****

**Atividade Prática Supervisionada**

**Investigação Laboratorial da Leucemia Linfoide Aguda**

Eduardo Ambrósio Lopes dos Santos RA: D49GJH7

Ingrid Mayara de Oliveira RA: N134488

Letícia Caselatto Vitacchi RA: D29JEH0

Marcelo Eduardo Ramos RA: D46HED8

Coordenadora: Wania Viana

Orientador: Dimas J.Campiolo

**Universidade Paulista**

**2019**

**RESUMO**

**SUMÁRIO**

1. **INTRODUÇÃO**
2. **LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA**
3. **CLASSIFICAÇÕES DA LLA**
4. **DIAGNÓSTICO**
5. **HEMOGRAMA**
6. **MIELOGRAMA**
7. **CITOQUIMICA**
8. **IMUNOFENOTIPAGEM**
9. **CITOGENÉTICA**
10. **CONCLUSÃO**

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS**

1. **INTRODUÇÃO**

A medula óssea é o tecido responsável pela produção de todas as células sanguíneas (glóbulos vermelhos, glóbulos brancos e plaquetas) onde ocorre através da célula progenitora ou célula mãe, essas células são encontradas em pequeno número no sangue e em maior quantidade na medula.

As células mãe se auto renovam ou se diferenciam passando por diversos estágios de maturação, antes de ir para a corrente sanguínea. Durante esses estágios as células podem sofrer mutações e se tornarem neoplásicas, acarretando o mau funcionamento do sistema sanguíneo.

Esse tipo de neoplasia é conhecido como leucemia, ela se origina na medula óssea e é caracterizada por células que não funcionam de forma adequada, geralmente pela replicação incontrolável ou a não maturação celular.

As leucemias se dividem em dois principais grupos de leucócitos: mieloide e linfoide que se diferem na linhagem, onde uma tem o comprometimento da linhagem mieloide e a outra da linhagem linfoide respectivamente.

Ambos os grupos se dividem em categorias patológicas que são diferenciadas pelo modo que a doença progride, a leucemia aguda (rápida proliferação de células imaturas no sangue) e a leucemia crônica (aumento do número de células maduras, porem anormais e disfuncionais).

Este artigo terá como foco a Leucemia Linfoide Aguda (LLA) e suas formas de diagnósticos por meio de investigação laboratorial.

1. **LEUCEMIA LINFOIDE AGUDA**

As Leucemias agudas são neoplasias das células precursoras linfo-hematopoiéticas. Sua característica principal é a presença de blastos. Geralmente a medula óssea está infiltrada por células leucêmicas no momento do diagnóstico.

A leucemia linfoide aguda (LLA) é uma doença maligna mais frequente na infância (comum em menores de 15 anos) derivada das células linfoides indiferenciadas (linfoblastos) que estão presentes em grande número na medula óssea, no timo e nos gânglios linfáticos.Acumula-se grande quantidade de linfoblastos em diferentes etapas da maturação, pois os mesmos mantêm capacidade de multiplicação, mas não de diferenciação até formas maduras e normais.

Embora a LLA possa ocorrer em qualquer idade, sua incidência é maior entre crianças de 2 a 5 anos, numa porcentagem de cerca de 70%, diminuindo entre adolescentes e adultos jovens, entre os quais a incidência das leucemias agudas é de 20%, voltando a crescer após os 60 anos de idade.

Essa doença é semelhante à leucemia mielóide aguda, mas que se origina de outro grupo de células. A medula óssea cria inúmeras células subdesenvolvidas conhecidas como blastos, que em uma pessoa saudável se tornariam linfócitos. Em uma pessoa com esta doença, porém, os blastos não se desenvolvem normalmente em células brancas do sangue. As células anormais então ocupam espaço na medula normalmente dedicado a células saudáveis, e dificultam a criação de novas células. Este processo pode levar a uma redução nos glóbulos vermelhos e no desenvolvimento de anemia, bem como uma redução de células brancas do sangue que leva a um sistema imunológico mais fraco.

1. **CLASSIFICAÇÕES DA LLA**

Um grupo francês-americano-britânico (FAB) elaborou uma classificação para LLA baseada em critérios morfológicos em relação aos blastos:

* + L1 - células estreitas com núcleo regular, sem apresentação de nucléolos, pouco citoplasma e sem basofilia.
  + L2 - células de tamanhos variados onde o citoplasma se apresenta em diferentes tamanhos e basofilia, pode apresentar nucléolos e núcleos de contornos irregulares.
  + L3 - células grandes, apresenta nucléolos, basofilia citoplasmática e vacúolos. Este subtipo em questão possui o imunofenotipo B e foi reconhecido como a forma leucêmica do linfócito de Burkitt.

1. **DIAGNÓSTICO**

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 apoiam-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. 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.

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.

Para a investigação laboratorial da LLA existem quatro métodos importantes:

* Morfológico
* Imunofenotípico
* Citogenético
* Molecular.

Esses métodos são geralmente complementares.

1. **HEMOGRAMA**

O hemograma é um exame de sangue que avalia de maneira geral a saúde do paciente, é usado para identificar possíveis desordens como anemia, infecções e leucemia. Este exame identifica e quantifica diversos componentes sanguíneos, é o primeiro passo para o diagnóstico da LLA. Faz-se o esfregaço do sangue periférico, onde uma gota de sangue é colocada numa lâmina e, em seguida, observada ao microscópio. As alterações morfológicas das células, muitas vezes, ajudam a diagnosticar a leucemia.

A maioria dos pacientes com leucemia linfoide aguda apresenta glóbulos brancos imaturos no sangue, e uma quantidade baixa de células vermelhas ou plaquetas. Muitas das células brancas do sangue são linfoblastos, ou seja, linfócitos imaturos normalmente não são encontrados na corrente sanguínea.

O hemograma pode evidenciar anemias normocítica (onde o tamanho dos eritrócitos é considerado normal) e normocrômica (quando a quantidade de hemoglobina está normal) e trombocitopenia (quantidade de plaquetas abaixo do ideal). 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), nesse caso os blastos são raros ou ausentes. Nos casos com leucocitose, os linfoblastos são as células predominantes e são observadas também sobras nucleares ou manchas de Gumprecth. Por outro lado, os indivíduos leucopênicos podem apresentar linfoblastos em pequeno número ou ausentes, situações denominadas por alguns autores “aleucemica” .

1. **MIELOGRAMA**

É um exame onde se faz a punção e coleta do sangue da medula óssea, feito para verificar como está o funcionamento da produção sanguínea e identificar doenças que podem interferir nesta produção.

As amostras são normalmente coletadas da parte posterior do osso da pelve, do esterno ou de outros ossos. A biópsia da medula óssea é geralmente realizada logo após a aspiração. Estes exames são realizados para ajudar no diagnóstico da leucemia. Também, podem ser realizados para dizer se a leucemia está respondendo ao tratamento.

Em quase todos os pacientes com LLA, as descrições do mielograma incluem medula óssea hipercelular com intensa infiltração por linfoblastos 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. Pode haver fibrose medular em alguns casos. O material aspirado da medula óssea deve ser submetido a coloração citoquímicas (Sudan black, mieloperoxidade, PAS e esterases).

1. **CITOQUIMICA**

Se baseia na aplicação de corantes bioquímicos nas células sanguíneas e medulares, de maneira a mostrar sua composição sem modificar sua morfologia. As colorações citoquímicas auxiliam no diagnóstico de leucemias e de outras doenças hematológicas.

As reações citoquímicas podem auxiliar na diferenciação entre LLA e leucemia mielóide aguda (LMA). As colorações mieloperoxidase (peroxidase) e sudan black são úteis para estabelecer e confirmar o diagnóstico de LMA, uma vez que os linfoblastos são igualmente negativos. Os linfoblastos T demonstram atividade paranuclear na esterase inespecífica quando realizada em pH ácido, onde demonstram uma atividade maior de 75% na fosfatase ácida. Na periódica ácida de Schiff (PAS), linfoblastos da LLA são geralmente positivos para PAS. Frequentemente exibem uma evidente coloração e forma de anéis concêntricos de grânulos grosseiros. Uma reação PAS negativa 6 é mais frequente na LLA de linhagem T que na linhagem B. Os mieloblastos possuem poucos grânulos PAS positivos. A Fosfatase ácida é positiva em graus variáveis na maioria dos leucócitos normais e anormais. Os linfócitos contêm pouca atividade; as células T reagem positivamente, as células B são negativas.

1. **IMUNOFENOTIPAGEM**

A imunofenotipagem é feita pelo método da citometria de fluxo, que por sua vez, é feito em um aparelho que consegue fazer medidas individuais de milhares de células, numa contagem exata que é fundamental para a eficiência do tratamento da doença. Essa técnica é usada para examinar as células da medula óssea, linfonodos e amostras de sangue, para o diagnóstico das leucemias.

A imunofenotipagem é fundamental para agregar ao diagnóstico morfológico as LLA, por meio da determinação da linhagem (B ou T) e estágio de maturação dos linfoblastos. Diferentes tipos de linfócitos têm diferentes antígenos, que sofrem alterações à medida que cada célula amadurece. As células de cada paciente com leucemia têm os mesmos antígenos, porque são todos derivados da mesma célula.

Além da caracterização dos antígenos, a citometria de fluxo fornece informação quanto ao tamanho e à granulosidade celular. Nas leucemias agudas, o exame é indicado para determinar a linhagem celular, análise de clonalidade e do estado de maturação das células leucêmicas.

1. **CITOGENETICA**

A análise cromossômica das doenças hematológicas malignas é eficiente não apenas para um diagnóstico mais seguro, mas também para entender os mecanismos envolvidos na malignidade e para encontrar genes de importância biológica.

Neste exame, os cromossomos das células leucêmicas são analisados para diagnosticar qualquer anormalidade. Em alguns casos de leucemia, as células apresentam alterações cromossômicas visíveis sob o microscópio.

1. **CONCLUSÃO**

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

https://pt.m.wikipedia.org/wiki/Leucemia\_mieloide\_aguda

https://www.hcancerbarretos.com.br/leucemia

CAVALCANTI Jr., G. B. et al. 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.

FALCÃO, 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.

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

OKUDA, T. et al. Frequent deletion of p16INK4a/MTS1 and p15INK4b/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 9, n. 85, p. 2321-30, May 1 1995.

UCKUN, F. M. et al. Clinical significance of MLL-AF4 fusion transcript expression in the absence of citogenetically detectable t(4;11)(q21;q23) cromosomal translocation. *Blood*, v. 3, n. 92, p. 810-21, Aug 1 1998.

<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/sobre-o-cancer/1098/135/>

<http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/artapfadel.pdf>

<http://www.oncoguia.org.br/conteudo/exames-para-diagnostico-da-leucemia-linfoide-aguda-lla/1150/317/>