

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA E A IMPORTÂNCIA DA CITOMETRIA DE FLUXO

Lumy Nunes Monteiro Santos (UNIFIA); Grazielle de Moraes Piffer (UNIFIA)

RESUMO

A leucemia é uma enfermidade maligna dos glóbulos brancos cuja principal característica é o acúmulo de células jovens na medula óssea. Seu quadro clínico correlaciona-se com a baixa dos índices hematimétricos resultando em sintomas como fraqueza, febre, equimoses, petéquias e sangramentos. A Leucemia Mieloide Aguda (LMA) possui cerca de oito subtipos titulados de M0 a M7. Na ampla gama de ferramentas diagnósticas disponíveis para a identificação dessa patologia e seus subtipos, destaca-se a citometria de fluxo, sendo o método mais eficaz atualmente. Logo, o objetivo desta revisão bibliográfica é analisar a relevância da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico da LMA.

Palavras-chave: Leucemia Mieloide Aguda. Neoplasias. Imunofenotipagem. Citometria de Fluxo

ABSTRACT

Leukemia is a malignant disease of white blood cells whose main characteristic is the accumulation of young cells in the bone marrow. Its clinical condition correlates with low hematimetric indices resulting in symptoms such as weakness, fever, bruises, petechiae and bleeding. Acute Myeloid Leukemia (AML) has around eight subtypes classified from M0 to M7. In the wide range of diagnostic tools available for identifying this pathology and its subtypes, flow cytometry stands out as the most effective method currently. Therefore, the objective of this literature review is to analyze the relevance of immunophenotyping by flow cytometry in the diagnosis of AML.

Keywords: Acute Myeloid Leukemia. Neoplasms. Immunophenotyping. Flow Cytometry.

INTRODUÇÃO

A medula óssea é um tecido esponjoso que ocupa o centro dos ossos, onde ocorre a produção e maturação das células sanguíneas, dando origem aos leucócitos, eritrócitos e às plaquetas (KUMAR, 2013). A leucemia é uma neoplasia maligna dos glóbulos brancos cuja principal característica é o acúmulo de células imaturas na medula óssea. Essas células jovens passam por uma mutação genética que as transformam em células cancerosas que substituem as células normais (DE AZEVEDO, 2019).

Alguns fatores estão associados ao desenvolvimento da doença, como: exposição a substâncias químicas (benzeno, formaldeídos e agrotóxicos), tabagismo, exposição excessiva à radiação ionizante (raios-x e gama), idade avançada, além de algumas síndromes hereditárias (FARIAS & DOS SANTOS, 2021). De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde (OMS), no ano de 2020 foram registrados 474.519 novos casos de leucemia, classificando a doença na 13ª posição entre os tipos de neoplasias mais frequentes. No Brasil, a leucemia é o nono tipo de câncer mais acometido pela população. Segundo

o Instituto Nacional de Câncer, em 2020 estimou-se cerca de 10.810 novos casos da doença (INCA, 2019).

A avaliação precisa e a caracterização da Leucemia Mieloide Aguda (LMA) são essenciais para a escolha terapêutica apropriada e para o prognóstico do paciente. Nos últimos anos, a abordagem diagnóstica para esta condição passou por uma evolução notável, impulsionada em grande parte pela integração de tecnologias avançadas, como a análise celular em fluxo (DELFINO, 2022).

A técnica que avalia e classifica células individuais com base nas suas características físicas e químicas, tornou-se uma ferramenta indispensável na avaliação da LMA. Ao fornecer uma análise multiparamétrica das células, esta técnica pode identificar com precisão subpopulações celulares específicas, sendo crucial para determinar a presença e a extensão da condição (SILVEIRA, 2008).

Portanto, o objetivo deste trabalho é analisar a relevância da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico da LMA.

METODOLOGIA

Este trabalho consiste em uma revisão bibliográfica baseado em artigos publicados no período de 2004 a 2023 em plataformas acadêmicas online de dados científicos, como Scielo e PubMed bem como em livros e periódicos como CAPES. Além disso, também foram considerados materiais publicados nas línguas portuguesa e inglesa. Para pesquisa dos artigos nas plataformas, foram utilizadas as seguintes palavras-chave: leucemia mieloide aguda, neoplasias, imunofenotipagem, citometria de fluxo.

DESENVOLVIMENTO

CONTEXTUALIZAÇÃO GERAL ACERCA DAS LEUCEMIAS

Leucemias representam um grupo de doenças hematológicas que envolvem a proliferação maligna de células precursoras na medula óssea e no sangue. Suas origens são diversas, assim como suas manifestações clínicas, tornando essencial uma compreensão clara das suas subclassificações para uma abordagem terapêutica adequada (DE SOUZA & PEDRAZZANI, 2019). A etiologia das leucemias, embora não seja completamente elucidada, é influenciada por uma confluência de fatores ambientais, genéticos e biológicos. Os fatores de risco associados com essas neoplasias hematológicas são cruciais para a compreensão da sua patogênese e, por extensão, para a descoberta de estratégias preventivas e terapêuticas (LOPES & MARQUES, 2020).

Dentre os fatores ambientais, a exposição à radiação ionizante surge como um agente amplamente reconhecido por seu potencial leucemogênico. Pessoas expostas a altos níveis de radiação, seja por

eventos catastróficos ou terapias radiológicas, demonstram uma predisposição elevada para desencadear certas formas de leucemia. Adicionalmente, certos agentes químicos, como o benzeno, também têm sido associados a um risco aumentado (LUNGUINHO & OLIVEIRA, 2022).

Do ponto de vista genético, diversas síndromes hereditárias, como por exemplo, a síndrome de Down, apresenta uma correlação significativa com um risco elevado de leucemias. Alterações cromossômicas adquiridas também desempenham um papel nesse contexto, servindo muitas vezes como marcadores prognósticos e direcionando abordagens terapêuticas (DA CRUZ & LANG, 2022).

Comumente, os indivíduos afetados apresentam sinais de anemia, traduzidos em fadiga, palidez e dispneia. Dada a atenuação na produção de eritrócitos saudáveis, o transporte de oxigênio para os tecidos torna-se comprometido, culminando nesses sintomas característicos. Além da anemia, a trombocitopenia é uma manifestação comum, resultante da inibição da formação de plaquetas. Esta condição pode levar a hemorragias espontâneas, manifestando-se na forma de petéquias, equimoses e sangramentos nasais ou gengivais (STHEL et al., 2023).

A redução de leucócitos funcionais, em particular os neutrófilos, predispõe os pacientes a infecções recorrentes. Essas infecções podem variar em gravidade e localização, desde simples resfriados até infecções sistêmicas graves, podendo se manifestar em diversos órgãos e sistemas. Outras manifestações clínicas podem incluir esplenomegalia e hepatomegalia, resultantes da infiltração de células leucêmicas nesses órgãos. Em algumas circunstâncias, linfonodos aumentados também podem ser observados. Além disso, sintomas sistêmicos, como febre, sudorese noturna e perda de peso inexplicada, podem ser indicativos de uma doença hematológica subjacente (KUMAR, 2013).

A classificação das leucemias baseia-se primordialmente na linhagem celular afetada e na rapidez de progressão da doença. Inicialmente, estas neoplasias são categorizadas em agudas ou crônicas. As formas agudas caracterizam-se por uma proliferação rápida de células jovens, também chamadas blastos, levando a sintomas abruptos e, frequentemente, severos. Por outro lado, as leucemias crônicas evoluem de maneira mais insidiosa, com uma acumulação gradativa de células mais diferenciadas (GUIMARÃES & FAZENDA, 2022).

Dentro dessas categorias amplas, essa patologia é subdividida com base na linhagem celular. As leucemias mielocíticas originam-se de células precursoras mieloides, enquanto as leucemias linfocíticas derivam de progenitores linfoides. Portanto, surgem quatro categorias principais: Leucemia Mieloide Aguda (LMA), Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), Leucemia Mieloide Crônica (LMC) e Leucemia Linfocítica Crônica (LLC). Cada uma delas apresenta características clínicas, morfológicas e genéticas distintas (TRESSO, 2021).

A necessidade de categorizar as leucemias de maneira tão detalhada não é meramente acadêmica. Esta classificação é crucial para determinar o tratamento mais eficaz e prever o possível prognóstico. Reconhecendo a natureza das leucemias e sua diversidade, torna-se fundamental que os profissionais de saúde estejam equipados com um entendimento rigoroso de sua definição e classificação para otimizar os cuidados ao paciente e melhorar os desfechos clínicos (BORGES, 2020).

O tratamento é feito através de quimioterapia intensiva com uma combinação de medicamentos quimioterápicos visando alcançar a remissão completa dos pacientes. Todavia, se houver resistência celular, o transplante de medula óssea pode ser necessário (DE AZEVEDO, 2019).

O tempo de sobrevivência desses indivíduos está associado ao tempo que o paciente permanece em remissão. Pacientes que não são tratados ou não apresentam remissão completa morrem em média dois a quatro meses após o diagnóstico (LOPES & MARQUES, 2020).

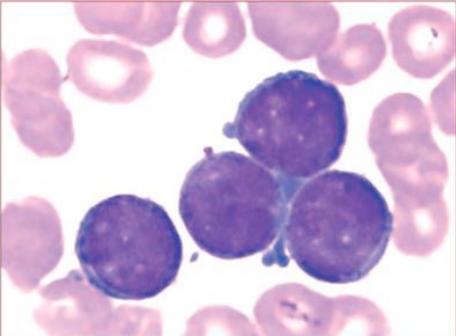
Pesquisadores estão trabalhando diligentemente para encontrar novos medicamentos e novas opções de tratamento que sejam mais eficazes e seguros (GOMES & CARDOSO, 2021).

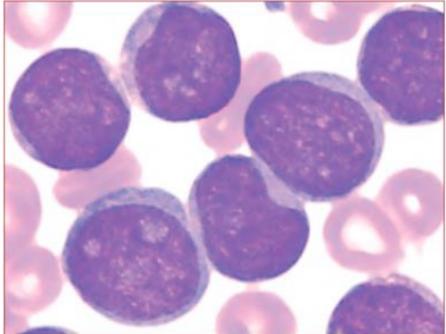
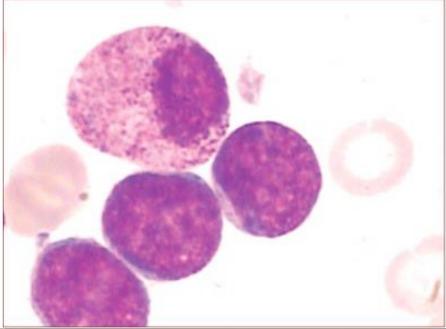
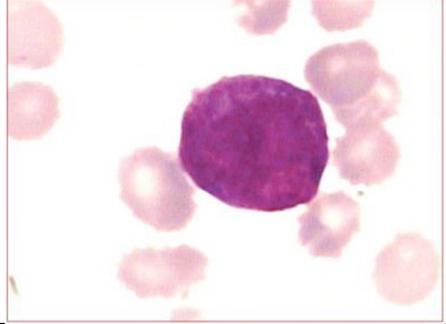
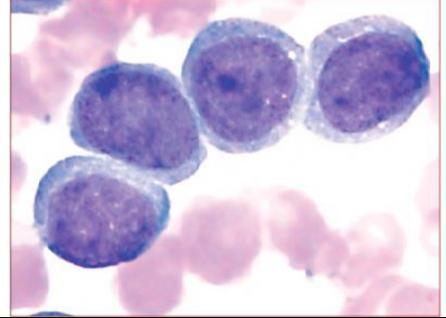
CLASSIFICAÇÃO DA LMA

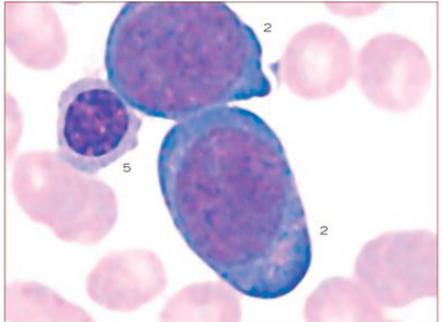
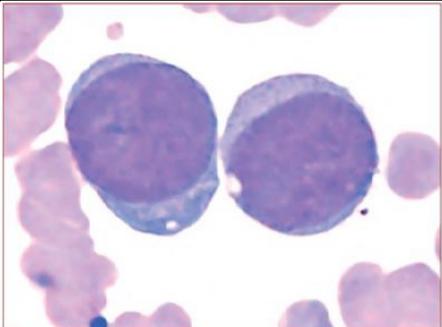
A subdivisão da doença baseia-se nos tipos de células envolvidas e na fase de maturidade das células, o qual é de suma importância para que os médicos possam tratar cada paciente com um tratamento mais preciso e personalizado, sendo benéfico para o seu diagnóstico (KUMAR, 2013).

Em 1976, o Grupo de Estudos Franco-Americano-Britânico (FAB) desenvolveu uma classificação da leucemia mieloide aguda baseada na análise morfológica das células e, se necessário, em estudos citoquímicos. Foram identificados oito subtipos denominados de M0 a M7, e que ainda são amplamente utilizados (OLIVEIRA, 2004).

Tabela 1 – Principais subtipos de LMA e suas características morfológicas.

SUBTIPO	CARACTERÍSTICAS	MORFOLOGIA
LMA – M0	Infiltração de 20% de blastos na medula óssea, blastos pequenos, cromatina frouxa, nucléolo evidente, citoplasma agranular, sem bastonete de Auer.	

<p>LMA – M1</p>	<p>Alta porcentagem de blastos (cerca de 90%), blastos hipogranulares, raros bastonetes de Auer, citoplasma moderado.</p>	
<p>LMA – M2</p>	<p>20% a 90% das células nucleadas na medula óssea, blastos grandes, citoplasma basofílico, grânulos azurofílicos, presença ou não de bastonetes de Auer.</p>	
<p>LMA – M3</p>	<p>Predomínio de promielócitos com hipergranulação (considerados como blastos), núcleo excêntrico, citoplasma com abundante granulação, alguns com vários bastonetes de Auer.</p>	
<p>LMA – M4</p>	<p>Presença de células granulocítica (mieloblástos e promielócitos) e de promonócitos e monócitos em pelo menos 20% do total de leucócitos do sangue periférico ou medula óssea.</p>	
<p>LMA – M5</p>	<p>Predomínio de monoblastos em cerca de 80% das células na medula óssea, blastos grandes, citoplasma agranular, núcleo redondo com cromatina frouxa.</p>	

<p>LMA – M6</p>	<p>Presença de 30% de mieloblastos e mais de 50% de eritroblastos, quantidade expressiva de eritroblastos em todas as fases de maturação, formas nucleares atípicas, multinucleadas.</p>	
<p>LMA – M7</p>	<p>Presença de blastos da linhagem megacariocítica e mielóide, blastos em tamanhos maiores ou variados, citoplasma agranular.</p>	

Fonte: Adaptado de MELO, 2008
 Fonte: Adaptado de OLIVERIA, 2004.

RELEVÂNCIA DA CITOMETRIA DE FLUXO PARA DIAGNÓSTICO

Na ampla gama de ferramentas diagnósticas disponíveis para a identificação da LMA, a citometria de fluxo se destaca. Contudo, ao analisar seu potencial e alcance, é fundamental compará-la a outros métodos utilizados na hematologia (COSTA, 2022).

O hemograma com análise do esfregaço sanguíneo é o primeiro exame para direcionamento de qualquer suposto diagnóstico. Em pacientes leucêmicos os índices hematimétricos comumente apontam para leucocitose acentuada devido aos blastos, anemia com anisocitose e plaquetopenia. Entretanto, apenas o hemograma não fecha diagnóstico (KUMAR, 2013).

O exame morfológico de medula óssea, baseada na análise visual de células após coloração específica, proporciona informações sobre a morfologia celular e a existência de blastos. No entanto, sua resolução é limitada, e populações mínimas de células anormais podem ser negligenciadas (LOPES & MARQUES, 2020).

A citogenética, outro método de destaque, analisa anormalidades cromossômicas associadas à LMA. Essas alterações cromossômicas podem direcionar a estratégia terapêutica e informar sobre o prognóstico do paciente. Porém, a citogenética pode não detectar alterações em nível molecular ou submicroscópico (CRUZ & LANG, 2022).

Por sua vez, a biologia molecular, incluindo técnicas como a reação em cadeia da polimerase (PCR), permite a detecção de mutações específicas em genes associados à LMA. Tais mutações podem ser preditivas de resposta ao tratamento ou de recaída da doença. Contudo, a biologia molecular não oferece uma visão global da heterogeneidade celular ou da dinâmica da enfermidade (GOMES & CARDOSO, 2021).

Dentro da avaliação contínua de indivíduos com LMA, a detecção da doença residual mínima (DRM) desempenha um papel crucial. A DRM refere-se à presença de células leucêmicas que persistem após o tratamento, mesmo quando a remissão clínica é alcançada. A capacidade de identificar e quantificar essas células é fundamental para a avaliação prognóstica e a tomada de decisão terapêutica (SANTOS & DE MORAIS CORDEIRO, 2021).

A citometria de fluxo é amplamente reconhecida pela sua sensibilidade e especificidade na detecção da DRM. Ao contrário de outros métodos que se baseiam exclusivamente na morfologia celular, a abordagem em questão analisa múltiplos marcadores simultaneamente, possibilitando a identificação de populações celulares anormais que podem não ser evidentes em análises convencionais (SOUSA et al., 2023).

POR CITOMETRIA DE FLUXO

Imunofenotipagem é um método usado para identificar o tipo de células constituintes em determinado tecido. Essa técnica é particularmente útil quando a morfologia é de difícil interpretação, sendo de suma importância para classificar seus subtipos, mais especificadamente em células leucêmicas (SILVEIRA, 2012).

A técnica de imunofenotipagem por citometria de fluxo baseia-se na detecção de proteínas específicas através do uso de anticorpos conjugados com fluorocromos, que conforme atravessam um feixe de luz, possibilitam uma avaliação multifacetada das células sanguíneas, incluindo tamanho, complexidade e expressão de marcadores específicos (SANTOS & MORAIS CORDEIRO, 2021).

Para que a análise seja eficaz, é crucial que as células sejam preparadas e coradas apropriadamente. A precisão no processamento das amostras e na escolha dos anticorpos é fundamental para obter dados fidedignos. A análise subsequente dos dados requer softwares especializados que permitem visualizar, quantificar e interpretar os complexos padrões de fluorescência e dispersão da amostra (CRUZ & LANG, 2022).

No contexto da patologia, a mensuração celular automatizada permite identificar, com precisão, populações anormais de células mielóides. Isso se concretiza pela detecção de combinações atípicas de antígenos, o que pode ser fundamental para distinguir de outras patologias hematológicas. Assim, o

perfil específico de uma amostra pode confirmar a condição, e até mesmo fornecer indicações sobre os subtipos específicos da enfermidade (DE SOUSA et al., 2023).

Esta metodologia tem se mostrado crucial no seguimento clínico de indivíduos com LMA. Em um único ensaio, é possível avaliar tamanho celular, complexidade e expressão de diversos marcadores, possibilitando a identificação precisa de populações celulares específicas. Esta característica, somada à sua eficiência e rapidez, permite obter resultados abrangentes em curtos períodos de tempo, o que é fundamental em cenários clínicos urgentes (LINGUINHO & OLIVEIRA, 2022).

Sua sensibilidade é inigualável no contexto de doenças hematológicas. A capacidade de detectar pequenas populações de células anormais ou leucêmicas residuais oferece uma visão mais detalhada do estado da doença e da eficácia do tratamento (COSTA, 2022).

CONCLUSÃO

Ao final da pesquisa, foi possível concluir que a citometria de fluxo consolidou-se como um instrumento inestimável no diagnóstico e monitoramento de várias patologias hematológicas, em particular, a LMA devido à sua capacidade de fornecer análises detalhadas a nível celular e molecular, facilitando a identificação dos subtipos específicos da condição. Identificar e quantificar com precisão a enfermidade persistente, mesmo a níveis extremamente baixos, é de suma importância, pois essa resistência está associada a um risco aumentado aos portadores. A citometria de fluxo se torna então importante, pois supre a necessidade de uma metodologia avançada no cenário clínico atual, onde a precisão é fundamental tanto para a tomada de decisões terapêuticas quanto para o prognóstico do paciente. Logo, uma avaliação apurada da enfermidade pode guiar decisões terapêuticas subsequentes e potencialmente melhorar a qualidade de vida dos pacientes.

REFERÊNCIAS

BORGES, Rayssa Geovanna Pereira. A importância da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico e monitoramento das leucemias linfóides agudas. Repositório PUC-Goiás, 2020.

CARIELO, Mariana Ribeiro; RANGEL, Roberta Lima. Diagnóstico laboratorial da Leucemia Mielóide Aguda M3: uma revisão de literatura. Repositório Ânima Educação, 2022.

COSTA, Amanda Fernandes de Oliveira. Caracterização fenotípica e funcional de células Natural Killer no diagnóstico e avaliação pós-tratamento de leucemia mieloide aguda. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, 2022.

DA CRUZ, Helen Alves; LANG, Djulia Karina. Exames laboratoriais e aspectos celulares no diagnóstico de leucemia mielóide aguda: uma revisão da literatura. Revista de Extensão e Iniciação Científica da UNISOCIESC, v. 9, n. 2, 2022.

DE AZEVEDO, Maria Regina Andrade. Hematologia básica: fisiopatologia e diagnóstico laboratorial. Thieme Revinter Publicações Ltda, 2019.

DE SOUSA, Flávia Arandas et al. Aumento de células dendríticas plasmocitóides em caso de leucemia mieloide aguda. Hematology, Transfusion and Cell Therapy, v. 45, p. 6, 2023.

DE SOUZA, Antonielle Arruda; PEDRAZZANI, Fabiane Spagnol. Importância do painel de screening de imunofenotipagem por citometria de fluxo para o diagnóstico de leucemias agudas. Inova Saúde, 2019. Disponível em: <https://www.periodicos.unesc.net/ojs/index.php/Inovasaude/article/view/3041/4724>. Acessado em: 15 de julho de 2023.

DELFINO, Caroline. Diagnóstico laboratorial da leucemia promielocítica aguda. Repositório Ânima Educação, 2022.

FARIAS, Isabela Cristina Cordeiro; DOS SANTOS, Évila Paulino; DOS SANTOS, Berenice Gomes Brito. Leucemia mielóide aguda e o testes utilizados para conclusão do diagnóstico: revisão de literatura. VIII Congresso Interdisciplinar da Fasete – CONINFA, 2021.

GOMES, Danielle Gonçalves; CARDOSO, Muryara Fernandes. Métodos diagnósticos da leucemia mieloide aguda: uma revisão de literatura. Repositório Ânima Educação, 2021.

GUIMARÃES, Leticia Coelho; FAZENDA, Juliana. Diagnóstico diferencial de leucemia por imunofenotipagem. Research, Society and Development, v. 11, n. 14, 2022.

Instituto Nacional de Câncer. Estimativa 2020: incidência de câncer no Brasil. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – INCA. Rio de Janeiro. INCA, 2019.

KUMAR, Vinay. et al. Robbins Patologia Básica. 9º ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013.

LOPES, Antônia de Jesus Rosa; MARQUES, Amilton. Exames laboratoriais para diagnóstico e acompanhamento terapêutico em pacientes com leucemia mielóide aguda. Repositório Unis Educação, 2020.

LUNGUINHO, Anna Bárbara de Freitas; OLIVEIRA, Debora Nathaly Lima Falcão de. Atuação do profissional biomédico no diagnóstico da leucemia mieloide aguda (LMA). Repositório Ânima Educação, 2022.

MELO, Márcio. Leucemias e Linfomas: Atlas do Sangue Periférico. São Paulo: Livraria Médica Paulista Editora, 2008.

OLIVEIRA, Raimundo Antônio Gomes & POLI NETO, Adelino. Anemias e leucemias: conceitos básicos e diagnóstico por técnicas laboratoriais. São Paulo; Editora Roca; 2004.

SANTOS, Geovana Cristine De Araujo; DE MORAIS CORDEIRO, Natália. A imunofenotipagem no diagnóstico da leucemia mieloide aguda. Revista Brasileira de Biomedicina, v. 1, n. 1, 2021. Disponível

em: <https://revistadabiomedicina.com.br/index.php/12222/article/view/47/2>. Acessado em: 12 de agosto de 2023.

SILVEIRA, Neiva Albertina; ARRAES, Sandra Mara Alessi Aristides. A imunofenotipagem no diagnóstico diferencial das leucemias agudas: uma revisão. *Arquivos do Mudi*, v. 12, n. 1, p. 5-14, 2008. Disponível em: <https://periodicos.uem.br/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/19208>. Acessado em: 20 de agosto de 2023.

STHEL, Vivia Machado et al. SÍNDROME DE DIFERENCIAÇÃO EM LEUCEMIA MIELÓIDE AGUDA (LMA) OBSERVADA POR CITOMETRIA DE FLUXO (CFM). *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*, v. 45, p. 4-5, 2023. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2531137923000512>. Acessado em: 06 de setembro de 2023.

TRESSO, Milena. Métodos diagnósticos da leucemia mieloide aguda. *Ciência News*, 2021. Disponível em: http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/bibliotecadigital/hematologia/serie_branca/leucemias_linfomas_mieloma/leucemias/24-Metodos-diagnostico-da-leucemia-mieloide-aguda.pdf. Acessado em: 18 de setembro de 2023.