedade de tipos celulares e linhagens específicas como: linfóide e mielóide. A linhagem linfóide da origem gênese a linfócitos, enquanto a mielóide origem a eritrócitos, leucócitos e plaquetas (LOPES, 2022).

Em um corpo saudável o início da proliferação mitótica das células mielóide granulocíticas acontece na medula óssea e após isso, as células migram para o sangue periférico para desempenhar suas funções. O descompasso deste sistema é ocasionado por mutações do DNA (ácido desoxirribonucleico), que provocam a desordem funcional e proliferação desregulada. Os elementos figurados do sangue com desordem genética se multiplicam rapidamente, mas não amadurecem, resultando na presença aumentada de células imaturas (blastos) no sangue periférico e na medula óssea, configurando-se em uma neoplasia hematológica (BRAGA, 2020).

Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA) em 2020, foram notificados 10.810 novos casos de leucemia mielóide aguda, e houve um total de 7.370 óbitos, sendo 4.014 homens e 3.356 mulheres. E o estudo realizado pelo Observatório de Oncologia, em dez anos (2008-2017) o Brasil teve cerca de 63 mil mortes por leucemias, sendo que 36% foram causadas pela leucemia mielóide aguda (LMA) (Atlas de Mortalidade por Câncer - SIM, 2020).

A LMA constitui um grupo heterogêneo de neoplasias clonais que atinge células do tecido hematopoiético, sendo o tipo mais comum e mais agressivo, sua etiologia não está totalmente elucidada mas, segundo a Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular (ABHH) os principais fatores são exposição a altas doses de radioatividade e produtos químicos como benzeno e pesticidas. A desregulação celular ocasionada por este tipo de leucemia, provoca problemas

sistêmicos, que geram sinais inespecíficos como fadiga, infecções recorrentes e aparecimento de hematomas com facilidade os quais motivam a procura de um médico e realização de exames (SOUSA, 2018; TRESSO, 2021).

Durante grande parte do século XX e início do século XXI, o padrão de tratamento e diagnóstico permaneceu inalterado, e as curvas de sobrevida estagnadas por décadas. Descobertas recentes de fatores moleculares da leucemogênese e progressão da doença levaram a resultados mais específicos e assertivos. Em 1976, um grupo de hematologistas propôs a classificação Franco-Americano-Britânico (FAB), que se tornou um sistema mundialmente aceito para classificação das leucemias agudas e é, ainda hoje, o maior ponto de referência e de correlação para com as outras classificações. A Organização Mundial da Saúde (OMS) introduziu um novo esquema de classificação para neoplasias mieloides em 2001 e o revisou em 2008, e realizou a categorização enfatizando fatores morfológicos, genéticos e clínicos (NEWELL, 2021; PELVOVITS, 2020).

A classificação inicial exigia 30% de mieloblastos para o diagnóstico de LMA, mas as diretrizes revisadas da OMS reduziram o limite para 20% de blastos. A mais recente revisão da OMS ocorreu em 2016 a qual atualizou as categorias previamente definidas de LMA, incorporando novos marcadores de diagnóstico e mutações genéticas específicas. Assim o aperfeiçoamento da classificação FAB, distribui 8 subtipos morfolologicamente distintos de LMA: M0 a M7, o que é de extrema importância para um bom prognóstico e redução de falhas no tratamento, para isto utiliza-se exames citomorfológicos, citoquímicos, imunofenotípicos e análise molecular para classificar adequadamente cada subtipo (MARQUES, 2018).

O hemograma é o primeiro passo para a investigação laboratorial do paciente com suspeitas de leucemia, o qual averiguasse quantidade de blastos, eritrócitos, plaquetas e leucócitos. O mielograma, por ser a punção aspirativa da medula óssea, tem o objetivo de verificar o seu funcionamento. A imunofenotipagem é considerada o método de escolha para delinear com precisão a linhagem hematopoiética e o estágio de diferenciação das células tumorais. A citogenética oferece uma melhor classificação da doença leucêmica, fornece informações prognósticas e se torna extremamente importante na determinação da estratégia de tratamento mais adequada (LOPES, 2020).

Para o diagnóstico, prognóstico e tratamento de leucemia é necessário uma equipe multiprofissional, o biomédico tem um papel significativo dentro desta equipe, ao qual compete a realização dos exames laboratoriais e emissão de laudos.

Resolução CFBM nº 0036, de 5 de outubro de 1991:

O profissional analista clínico tem competência para coletar amostras e realizar todos os tipos de exames de Análises Clínicas, como os processamentos de sangue, análises pré e pós-transfusionais, bem como a análise dos demais fluidos corporais, emitir e assinar os respectivos laudos.

A Resolução CFBM nº 78 de Abril de 2002 respalda:

Art. 5º - § 2º Os Biomédicos com habilitação em Patologia (Análises Clínicas) ou em Biologia Molecular são aptos e autorizados a atuar na área de Biologia Molecular, a saber: coleta, análise, interpretação, emissão e assinatura de laudos e de pareceres técnicos [...]

2. METODOLOGIA

Trata-se de uma pesquisa integrativa e descritiva baseada em revisão da literatura. As bases de dados que foram utilizadas são PUBMED e Google Acadêmico. Para realização desta pesquisa foi elaborado uma busca prévia nas bases de dados citadas com o uso dos descritores leucemia mielóide aguda; exames laboratoriais; diagnóstico da LMA; esses artigos abordam de maneira completa o conteúdo em estudo, os artigos incluídos nesta revisão são do período entre 2018 – 2022, e excluídos artigos que não contribuíram de modo a conter informações desatualizadas e desnecessárias para o objetivo proposto.

3. DESENVOLVIMENTO

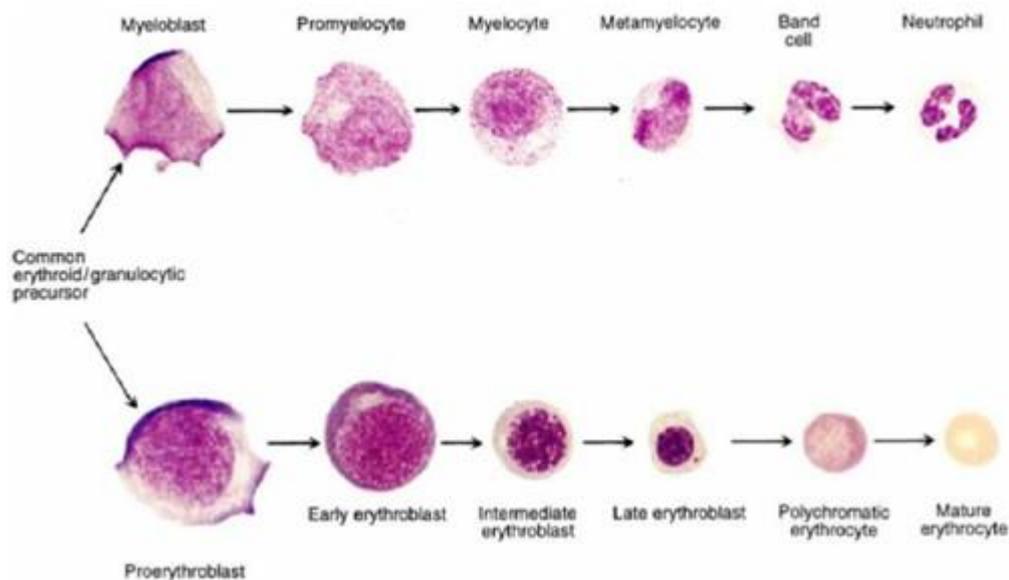
3.1 Hemograma

Popularmente conhecido como exame de sangue, o hemograma é rotineiramente solicitado pelos médicos. No qual se realiza uma punção venosa no paciente para se obter amostras de sangue que irão passar por testes químicos, averiguação morfológica através da microscopia. O exame determina o número de elementos figurados (eritrócitos, leucócitos e plaquetas), morfologia e a

porcentagem de hemoglobina. Sendo assim, alterações neste exame são o principal sinalizador de que uma pessoa possa estar com alguma neoplasia hematológica (LIRA, 2019; PEREIRA, 2019).

O hemograma é responsável por mostrar a resposta da função da medula óssea à produção adequada de células, diferenciação das linhagens e a maturação celular, assim, pode identificar se o desempenho funcional das células está acontecendo normalmente (Figura 1). É possível relatar dois estágios da leucemia, o início do desenvolvimento da leucemia na medula óssea, quando ela toma a medula, há substituição por células neoplásicas e fibrose medular, portanto desenvolve uma pancitopenia, e o estágio em que ocorre a expansão na medula, e os blastos vão para a corrente sanguínea ocasionando uma bicitopenia (anemia + plaquetopenia) (HAFERLACH, 2020).

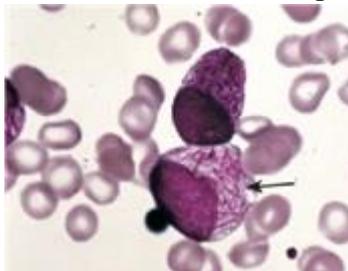
Figura 1 - Hematopoiese da linhagem mielóide.



Fonte: BAIN, 2019

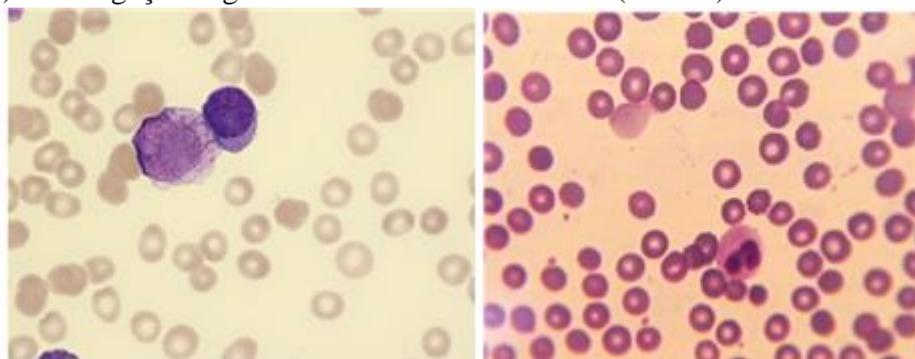
Pessoas com LMA podem apresentar redução de glóbulos vermelhos demonstrando uma anemia crescente, nível de hemoglobina abaixo (menor que 12g/dl), plaquetas baixas (menor que 100.000/mm³) e mais de 20% de blastos, há uma grande probabilidade de ser uma leucemia aguda. Cerca de 40% dos pacientes apresentam níveis de leucócitos abaixo de 10.000/mm, ou leucocitose devido a um número elevado de blastos (leucócitos imaturos), as figura 2 e 3 apresentam comparações entre esfregaço sanguíneo normal com esfregaço de indicativos de LMA (ABRALE, 2020; DUTRA et al. 2020).

Figura 2 - Esfregaço sanguíneo, mostrando blasto com múltiplos bastonetes de Auer (seta)



Fonte: Atlas de hematologia LACES, 2018.

Figura 3 - Esfregaço sanguíneo, mostrando um promielócito com múltiplos bastonetes de Auer (esquerda) e Esfregaço sanguíneo com neutrófilo normal (direita).



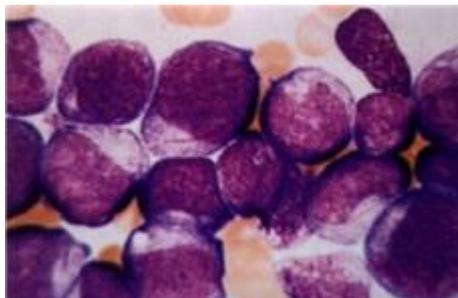
Fonte: BAIN, 2019.

3.2 Mielograma

O mielograma é um exame invasivo, onde é realizada a punção da medula óssea. Por isso é solicitado quando ocorre alterações significativas no hemograma, que indicam certas situações clínicas específicas como: anemia, leucopenia, trombocitopenia, elevações inexplicadas no número de leucócitos, células anormais circulantes, estadiamento clínico de neoplasia e hipercalemia inexplicada. (SANTOS, 2019)

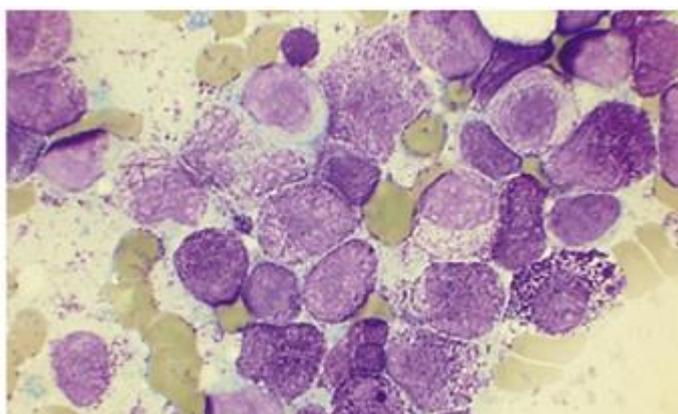
O exame permite analisar e definir marcadores nas células que estão presentes na membrana e citoplasma de cada célula leucêmica, diferenciando o subtipo da doença. A medula na LMA, pode se apresentar hiper celular proveniente de blastos cuja morfologia deve ser analisada para distinguir os diferentes tipos de células como os mieloblastos com presença de bastão de Auer (figura 4), promielócitos (figura 5), monoblastos e promonócitos na leucemia monocítica e megacarioblastos na

leucemia megacariocítica.(MARQUES, 2018). **Figura 4** - Esfregaço de mielograma mostrando mieloblasto, com presença de bastão de Auer (seta).



Fonte: Atlas de hematologia LACES, 2018.

Figura 5 - Filme de medula óssea mostrando promielócitos hipergranulares, um deles com múltiplos bastonetes de Auer



Fonte: BAIN, 2019.

3.3 Imunofenotipagem

A imunofenotipagem por citometria de fluxo, é um exame usado para classificar as células conforme o tipo de antígeno em sua superfície. As células da leucemia podem ter diferentes antígenos em sua superfície que irão depender de sua linhagem, ou seja, se são mielóide ou linfóide, e também de seu estágio de desenvolvimento. O exame é realizado por uma combinação de padrões e intensidade da expressão do antígeno, o que melhora o rendimento diagnóstico, auxilia no tratamento, prognóstico e monitoramento da neoplasia. (ARAUJO, 2021; SANCHEZ, 2020).

A tecnologia de imunofenotipagem por citometria de fluxo distingue clones de leucemia por características fenotípicas, que também ajudam a definir com precisão o estado clínico dos pacientes e ajudam a alcançar um bom tratamento, mostrando moléculas de superfície celular alteradas e marcadores de CD (do inglês, "cluster of differentiation") confirmando o diagnóstico de LMA, que se assemelha à citometria de fluxo. Existem certos antígenos mais associados às células da LMA como CD17, CD13, CD33, CD65, CD14, CD64, CD41, CD61 que estão presentes como marcadores de superfície celular mais utilizados nesta confirmação. Cada subtipo determinado pela OMS em 2016 apresenta antígenos específicos como demonstra a tabela 1. (COSTA et al., 2018; MARQUES; 2020).

Tabela 1 - Subtipo de leucemia mielóide aguda e seus respectivos marcadores fenotípicos

Subtipo de LMA	Descrição	Marcadores fenotípicos
M0	Minimamente diferenciada	CD13, CD33, CD34
M1	Sem maturação	CD13, CD33
M2	Com maturação	CD19 ou CD56 + CD33 e CD13
M3	Promielocítica var.microgranular	e CD13 e CD3 + CD34
M4	Mielomonocítica	CD13, CD14, CD15 E CD11b
M5	Monocítica a- sem maturação b- com maturação	CD14, CD11b, CD15
M6	Eritroleucemia	Glicoforina A
M7	Megacarioblástica	CD41, CD42 ou CD61 positivos

Fonte: NARAYANAN D, Weinberg OK. How I investigate acute myeloid leukemia. Int J Lab Hematol. 2020

3.4 Citogenética

A citogenética engloba as técnicas de análise cromossômica e estudos de Hibridação in situ por Fluorescência (FISH), para se prover a melhor classificação da LMA, escolha terapêutica, definição de prognóstico e eventual detecção posterior de doença residual, recaída ou evolução clonal.

Enquanto a análise cromossômica permite uma avaliação abrangente do genoma através de estudos numéricos e estruturais, o FISH fornece uma abordagem direcionada a bandas específicas dos cromossomos e mais rápida. Tais exames citogenéticos permitem avaliar: deleções, translocações, inversão, perda ou alterações cromossômicas, o qual está descrito a classificação atualizada da OMS que permite definir o subtipo de LMA (NARAYANAN, 2020).

A análise cromossômica é realizada por bandas em metáfase. Sabe-se que, células não malignas geralmente têm um cariótipo normal (46,XX ou 46,XY), enquanto o cariótipo leucêmico pode apresentar aberrações cromossômicas numéricas ou estruturais adquiridas. Cerca de 75% das LMA apresentam alterações de cariótipo sendo mais comuns a t(15;17), t(8;21), inv(16), alterações envolvendo 11q23, trissomia 8, monossomia 7, monossomia 5, trissomia 21 e perda do X ou Y (ARBER, 2018).

A hibridação in situ por fluorescência (FISH) é uma técnica que utiliza uma sequência de DNA complementar à sequência alvo que se pretende pesquisar. Existem sondas para diversos loci gênicos bastante úteis na prática diária. A vantagem desta técnica reside fundamentalmente em três aspectos: rapidez, sensibilidade e especificidade. A FISH detecta a maioria das alterações cromossômicas (translocações), alterações mínimas recorrentes e pode ser usado para detectar alterações específicas nos cromossomos, através de amostras de sangue ou da medula óssea (TRESSO, 2021; HAFERLACH, 2020).

Na 4ª edição revisada da classificação da OMS publicada em 2017, houve a atualização do perfil genético dos 8 subtipos de LMA determinados de M0 até M7 (Tabela 2); Por fazer parte de um grupo heterogêneo, os casos são estratificados em grupos de risco favorável, intermediário e desfavorável com base em seu perfil citogenético (Tabela 3) (HWANG, 2020; TALLMAN, 2019).

Tabela 2 - Perfil citogenético dos subtipos de LMA de acordo com a classificação da FAB.

Subtipo de LMA	Descrição	Cariótipo
M1	Sem maturação	inv (30) t(9;22)
M2	Com maturação	t(8;21)

M3	Promielocítica var.microgranular	t(15;17)
M4	Mielomonocítica	inv(16)
M5	Monocítica a- sem maturação b- com maturação	t(11)(q23)
M6	Eritroleucemia	-
M7	Megacarioblástica	t(1;22)(p13.3;q13.3)
M0	Minimamente diferenciada	-

Fonte: BENNETT et al. Proposals for the classification of the acute leukemia. French-American-British (FAB) Cooperative Group.

Tabela 3 - Alterações cromossômicas da LMA e seu prognóstico

Alterações cromossômicas	Prognóstico
Translocação entre cromossomos 8 e 21 Inversão do cromossomo 16 Translocação entre cromossomos 15 e 17	<i>Favorável</i>
Trissomia do cromossomo 8 Translocação entre cromossomos 9 e 11	<i>Intermediário</i>
Deleção de parte do cromossomo 5 ou 7 Translocação ou inversão do cromossomo 3 Translocação entre os cromossomos 6 e 9	
Translocação entre os cromossomos 9 e 22 Anormalidades no cromossomo 11 Monossomia Alterações complexas envolvendo 3 ou mais cromossomos	<i>Desfavorável</i>

Fonte: ABRALE. Manual - LMA. Tudo sobre a Leucemia Mieloide Aguda. Nov, 2020

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Observando a visão clínica, até concluir um diagnóstico de neoplasia são necessários vários recursos para sua determinação, devido não se tratar de uma afirmação concreta de sua causa, isso então, realça a importância do diagnóstico laboratorial e da inovação frequente dos métodos, os mesmos são portanto, essenciais para o acompanhamento e evolução da leucemia. Os exames laboratoriais ajudam não só no diagnóstico mas também na assistência do pré e pós tratamento, o que faz com que seja indispensável a qualidade e compromisso do laboratório desde a coleta até a liberação do laudo, bem como o compromisso do paciente em tratamento.

Das perspectivas multiprofissionais, o hemograma é o sinalizador de possíveis alterações na medula óssea, indicando a necessidade ou não de prosseguir com exames mais específicos e com maior sensibilidade para identificar a causa das alterações. O mielograma permite diagnosticar este tipo de doença com um resultado confiável para distinguir a linhagem acometida pela neoplasia e o grau (agudas ou crônicas), mas o uso deste, não anula a necessidade dos outros, sendo que são fundamentais para o acompanhamento do tratamento e a análise da sua eficácia.

Os exames realizados para o diagnóstico de leucemia mielóide aguda são imprescindíveis, a bem pouco tempo atrás, o diagnóstico da LMA era baseado exclusivamente na morfologia e na citoquímica do sangue e da medula óssea. Atualmente, a citogenética tem demonstrado sua importância no diagnóstico, além da detecção de alterações cromossômicas é responsável por uma classificação precisa dos subtipos de LMA. Conquanto a imunofenotipagem se faz útil, não somente em relação ao diagnóstico da doença como também na classificação, no prognóstico, estadiamento, monitoramento, e principalmente na diferenciação e caracterização fenotípica das células hematopoiéticas patológicas.

REFERÊNCIAS

ABRALE. **Manual - LMA. Tudo sobre a Leucemia Mieloide Aguda.** Nov, 2020.

ARAÚJO, G. C. S.; DE MORAIS CORDEIRO, N. **A imunofenotipagem no diagnóstico da leucemia mielóide aguda.** Revista Brasileira de Biomedicina, [S. l.], v. 1, n. 1, 2021. Disponível em: <https://revistadabiomedicina.com.br/index.php/12222/article/view/47>. Acesso em: 25 abr. 2022.

ARBER; DA. **The 2016 WHO classification of acute myeloid leukemia: What the practicing clinician needs to know.** Semin Hematol. 2019 Apr; PMID: 30926096.

BAIN B, J, Béné M, C: **Morphological and Immunophenotypic Clues to the WHO**

Categories of Acute Myeloid Leukaemia. Acta Haematol. 2019

BENNETT JM, Catovsky D, Daniel MT, Flandrin G, Galton DA, Gralnick HR et al.

Proposals for the classification of the acute leukemia. French-American-British (FAB) Cooperative Group. Br J Haematol. 1976;33:451-8.

BRAGA, Giovanna Alves. **LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA: REVISÃO DE LITERATURA.** 2020

DUNTRA; R. A.; AbrahãoC. A.; LopesF. M.; RochaR. F. S.; JuniorS. P. R. **A importância do hemograma no diagnóstico precoce da leucemia.** Revista Eletrônica Acervo Saúde, v. 12, n.

7, p. 3529, 18 jun. 2020.

GOMES, Danielle Gonçalves; CARDOSO, Muryara Fernandes. **Métodos diagnóstico da leucemia mielóide aguda: Uma revisão da literatura.** 2021.

HAFERLACH T, Schmidts I. **The power and potential of integrated diagnostics in acute myeloid leukaemia.** Br J Haematol. v 6, Ed 48. Jan 2020 PMID: 31808952.

HWANG SM. **Classificação da leucemia mieloide aguda.** Res. Sangue 31 de julho de 2020; PMID: 32719169.

INFANTE MS, PIRIS MÁ, Hernández-Rivas JÁ. **Molecular alterations in acute myeloid leukemia and their clinical and therapeutical implications.** Med Clin (Barc). Epub 2018 Jun 9. PMID: 29895422.

LIRA, A. O.; PEREIRA, A. **Métodos laboratoriais utilizados para o diagnóstico da leucemia linfóide crônica.** Brazilian Journal of health Review, [S. L.], 24 maio 2019.

LOPES, Antônia de Jesus Rosa; MARQUES, Amilton. **Exames laboratoriais para diagnóstico e acompanhamento terapêutico em pacientes com leucemia mielóide aguda.** -, 2020. Disponível em: <<http://repositorio.unis.edu.br/bitstream/prefix/1440/1/Antonia.pdf>> Acessado em: 06 Mar 2022

LOPES, Letícia Paula et al. **Abordagens do tratamento da leucemia mieloide aguda: revisão integrativa**. Brazilian Journal of Development, v. 8, n. 2, p. 9586-9601, 2022.

MARQUES, E. M. S. et al. **Manifestações clínicas e diagnóstico laboratorial da leucemia mieloide aguda (LMA)**. Revista científica de biomedicina, Quixadá, v. 3, ed. 1, 2018.

NARAYANAN D, Weinberg OK. **How I investigate acute myeloid leukemia**. Int J Lab

Hematol. v. 3 ed. 15. Feb 2020 doi: 10.1111/ijlh.13135. PMID: 31820579

NEWELL LF, Cook RJ. **Advances in acute myeloid leukemia**. BMJ. v. 6 p. 375. Oct 2021

PELCOVITS A, Niroula R. **Acute Myeloid Leukemia: A Review**. R I Med J. 2020 Apr 1. PMID: 32236160

QUIXABEIRA, Valéria Bernadete Leite; SADDI, Vera Aparecida. **A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura**. RBAC, v. 40, n. 3, p. 199-202, 2008.

SANCHEZ, Laís de Holanda Bezerra. **Diagnóstico laboratorial das leucemias agudas**, 2020.

SANTOS, M. M. F. et al. **Leucemia mieloide, aguda e crônica: diagnósticos e possíveis tratamentos**. Revista Saúde em Foco, [S. L.], 2019.

SOUSA, J. G. **Uso de células tronco pluripotentes induzidas no tratamento de pacientes com leucemia mieloide aguda - uma revisão sistematica**. Orientador: Camila de Melo

Accardo. 2018. TCC (Biomedicina) - Centro Universitario Fam, São Paulo - SP, 2018.

TALLMAN MS, Wang ES, Altman JK, et al. **Leucemia mielóide aguda**, Versão 3.2019,

Diretrizes de Prática Clínica da NCCN em Oncologia. J Natl Compr Canc Netw 2019.

TRESSO, Milena. **Métodos diagnósticos da leucemia mieloide aguda**. Ciência News. v. 29,

2021 Disponível em: http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/biblioteca-digital/hematologia/serie_branca/leucemias_linfomas_mieloma/leucemias/24-Métodos-diagnóstico-de-leucemia-mieloide-aguda.pdf.