

H - 1

HEMOCE - 01

JOSÉ QUIXADÁ CAVALCANTE FILHO

CITOMORFOLOGIA DAS LEUCEMIAS AGUDAS

Classificação FAB



Trabalho apresentado
como requisito final
ao Curso de Especiali-
zação em Hematolo-
gia e Hemoterapia.
Convênio: UFC-MEC
BID II

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Fortaleza - Ceará

1986

JOSÉ QUIXADÁ CAVALCANTE FILHO

CITOMORFOLOGIA DAS LEUCEMIAS AGUDAS

Classificação FAB

Trabalho apresentado como requisi
to final ao Curso de Especializa-
ção em Hematologia e Hemoterapia.
Convênio UFC - MEC - BID III.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ

Fortaleza - Ceará

1986



AGRADECIMENTOS

Aos Drs. José Murilo Martins, Maria da Silva Pitombeira e Mário Rigatto pelos ensinamentos, incansável dedicação e prestimosa orientação na realização deste trabalho.

Ao estatístico Roberto Cláudio Frota Bezerra pela valiosa colaboração na análise dos dados.

À bibliotecária Maria Cândida Quixadá Weyne pela inestimável ajuda na compilação bibliográfica.

Aos colegas do Curso de Especialização em Hemotologia e Hemoterapia pela agradável convivência, amizade e estímulos recebidos.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DO CEARÁ
DETERMINAÇÃO DOS NÍVEIS DE FERRITINA SÉRICA
NUMA POPULAÇÃO DE GESTANTES DA MATERNIDADE
ESCOLA ASSIS CHATEAUBRIAND -- MEAC DO CENTRO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UFC

RESUMO

Com o objetivo de determinar os níveis séricos de ferritina em uma população de gestantes da Maternidade Escola Assis Chateaubriand (MEAC), no período de setembro a dezembro de 1990, foram realizadas 187 determinações, onde ficaram evidenciadas que 41,7% da amostra apresentavam níveis menores que 12 ng/ml e, que a idade gestacional, bem como, a intensidade do fluxo menstrual, são co-fatores condicionantes de diminuição da ferritina sérica.

Diante deste resultado, recomenda-se a adoação de medidas preventivas à deficiência de ferro em gestantes.

Autores: Solon, V.R.M., Gomes, F.V.B.A.F.,
Campos. O.R., Lima. J.L.C. e
Martins. J.M.C.

Fortaleza, Ceará

MATERIAL E MÉTODOS

Foram submetidas a este presente estudo gestantes atendidas na MEAC, Fortaleza(CE), no período compreendido entre 13 de setembro a 10 de dezembro de 1990.

O sangue, obtido por punção venosa, foi colocado em frascos sem anti-coagulante para obtenção do soro, e congelado a -20°C até o momento da realização da dosagem.

Os resultados acrescidos de idade, peso, paridade, número de gestação, número de paridade, número de abortos, número de partos vaginais, intervalo de gestações, tipo de fluxo menstrual, duração do fluxo, intercorrências na atual gestação e ingestão de sulfato ferroso foram analisados e comparados entre si, no intuito de encontrar uma relação de significância clínica.

PROCEDIMENTOS LABORATORIAIS

Foram avaliados os níveis de ferritina sérica das gestantes da MEAC, com metodologia de Addison e cols. e modificado por Miles e cols., utilizando "Kits" de diagnóstico Ferrizyme junto à Abbott laboratories. O sistema Ferrizyme é um teste imunoenzimático de fase sólida baseado no princípio "sandwich". (1,11,39).

Consideramos que existia depleção dos depósitos de ferro nos níveis de $\text{FS} < 12\text{ng/ml}$. (12,17,22).

As leituras dos níveis de ferritina sérica foram feitas em um analisador automático Quantum II. Todos os testes foram realizados no laboratório de Sorologia do HEMOCE.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Como o nível de ferritina sérica tem distribuição log normal os valores médios devem ser calculados através da média geométrica. (12,13)

Para esta análise utilizou-se estatística descritiva dos dados e o teste do qui-quadrado (χ^2) para análise de tabelas de contingências.

RESULTADOS

TABELA 1 - Determinação de ferritina sérica em gestantes da MEAC - 1991. Gestantes segundo a idade, por dosagem de ferritina.

Idad	< 12ng/ml		≥ 12ng/ml		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
De 14 a 20 anos	17	40,5	25	59,5	42	100
De 21 a 26 anos	29	45,3	35	54,7	64	100
De 27 a 32 anos	19	36,5	33	63,5	52	100
De 33 a 39 anos	11	44,0	14	56,0	25	100
De 40 anos ou mais	2	50,0	2	50,0	4	100
TOTAL	78	41,7	109	58,3	187	100

TABELA 2 - Determinação de ferritina sérica em gestantes da MEAC - 1991. estatísticas descritivas das variáveis.

Variável	Média	Desvio Padrão	Máximo	Mínimo	Intervalo Confiança
Dosagem Ferritina	4,84	-	272,38	1,00	(4,22; 5,58)
Idade	26	6,34	44	14	(25,09;52,91)
Nº de gestações	3	2,59	14	1	(2,63; 3,37)
Nº de paridade	2	2,27	11	0	(1,67; 2,33)
Nº de abortos	1	0,83	5	0	(0,89; 1,11)
Nº partos vaginais	2	3,86	23	0	(1,45; 2,55)
Nº de cesárias	1	0,29	2	0	(0,71; 1,29)
Intervalos gestação	23,37	26,16	120	0	(18,55;28,18)
Tipo de fluxo	Moderado	-	-	-	-
Duração do fluxo	4	1,31	8	2	(3,81; 4,19)
Intercorrência	Nenhuma*	-	-	-	-
Ingestão sulfato ferroso	Não*	-	-	-	-

* A moda foi utilizada como estatística.

** Foi calculada a média geométrica dos dados transformados (utilizou-se o logaritmo dos dados da variável, dosagem de ferritina, para normalizar os dados).-

TABELA 3 - Determinação de ferritina sérica em gestantes da MEAC - 1991. Resultados dos testes estatísticos.

	Estatística do teste (X^2_{ij})	Significância (p)
Idade	1,107	0,893
Nº de gestações	0,112	0,738
Nº de paridade	0,136	0,713
Nº de abortos	0,0197	0,889
Nº de partos vaginais -	0,000	1,000
Nº de cesárias	1,082	0,582
Intervalos de gestação	0,000	1,000
Tipo de fluxo	9,423	0,009
Duração do fluxo	1,214	0,27
Ingestação de sulfato ferroso	1,491	0,222

TABELA 4 - Determinação de ferritina sérica em gestantes da MEAC - 1991 Gestantes segundo trimestre de gestação por dosagem de ferritina.

Trimestre	< 12ng/ml		≥ 12ng/ml		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Primeiro	5	21,7	18	78,3	23	100
Segundo	48	41,4	68	58,6	116	100
Terceiro	25	52,1	23	47,9	48	100
TOTAL	78	41,7	109	58,3	187	100

TABELA 5 - Determinação de ferritina sérica em gestantes da MEAC - 1991. Gestantes segundo tipo de fluxo por dosagem de ferritina.

Tipo de Fluxo	< 12ng/ml		≥ 12ng/ml		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
Pequeno	7	19,4	29	80,6	36	100
Moderado	51	48,6	54	51,4	105	100
Abundante	20	43,5	26	56,5	46	100
TOTAL	78	41,7	109	58,3	187	100

CONCLUSÃO

Este trabalho apresenta evidências que nos levam a concluir o seguinte:

- . Dentre as 187 gestantes existem 78(41,7%) que tinham ferritina sérica menor que 12ng/ml.
- . À medida que a gestação evolui, a ferritina sérica diminui progressivamente.
- . Gestantes que já apresentavam antes da gestação um fluxo menstrual abundante, tendem a apresentar um nível mais reduzido de ferritina no decorrer da gestação.

Este resultado, reforçado com a literatura revisada nos leva a propor, uma política de saúde, baseada na suplementação de ferro durante a gravidez, em doses efetivas que previnam a deficiência de ferro e a anemia secundária à mesma.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUÇÃO.....	1
II. MATERIAL E MÉTODOS.....	4
III. RESULTADOS.....	10
IV. DISCUSSÃO.....	17
V. CONCLUSÃO.....	22
VI. SUMMARY.....	24
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	25

CITOMORFOLOGIA DAS LEUCEMIAS AGUDAS

- Classificação FAB - (*)

José Quixadá Cavalcante Filho (**)

Revisamos os aspirados medulares de 71 casos de leucemias agudas, em crianças e adultos, diagnosticados nos últimos três anos (1983 - 1985) no Hospital Universitário Professor Walter Cantídio e os reclassificamos segundo as recomendações da Classificação FAB. 81,7% dos casos revistos foram diagnosticados pelo autor enquanto 18,3% obtiveram os laudos iniciais de outros hematologistas. A reprodutibilidade da Classificação FAB é analisada. Obtivemos pelo critério morfológico uma concordância de 87,3% para os dois grandes grupos (LMA e LLA) e de 63,4% ao analisarmos os diferentes subtipos. Quando comparado com o estudo citoquímico a concordância foi de 83,8%. As limitações da morfologia e citoquímica, além dos resultados discrepantes são discutidos.

I. INTRODUÇÃO

Em 1976, o grupo Cooperativo FAB, formado por sete hematologistas franceses, americanos e britânicos, após estudo detalhado do sangue periférico e medula óssea de 200 casos de leu

(*) Trabalho apresentado como requisito final ao Curso de Especialização em Hematologia e Hemoterapia, Convênio UFC - MEC - BID III.

(**) Médico hemopatologia do Hospital Universitário. Prof. Walter Cantídio da UFC. Chefe da Seção de Patologia Clínica do Hospital de Messejana-INAMPS.

mias agudas, propôs a classificação destas leucemias. Estudo anterior, em 1975, foi desenvolvido por Galton e Dacie (13).

O trabalho objetiva uniformizar um sistema de classificação e nomenclatura das leucemias agudas fundamentados na morfologia convencional e em métodos citoquímicos.

Deste modo os dois grupos de leucemias agudas; linfóide (LLA) e mielóide (LMA), foram divididos em três e seis subtipos respectivamente denominados: L₁, L₂, L₃, e M₁, M₂, M₃, M₄, M₅, M₆ (4,16).

Posteriormente, em 1980, o mesmo grupo estabeleceu um sistema de "score" para uma melhor identificação dos subtipos de LLA, dada a dificuldade prática na diferenciação entre L₁ e L₂ (3). A separação entre L₁ e L₂ é baseada em quatro critérios a saber: relação núcleo-citoplasmática e número de nucléolos (maiores), forma do núcleo e tamanho celular (menores) (3,16).

A importância da definição precisa dos vários subtipos de leucemias agudas, tanto linfóide quanto mielóide, resulta de diversos estudos que têm demonstrado evidências clinicamente significantes na conduta terapêutica, resposta ao tratamento e prognóstico dos pacientes (2,11,12,18,20,29,34).

A partir de dezembro de 1980 passamos a adotar no Hospital Universitário Professor Walter Cantídio da UFC, o sistema de Classificação FAB para o diagnóstico das leucemias agudas. Inicialmente os laudos baseavam-se apenas nas características citomorfológicas propostas, sem a utilização do sistema de "score" para LLA e empregando somente as técnicas citoquímicas do Sudan Black ou PAS para elucidação dos casos inconclusivos, conforme a dúvida diagnóstica.

A proposta deste trabalho é verificar a reprodutibilidade

de da classificação FAB através de uma revisão dos laudos ini
ciais diagnosticados, utilizando os novos critérios surgidos, a
maior experiência adquirida no manuseio deste material e a uti-
lidade da citoquímica no esclarecimento dos casos duvidosos.

II. MATERIAL E MÉTODOS

No período de três anos, de janeiro/83 a dezembro/85 , 82 casos de leucemias agudas, mielóide e linfóide, entre adultos e crianças, foram diagnosticados no Hospital Universitário Professor Walter Cantídio da UFC.

Deste total, 71 lâminas iniciais de medula óssea coradas pelo May-Grünwald-Giemsa, foram revistas. As 11 lâminas restantes não foram examinadas devido a extravio, mau estado de conservação ou por terem os pacientes sido encaminhados ao serviço de Hematologia com os laudos já fornecidos por outro laboratório.

Este material medular, obtido na sua maioria por punção esternal, e mais raramente, por punção da crista ilíaca, encontrava-se arquivado no setor de Hematologia do Laboratório Central do HUWC.

Fizemos uma revisão e reclassificação das lâminas iniciais do diagnóstico utilizando os critérios morfológicos propostos pela Classificação FAB e sistema de "score" para LLA. Paralelamente os esfregaços não corados foram usados para o estudo citotóxico pelo Sudan Black (em 68 casos) e PAS (em 67 casos), dependendo portanto de disponibilidade do material em arquivo, para posterior confrontação com os resultados citomorfológicos.

Inicialmente os esfregaços de medula óssea já corados

pelo MGG, os mesmos do primeiro laudo, foram previamente etiquetados e receberam números para não serem identificados no momento da segunda leitura.

Em seguida, realizamos uma contagem diferencial em 300 a 600 células, dependendo da celularidade da medula e do estado de conservação das lâminas analisadas, e fornecemos um laudo descritivo segundo os critérios morfológicos da Classificação FAB. Nos casos identificados como LLA estabelecemos o "score" proposto pelo mesmo grupo FAB.

Finalmente, pesquisamos nossos livros de registro de laudos de mielograma para averiguação e confrontação dos laudos.

A esse tempo eram realizadas as técnicas citoquímicas já referidas, envolvidas em outro trabalho de pesquisa (23), e só depois de ambos os estudos concluídos é que foram comparados os dois tipos de diagnósticos.

Os laudos iniciais foram dados na sua maioria pelo próprio autor que fez a revisão, mas alguns foram fornecidos por outros hematologistas do Hospital.

A análise dos dados foi procedida a partir da construção de tabelas de contingência de dupla entrada, onde tínhamos o primeiro ou segundo laudo como entradas. Com base nas informações dessas tabelas calculamos a sensibilidade e a incidência dos diferentes tipos de leucemias agudas e, finalmente, a sensibilidade conjunta dos dois grandes grupos (LMA e LLA), dos diversos subtipos (L₁-3 e M₁-6) e do laudo citomorfológico x laudo citoquímico. (25).

Usamos para o cálculo as fórmulas seguintes: - Sensibilidade (%) = $\frac{\text{nº de casos coincidentes}}{\text{Total de casos}} \times 100$

- Sensibilidade conjunta = $\sqrt{S_1 \times S_2}$

onde S_1 = sensibilidade tendo 1º laudo como referência

S_2 = sensibilidade tendo 2º laudo como referência

São características mais importantes dos diversos subtipos de leucemias agudas: (3,4,16).

- Leucemia Mielóide:

M_1 : Leucemia mielóide sem maturação, com alguma evidência de diferenciação granulocítica. Blastos não granulares com um ou mais nucléolos. 3% ou mais destas células são Sudan Black positivo. Variável proporção de blastos com mínimas granulações azurófilas e/ou bastonetes de Auer pouco numerosos. Maturação ulterior a promielócito < 10%.

M_2 : leucemia mielóide com maturação, evidenciando um grau de diferenciação granulocítica destacado. A maturação além de promielócito está presente em mais de 10% das células. A reação de Sudan Black é positiva em mais de 50% dos blastos. Casos com hiperplasia eritróide (<50% de eritroblastos) sem anormalidade morfológicas são incluídos neste grupo.

M_3 : Leucemia promielocítica, pois a grande maioria das células são promielócitos anormais com abundantes granulações. Os núcleos são geralmente reniformes ou bilobados e de porte variado. O citoplasma é completamente ocupado por grânulos pesados e coalescentes. Numerosos bastonetes de Auer estão presentes, por vezes em forma de feixes (faggot cells). O Sudan Black é superior a 50%.

M_4 : Leucemia mielomonocítica, com diferenciação granulocítica e monocítica presentes em proporções variadas. Os promonócitos e monócitos excedem 20% das células nucleadas. Há necessi-

dade de citoquímica específica para monócitos representada pela cloro-acetato_esterase e naftol - AS ou ASD-esterase (NASDA). O Sudan Black demonstra positividade em 20% ou mais das células.

M₅: Leucemia monocítica. O diagnóstico requer confirmação citoquímica específica. Há predomínio de células precursoras monocíticas definidas pela alfa-naftil acetato esterase (ANAE) .

M_{5a}: provavelmente diferenciada, com predomínio de monoblastos sem diferenciação, de grande porte, múltiplos nucléolos vesiculares proeminentes e citoplasma com algumas projeções ou pseudópodes.

- M_{5b}: diferenciada, com boa representação de promonócitos e monócitos. O componente granulocítico pode estar presente, mas raramente excede a 10%.

M₆: eritroleucemia, onde o componente eritropoiético geralmente excede de 50% do total celular e os eritroblastos têm formas bizarras e aspecto megaloblastóide. Se a proporção de eritroblastos com diseritropoiese exceder a 10% um componente de 30% é suficiente. Os mieloblastos estão aumentados e podem exibir bastonetes de Auer. Os precursores eritróides são PAS positivos.

- Leucemia Linfóide:

L₁: blastos predominantemente pequenos, cromatina nuclear homogênea, núcleo regular e arredondado, citoplasma escasso. moderada basofilia citoplasmática, nucléolos pouco visíveis ou pequenos e vacuolização mínima.

L₂: blastos de porte variado predominado os de grande



tamanho, cromatina heterogênea, núcleo com forma irregular, citoplasma moderadamente amplo, basofilia mais acentuada, um ou mais nucléolos visíveis e vacuolização presente.

L_3 : blastos grandes e homogêneos, cromatina nuclear finamente pontilhada e homogênea, núcleos irregulares (ovais ou redondados), citoplasma abundante, basofilia citoplasmática intensa, nucléolos proeminentes e vesiculares, vacuolização exuberante.

- Sistema de "Score":

A distinção entre L_1 e L_2 é baseada em:

- critérios maiores - relação núcleo-citoplasmática e número de nucléolos;
- critérios menores - forma do núcleo e tamanho celular.

(3,16)

- a) se há alta relação N/C ($\geq 75\%$ das células): "score" +
- b) se há baixa relação N/C ($\geq 25\%$ das células): "score" -
- c) quando os blastos têm 1 único nucléolo pequeno ou ausência de nucléolos em $\geq 75\%$ das células: "score" +
- d) quando os nucléolos são proeminentes e múltiplos em $\geq 25\%$ das células: "score" -

Se a e b forem positivos ("score" +2) o caso é L_1 , se ambos forem negativos ("score" - 2) trata-se de L_2 .

Em casos de discordâncias entre estes critérios, são usados os critérios menores.

- e) se a membrana nuclear é irregular em $\geq 25\%$ das células: "score" -

f) se $\geq 50\%$ das células imaturas são grandes: "score" -
Caso e e/ou f derem negativos o caso será L_2 , do contrário se

rã Li.

Não são considerados para efeito de "score" os critérios intermediários ou indeterminados: a membrana nuclear regular em $\geq 75\%$ das células e 50% de células grandes independente da heterogeneidade do tamanho celular.

Assim, a LLA - L₁ tem "score" variando de 0 a + 2, enquanto a LLA - L₂ varia de -1 a -4.

Devido a alta concordância nos casos de LLA - L₃ (tipo células de Burkitt) o sistema de "score" é desnecessário.

III. RESULTADOS

Foram revistas as lâminas de mielograma do diagnóstico inicial de 71 leucemias agudas, incluídos adultos e crianças. Não houve consideração de sexo, cor, procedência e de outros dados clínicos.

Dos 71 casos, houve 87,3% de concordância entre o laudo morfológico de diagnóstico (19) e o laudo da revisão (29), quando analisados apenas os dois grandes grupos: LMA e LLA (Tabela I).

No laudo inicial foram encontrados:

- LMA - 33 casos (49,2%)
- LLA - 34 casos (50,8%)

- 04 casos inconclusivos, que nos forçaram a calcular as incidências corrigidas, uma vez que o número de casos de certeza reduziu-se para 67 casos. (Tabela I).

Com a revisão, dada a mudança de cinco casos de LLA para LMA e a definição dos quatro inconclusivos (três como LMA e um como LLA), tivemos:

- LMA - 41 casos (57,7%)
- LLA - 30 casos (42,3%)

Quando o primeiro laudo foi tomado como referência houve uma sensibilidade de 100% para LMA e de 85,2% para LLA (Tabe-

la I), entretanto este índice diminui para 80,4% nas LMA e aumenta para 96,6% nas LLA, tomando o segundo laudo como padrão.

Assim, utilizando-se os dois resultados, obtivemos uma sensibilidade conjunta de 89,7% para LMA e de 90,7% para LLA.

Considerando os diversos subtipos de LMA ($M_1 - 6$) e LLA ($L_1 - 3$) obtivemos 63% de concordância. (Tabela II).

No primeiro laudo havia os seguintes percentuais de incidência com relação à LLA: 31,3% de L_1 , 15,6% de L_2 e 3,1% de L_3 ; que mudaram na revisão para 32,4% de L_1 , 8,5% de L_2 e 1,4 % de L_3 , excluindo aqui os inconclusivos. (Tabela II)

Com relação à LMA os percentuais do primeiro foram: para $M_1 - 15,6\%$, $M_2 - 10,9\%$, $M_3 - 0\%$, $M_4 - 20,3\%$, $M_5 - 1,6\%$ e $M_6 - 1,6\%$.

Estes resultados variaram para : $M_1 - 21,1\%$, $M_2 - 15,5\%$, $M_3 - 0\%$, $M_4 - 19,7\%$, $M_5 - 0\%$ e $M_6 - 1,4\%$ com a revisão (Tabela II).

Um quadro comparativo da sensibilidade de cada um dos subtipos, tomando o primeiro e segundo laudos como referências e da sensibilidade conjunta dos dois parâmetros é apresentado na Tabela III.

Correlacionando os resultados do estudo citomorfológico com a citoquímica (Tabela IV), fizemos a análise de 68 casos, tendo em vista que em 3 deles não foi possível a realização das técnicas citoquímicas (Sudan Black e PAS).

Neste estudo obtivemos um índice de concordância de 83,8% entre os dois tipos de laudos.

Quando tomamos o primeiro laudo como padrão a incidência corrigida para LMA foi de 52,5% e sensibilidade de 96,7% e

para LLA foi de 47,5% com sensibilidade de 96,4% (Tabela IV)

Estes resultados variaram para: LMA com incidência de 51,5% e sensibilidade de 85,7% e LLA com incidência de 48,5% e sensibilidade de 81,8%. (Tabela IV).

A sensibilidade conjunta para LMA foi de 91% e para LLA de 88,8% (Tabela IV).

TABELA I

DISTRIBUIÇÃO DOS LAUDOS MORFOLÓGICOS DE 71 CASOS DE LEUCEMIAS AGUDAS (LMA, LLA). COMPARAÇÃO ENTRE LAUDO ORIGINAL E REVISÃO. INCIDÊNCIA, SENSITIVIDADE.*

2º LAUDO 1º LAUDO	LMA	LLA	INCON- CLUSIVO	TOTAL	SENSITI- VIDADE %	INCI- DÊNCIA
LMA	33	0	0	33	100	49,2
LLA	05	29	0	34	85,2	50,8
INCONCLUSIVO	03	01	0	04	-	-
TOTAL	41	30	0	71	-	-
SENSITIVIDADE	80,4	96,6	-	-		
INCIDÊNCIA	57,7	42,3	-	-		

* Sensitividade conjunta:

$$S(LMA) = \sqrt{S(LMA) \times S(LMA)} = 89,7\%$$

$$S(LLA) = \sqrt{S(LLA) \times S(LLA)} = 90,7\%$$

TABELA II

DISTRIBUIÇÃO DOS LAUDOS MORFOLÓGICOS DOS SUBTIPOS DE
LLA(L₁-3) E LMA(M₁-6). COMPARAÇÃO ENTRE LAUDO ORIGINAL
E REVISÃO. INCIDÊNCIA. SENSITIVIDADE*

2º LAUDO	L ₁	L ₂	L ₃	INCON- CLUSI- VO	M ₁	M ₂	M ₃	M ₄	M ₅	M ₆	INCON- CLUSI- VO	TOTAL	SENSI- TIVI- DADE	INCIDÊNCIA %
1º LAUDO														
L ₁	17				03							20	85,0	31,3
L ₂	02	06			02							10	60,0	15,6
L ₃	01		01									02	50,0	3,1
INCONCLUSIVO	03			0								03	-	-
M ₁					08			02				10	80,0	15,6
M ₂					01	04		02				07	57,1	10,9
M ₃							0					0	-	-
M ₄						05		08				13	61,5	20,3
M ₅						01			0			01	0	1,6
M ₆										01		01	100	1,6
INCONCLUSIVO					01	01	02				0	04	-	-
TOTAL	23	06	01	0	15	11	0	14	0	01	0	71		
SENSITIVIDADE %	73,9	100	100	-	53,3	36,3	-	57,1	-	100	-			
INCIDÊNCIA %	32,4	8,5	1,4	-	21,1	15,5	-	19,7	-	1,4	-			

*Sensitividade conjunta: S (L₁) = 79,2% S (M₁) = 65,3% S (M₄) = 59,2%
 S (L₂) = 77,4% S (M₂) = 45,5% S (M₅) = -
 S (L₃) = 70,7% S (M₃) = - S (M₆) = 100%

TABELA III

ESTUDO COMPARATIVO DA SENSITIVIDADE (%) DOS
SUBTIPOS DE LLA E LMA - 71 CASOS - TENDO CADA
LAUDO COMO REFERÊNCIA. SENSITIVIDADE CONJUNTA

SUBTIPOS	SENSITIVIDADE (%)		
	1º LAUDO	2º LAUDO	CONJUNTA
L ₁	85	73,9	79,2
L ₂	60	100	77,4
L ₃	50	100	70,7
M ₁	80	53,3	65,3
M ₂	57,1	36,3	45,5
M ₃	-	-	-
M ₄	61,5	57,1	59,2
M ₅	0	-	-
M ₆	100	100	100

TABELA IV

CORRELAÇÃO ENTRE OS LAUDOS MORFOLÓGICO E CITOQUÍMICO DE 68 CASOS DE LEUCEMIAS AGUDAS. SENSITIVIDADE ENTRE OS 2 MÉTODOS

LAUDO MORFOLÓGICO	LMA	LLA	INCONCLUSIVO	TOTAL	SENSITIVIDADE %	INCIDÊNCIA %
LAUDO CITOQUÍMICO						
LMA	30	01	0	31	96,7	52,5
LLA	01	27	0	28	96,4	47,5
INCONCLUSIVO	04	05	0	09	-	-
TOTAL	35	33	0	68	-	-
SENSITIVIDADE %	85,7	81,7	-			-
INCIDÊNCIA %	51,5	48,5	-			-

* Sensitividade conjunta:

$$S(LMA) = \sqrt{S_1(LMA) \times S_2(LMA)} = 91,0\%$$

$$S(LLA) = \sqrt{S_1(LLA) \times S_2(LLA)} = 88,8\%$$

TABELA V

DISCREPÂNCIAS ENTRE 2 OBSERVAÇÕES DE CASOS
DE LMA. COMPARAÇÃO ENTRE 2 ESTUDOS.

DISCREPÂNCIAS ENTRE	SULTAN et al(1980) 250 CASOS EM ADULTOS	NOSSOS RESULTADOS 41 CASOS EM CRIANÇAS E ADULTOS.
$M_1 - M_2$	36	01
$M_1 - M_3$	05	-
$M_1 - M_4$	02	02
$M_1 - M_5$	-	-
$M_1 - M_6$	01	-
$M_2 - M_3$	04	-
$M_2 - M_4$	15	07
$M_2 - M_5$	-	01
$M_2 - M_6$	01	-
$M_4 - M_5$	09	-
TOTAL	81 (32,4%)	11 (26,8%)

IV. DISCUSSÃO

A conduta terapêutica e o sucesso prognóstico a ser obtido no tratamento das leucemias agudas necessitam de uma separação precisa entre LMA e LLA, inclusive no que se refere ao subtipo morfológico.

Todos os meios que possibilitem uma correta distinção têm sido utilizados; desde os critérios morfológicos estabelecidos pelo Grupo FAB (34,16), estudo citoquímico (1,4,9,11,14,15, 21,24,25,28,30), marcadores imunológicos de superfície (1,12,14, 19,21,30,31,35), técnicas citomorfométricas (6,27), citogenética (1,5) e mesmo características clínicas e laboratoriais (7,36).

Apesar da ajuda de todas estas técnicas um grau de concordância absoluta não é obtido. Contudo, os trabalhos realizados nesta área, têm demonstrado que com um suporte citoquímico e a adoção detalhada dos critérios morfológicos da Classificação FAB, são alcançados resultados fidedignos nesta distinção.

The Southwest Oncology Group Experience (16) encontrou um índice de concordância na distinção entre LMA e LLA de 98,7% em 223 casos. Quanto à acuracidade para a sub-classificação dos nove subtipos FAB, obtiveram a taxa de 70,8% de concordância.

Nosso índice de concordância entre LMA e LLA foi de

87,3% e de 63,4% para os subtipos, inferiores aos do SWOG, mas superiores a outros citados pelo próprio grupo com os de Lee et al (79%) e de Brincker an Jensen (83%).

Dick et al (10) encontraram valores de 58% para LLA e para LMA em 195 casos de adultos. Reiffers et al (22) em 106 casos de LMA obtiveram 75% de acertos e Sultan et al (29) estudando 250 casos de LMA em adultos conseguiram o consenso em 68% dos casos.

Os estudos envolvendo apenas pacientes de LLA revelaram nos trabalhos de Benett et al (3) 84% de concordância em 200 casos, enquanto Viana et al (34) conseguiram 69,4% de triplo acerto e 86,8%, entre dois observadores, em 170 casos infantis.

As discrepâncias verificadas na classificação dos nove subtipos morfológicos (Tabela II) ocorreram, na sua maioria, dentro dos próprios grupos.

Nas LLA tivemos apenas três casos diagnosticados como L_1 no primeiro laudo que passaram a M_1 na revisão, mas a citotóxicologia definiu como linfóide, e dois casos de L_2 que passaram para M_1 sendo um deles confirmado como mielóide.

As outras mudanças no laudo morfológico das LLA foram: 2 casos de L_2 para L_1 caracterizados pelo "score" e 1 caso de L_3 para L_1 . Os três diagnósticos inconclusivos do primeiro laudo (2 casos L_2/L_1 e 1 caso L_2/M_1) foram definidos como L_1 e confirmados como linfóide pela citotóxicologia.

Houve no entanto um caso em que a discordância ocorreu somente com a citotóxicologia, pois nas duas classificações foi considerado como L_1 mas o Sudan Black foi positivo (17%).

Estes laudos discordantes podemos atribuir, primeiro, à

real dificuldade em se distinguir L_2 de M_1 apenas pela morfologia e apontado por outros autores (10,16,20,34); a possível falha na técnica citoquímica; a falhas técnicas na confecção dos esfregaços pois encontramos variações de população celular dependendo da área examinada, o que dificulta a distinção entre L_1 e L_2 . A má conservação das lâminas nos fez eliminar algumas das medulas do estudo.

Como constatação deste último item, apontamos o caso de L_3 que passamos a considerar L_1 na revisão por não termos confirmado a acentuada basofilia e vacuolização, comum neste subtipo o vistos no primeiro laudo.

A adoção do sistema de "score" responde por duas mudanças de L_2 para L_1 uma vez que este critério não foi utilizado no laudo diagnóstico. Hoje sabemos que um índice de menos de 50% de blastos de grande porte é compatível com L_1 desde que as demais características estejam presentes (3).

No grupo das LMA todas as alterações nos laudos morfológicos ocorreram dentro do próprio grupo, ou seja, nenhum diagnóstico mudou para LLA na revisão (Tabela II), exceto um único caso em que os dois laudos definiram como LMA e a citoquímica mostrou um Sudan Black de 2% e "score" de PAS zero.

As principais discrepâncias envolveram os subtipos M_2 e M_4 com 7 alterações verificadas (Tabela II). A seguir vieram as discordâncias entre M_1 e M_4 com 2 casos, M_1 e M_2 com 2 casos e M_1 e M_5 com 1 caso.

Os 4 casos indefinidos no primeiro laudo foram considerados como: M_1 - 1 caso, M_2 - 1 caso e M_4 - 2 casos.

Nota-se assim a grande dificuldade em se estabelecer o diagnóstico de LMA quando se refere a caracterizar os subtipos

M₁, M₂ e M₄, daí apresentarem índices de sensibilidade inferiores aos dos subtipos linfóides (Tabela III).

Na tabela V mostramos um quadro comparativo dos nossos achados com os de Sultan et al (29) relativos aos laudos discordantes entre subtipos de LMA.

As dificuldades em caracterizar os subtipos M₁ e M₂ se devem provavelmente à definição do termo de maturação, quando se estabelece que M₁ apresenta <10% de células granulosas além de promielócito e M₂ de 10 a 20% de células com maturação além de promielócito. Estudos para esclarecimentos deste critério foram desenvolvidos por Rhenen et al (33).

Quanto às dúvidas existentes na distinção entre M₂ e M₄ se devem principalmente em caracterizar as diferenciações granulocítica e monocítica. Nesse sempre a morfologia nos oferece elementos para esta caracterização. Mesmo um suporte citoquímico, incluindo as técnicas específicas como, cloroacetato esterase e naftol - AS ou ASD - esterase (NASDA) com inibição pelo fluoreto de sódio chega à definição absoluta. Os trabalhos de Huhn (17) e Bitter et al (5) que associa as M₄ a anormalidades dos eosinófilos e alterações cromossômicas; inv (16) (p.13 q22), analisam este aspecto.

No nosso estudo as dificuldades foram maiores porque não dispusemos destas técnicas para que procedêssemos a uma inequívoca reprodutibilidade (23).

Esta mesma observação serve para explicar o não aparecimento de nenhum caso de M₅ na nossa amostragem. Um único caso duvidoso do primeiro laudo foi considerado M₂ na revisão. Aqui não contamos também com a técnica da alfa naftil acetato esterase (ANAE), marcadores de superfície, estudos funcionais, ou mes

mo à dosagem de lisozima sérica e/ou urinária que são úteis para definir este subtipo (21,24,32).

Há variações quanto à incidência de M_5 , entre os vários pesquisadores, de raríssimos casos até cifras de 25% dos casos, que Reiffers et al (22) atribuírem à idade dos pacientes, modalidade de recrutamento de cada serviço e diferenças geográficas.

Esta mesma variabilidade ocorre com M_3 , não vista em nosso trabalho e bastante frequente nos estudos de Sultan et al (29) com 16% do total de LMA.

O único caso de M_6 foi confirmado na revisão citológica com confirmação citoquímica. A hiperplasia eritróide era inferior a 50% e o número de formas bizarras de difícil interpretação e quantificação. A mesma dificuldade foi encontrada por Reiffers et al (22) no seu estudo. A sensibilidade de 100% não deve ser valorizada por se tratar de apenas um caso.

As formas extremamente raras de M_7 -leucemia megacario - blástica, descrita por Chan et al (8), e os casos com população mista mielóide e linfóide (30) não se apresentaram entre nós.

Destacamos que dois casos tidos, como mielóide nos dois laudos morfológicos não puderam ser avaliados p/citoquímica, bem como um caso diagnosticado com linfóide nas duas oportunidades, devido a dificuldades técnicas.

V. CONCLUSÃO

Nossos resultados de 87,3% de concordância para os dois grandes grupos de leucemias agudas e de 63,4% de acertos ao analisarmos os nove subtipos de LMA e LLA, baseado apenas no critério morfológico, numa revisão de laudos, comprovam que a classificação FAB é perfeitamente reproduzível.

Estes resultados são compatíveis com os da literatura e demonstram que há uma maior sensibilidade para a caracterização das LLA.

A citomorfologia isoladamente é um instrumento útil para caracterizar as leucemias agudas e seus diversos subtipos, apesar de alguns pontos merecerem maior clareza.

O emprego das técnicas citoquímicas é um fator adjuvante para o esclarecimento dos casos inconclusivos pelo critério morfológico, ou mesmo para o diagnóstico de certeza, pois muitas vezes modificam um laudo com total concordância. Encontramos um índice de 83,8% de confirmação dos diagnósticos morfológicos com o emprego destas técnicas que servem principalmente para melhorar a sensibilidade dos laudos de LMA.

Nos casos de leucemias com componente monocítico a uti-

lização de técnicas específicas (esterases) não só é recomendável como obrigatório para a perfeita classificação e reprodutibilidade do método.

VI. SUMMARY

Seventy-one cases of acute leukemia in adults and children, diagnosed during the past three years, were reviewed and classified according to FAB classification. 81.7% of the cases were diagnosed by the author, while 18.3% were diagnosed initially by other specialists. The FAB classification is analyzed. Using morphological criteria, we achieved an 87.3% diagnostic agreement in two major groups - AML and ALL - and a 63.4% agreement in the different sub-types. When diagnoses were compared according to cytochemistry results we achieved an 83.8% matching rate. Morphology and cytochemistry limitations as well as divergent results are discussed.

VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AUL, C.; FISCHER, J. Th. & SCHENEIDER, W. Diagnostik der akuten myeloischen Leukämien. Onkologic, 6: 280 - 6, jan.1983
2. BACCARANI, Michele; CORBELL, Giovanna; AMADOR, Sérgio; DRENTH-SCHONK, Alice; WILLEMRE, Roel; MELONT, Giovanna, CARDOZO, Paul Lopes. HAANEN, Clemeno; MANDELLI, Franco & TURA, Sante. Adolescent and adult acute lymphoblastic Leukemia: Prognostic features and outcome of therapy. A Study of 293 patients. Blood, 60(3): 677-84, set. 1982.
3. BENNET, J. M.; CATOVSKY, D. ; DANIEL, M.T. ; FLANDRIN, G.; GALTON, D.A.G.; GRALNICK, H.R. & SULTAN, C. The Morphological classification of acute lymphoblastic leukaemia ; concordance among observers and clinical correlations. British Journal of Haematology, 47: 553-61, 1981.
4. BENNETT, J. M.; CATOVSKY, D.; DANIEL, Marie - Therese; FLANDRIN, G.; GALTON, D.A.G; GRALNICK, H. R. & SULTAN, C. Proposals For the classification of the acute leukaemias. British Journal of Haematology, 33: 451-8, 1976.
5. BITTER, Mitchel C.; GOLOMB, Harvey M.; ROWLEY, Janet D. E. VARDIMAN, James W. A Morphologic and cytochemical study of acute myelomonocytic Leukemia with abnormal marrow



- eosinophils associated with INV (16) (p.13 q.22). American Journal of Clinical Pathology, 81(6): 733-41, jun.1984.
6. BOLL, I.T.M. & DOMEYER, C. Measurements of nuclear sizes of committed hematopoietic progenitor bone marrow smears. Acta Haematologica, 71: 18-12, 1984.
 7. BURNS, C. Patrik; ARMITAGE, James O.; FREY, Anthony L; DICK, Fred R.; JORDAN, James E. & WOOLSON, Robert F. Analysis of the presenting features of adult acute leukemia: the French - American - British classification. Cancer, 74(10): 2. 460-9, 1981 .
 8. CHAN, Wing C.; BRYNES, Russel K.; KIM, Fae H.; VERRAS, Athanasios; SCHICK, Cindy; GREEN, Richard J. & RAGAB, Abdelsalam H. Acute megakaryblastic leukemia in early childhood. Blood, 62(1): 92-8, jul. 1983.
 9. CHIN-YANG, Li. Leukemia cytochemistry. Mayo Clin. Prec. 56: 712-3, 1981.
 10. DICK, Fred R.; ARMITAGE, James O. & BURNS, O. Patrick. Diagnostic concurrence in the subclassification of adult acute leukemia using French - American - British criteria. Cancer, 49: 916-20, mar. 1982.
 11. FELDGES, A. J.; AUR, R. J. A.; VERZOSA, M. S. & DANIELS, S. Periodic acid - Schiff reaction, a useful index of duration of complete remisson in acute child Lood lymphocytic leukemia. Acta Haematologia, 52: 8-13, 1984.
 12. FLANDRIN, G.; BROUET J.C.; DANIEL, M.T. & PREUD' HOMME, J. L. Acute Leukemia with burkitt's tumor cells: a study of six cases with special reference to lymphocyte surface markers. Blood, 45(2): t83 -8, feb. 1975.

13. GALTON, D. A. G. & DACIE, J. V. Classification of the acute leukaemias. Blood Cells, 1(2): 19-29, 1975.
14. GRANILCK, Harvey R.; GALTON, D.A.G.; CATOUSKY, Daniel; SULTAN, Claude & BENNETT, John in. Classification of acute leukemia. Annals of Internal Medicine, 87: 740-53, 1977.
15. HAYHOE, E. G. J. Cytochemistry of the acute leukaemias. Histochemical Journal, 16: 1051-9, 1984.
16. HEAD, David R., SAVAGE, Richard A.; CEREZO, Lizardo; CRAVEN, Catherine M.; BICKERS, John N.; HARTSOCK, Robert; HOSTY, Thomas A. ; SAIKI, John H.; WILSON, Henry E. MORRISON, Francis S.; COLTMAN Jr., Carles A. & HUTTON, John J. Reproducibility of the French - American - British classification acute leukemia: the Southwest Oncology Group Experience. American Journal of Hematology, 18(1):47-57, 1985.
17. HUNN, D & TWARDZIK L. Acute Myelomonocytic Leukemia and the French - American - British classification. Acta Haematologica, 69(1): 36-40, jan. 1983.
18. KELETI, Julia; REVESZ, Ton & SCHULER, Dezső. Morphological diagnosis in childhood leukaemia. British Journal of Haematology, 40(3): 501-2, nov. 1978.
19. LE BIEN, Tucker W.; MCKENNA, Robert W.; ABRAMSON, Candice S.; GAJL-PECZALSKA, Kazimiera J.; NESBIT, Mark E.; COCCIA, Peter F.; BOODMFIELD, Clara D.; BRUNNING, Richard D. & KERSEY, John H. Use of monodonal antibodies, morphology, and cytochemistry to probe the cellular heterogeneity of acute leukemia and lymphoma. Cancer Research, 41 (11, pt.2):776-80, nov. 1981.

20. MILLER, Denis R.; LEIKIN, Sanford; AIBO, Vincent; SATHER, Harland & HAMMOND, Dinman. Prognostic importance of morphology (FAB classification) in childhood acute lymphoblastic leukaemia (ALL: a report from childrens cancer study groups. British Journal of Haematology, 48: 199 - 206, 1981.
21. MILLIGAN, D. W.; ROBERTS, B. E.; LIMBERT, H. J.; JALIHAI, S. & SCOTT, G. S. Cytochemical and immunological characteristics of acute monocytic leukaemia. British Journal of Haematology, 58: 391-7, 1984.
22. REIFFERS, J., DACHARY, D ; BERNARD, P.; VEYRET, V.; BOISSEAU, M. R. & BROUSTET, A. Classification morphologique des leucémies aiguës myéloïdes selon le système FAB; étude rétrospective de 106 cas. Revue Française d'Hématologie, 24: (4): 237- 40, 1982.
23. SANTANA, Liduina Ribeiro. Sudan Black e Ácido periódico de Schiff (PAS) no diagnóstico diferencial e prognóstico das leucemias agudas; comunicação pessoal s.n.t.
24. SHAW, Michel T. G. NORDQUIST, Robert E. "Pure" monocytic or histiomonocytic leukemia: a revised concept. Cancer, 35: 208 14, 1975.
25. SHAW, Michael T. The Cytochemistry of acute leukemia: a diagnostic evaluation, Seminars in Oncology, 3(3): 219-28, 1976.
26. SOARES, José Francisco & BARTMAN, Flávio Celso. Métodos estatísticos em medicina e biologia. In: COLÓQUIO BRASILEIRO DE MATEMÁTICA. 14., Rio de Janeiro, 1983, p.57-80.
27. SOCIÉTÉ FRANÇAISE d'HÉMATOLOGIE. Groupe Français de Morphologie Hematologique, Réunion, Lyon, 1980. Sous-classification cytologique des leucémies aiguës lymphoblastiques (système

- FAB); essai de reproductibilité du classement par un groupe de 37 observateurs. Nouvelle Reune Française d'Hématologie, 23 (4): 235 - 41, 1981.
28. SUDA, T.; ONAI, T. & MAEKAWA, T. Studies on abnormal polymorphonuclear neutrophils in acute myelogenous leukemia. clinical significance and changes after chemotherapy. American Journal of Hematology, 15: 45 - 56, 1983.
29. SULTAN, C.; DEREGNAUCOURT J.; KO, Y.W. ; IMBERT, M.; D'AGAY, M.F. Richard; GOUAULT - HEILMANN, M. & BRUN, B. Distribution of 250 cases of acute myeloid leukaemia (AML) according to the FAB classification and response to therapy. British Journal of Haematology, 47: 545 - 51, 1981.
30. UEDA, Rakanori; KITA, Kenbichi; KAGAWA, Daizaburo; TAMORI, Shigeki; ANDO, Seischo; SASADA, Masataka; YOSHIDA, Yataro; UCHINO Haruto & NAKAMURA, Toru. Acute Leukemia with two cell populations of lymphoblasts and monoblasts. Leukemia Research, 8(1): 63-9, 1984.
31. VAN DER REIJDEN, Hendrik J.; VAN RHENEN, Dick J.; LANSDORP, Peter M.; VAN'T VEER, Mars B.; LANGENHUIJSSEN, Mart M.A.C.; ENGELFRIET, C. Paul & VON DEM BORNE, Albert E.G. Kr. A Comparison of surface marker analysis and FAB classification in acute myeloid leukemia. Blood, 61(3): 443-8, mar. 1983.
32. VAN FURTH, R. & VAN ZWET, Theda L. Cytochemical, functional, and promonocytes and monocytes from patients with monocytic Leukemia. Blood, 62(2): 298- 304, aug. 1983.
33. VAN RHENEN, Dick J. & LANGENHUIJSSEN, Mart M.A.C. Clinical and Laboratory data related to maturation in acute leukemia. Cancer. 53: 1923-6, 1984.



34. VIANA, Marcos B.; MAURER, Helen S. & FERENC, Christine. Subclassification of acute lymphoblastic leukaemia in children: analysis of the reproducibility of morphological criteria and prognostic implications. British Journal of Haematology, 44: 383-8, 1980.
35. VON FLIEDNER, V.; CARREL, S.; MORELL, A.; HEUMANN, D.; LOSA, G.; HIRT, A.; JEANNET, M.; MACH, J.R. & CRUCHAUD, A. classification des leucémies aiguës par les marqueurs de surface et corrélation avec le diagnostic morphologique; résultats sur 111 cas. Schweizerische Medizinische Wochenschrift, 111(41): 1524-6 1981.
36. YOURNO, Joseph; BURKAT, Peter; LIZZI, Frank & TARTAGLIA, Anthony. Enzymologic classification of acute leukemias: nonspecific esterase markers distinguish myeloid and varieties. Blood. 60 (2): 304-8, aug. 1982.