

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE FARMÁCIA

CAMILA KRAUS

**ATLAS DIDÁTICO DE HEMATOLOGIA:  
MEDULA ÓSSEA E SANGUE PERIFÉRICO**

FLORIANÓPOLIS - SC  
2020

CAMILA KRAUS

**ATLAS DIDÁTICO DE HEMATOLOGIA:  
MEDULA ÓSSEA E SANGUE PERIFÉRICO**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina como requisito para a obtenção do título de Farmacêutico. Orientador: Prof<sup>ª</sup>. Dra. Solange Lúcia Blatt.

FLORIANÓPOLIS - SC  
2020

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Kraus, Camila

Atlas didático de hematologia : medula óssea e sangue periférico / Camila Kraus ; orientador, Solange Lúcia Blatt, 2020.

114 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -  
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Farmácia, Florianópolis, 2020.

Inclui referências.

1. Farmácia. 2. Hematologia. 3. Atlas didático. 4. Medula óssea. 5. Sangue periférico. I. Blatt, Solange Lúcia. II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Farmácia. III. Título.

Camila Kraus

**ATLAS DIDÁTICO DE HEMATOLOGIA:  
MEDULA ÓSSEA E SANGUE PERIFÉRICO**

Trabalho de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Santa Catarina elaborado como requisito para obtenção do Título de Farmacêutico.

Florianópolis, 26 de junho de 2020.



Prof<sup>ª</sup>. Dra. Solange Lúcia Blatt  
Orientadora  
UFSC/CCS/ACL

**Banca Examinadora:**



Documento assinado digitalmente  
Celso Spada  
Data: 26/06/2020 11:56:59 -0300  
CPF: 522.802.209-64

Prof<sup>ª</sup>. Dr. Celso Spada  
Avaliador  
UFSC/CCS/ACL



Dra. Francieli Joaquim Dassoler  
Avaliadora  
HUPEST/UFSC

Este trabalho é dedicado à minha família, especialmente meus pais, e aos meus amigos, por depositarem confiança e apoio em mim ao longo da graduação.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço primeiramente a Deus, que esteve sempre presente.

Ao meu pai José, minha mãe Alba e meu irmão William que foram essenciais durante a minha graduação, fornecendo suporte, apoio e compreensão.

À Bela, minha cachorra, pelo amor puro e incondicional, lealdade, olhar sincero e livre de julgamentos.

À minha professora e orientadora Solange Lúcia Blatt pelo apoio e dedicação prestados a mim durante a realização deste trabalho de conclusão de curso.

Ao Rafael Augusto Cunha pelo auxílio emocional durante a graduação e realização deste trabalho.

Às minhas amigas pelos momentos de descontração, diversão e conselhos.

A todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Essa pesquisa tem como objetivo elaborar um atlas didático de hematologia, para fornecer às comunidades científica e acadêmica um material de apoio fidedigno para consulta rápida e prática, fundamental para acompanhamento nas aulas, agregando aos alunos conhecimento e habilidade para agir como profissionais competentes durante a realização de um exame hematológico, dispondo de informações importantes para o diagnóstico clínico, prognóstico e tratamento do paciente. A decisão pelo tema surgiu após a realização da disciplina de Hematologia Clínica da Universidade Federal de Santa Catarina, onde notou-se a necessidade de um material didático de células sanguíneas para que os estudantes pudessem consultá-lo durante a graduação, auxiliando na aprendizagem e desenvolvimento, criando um elo entre a teoria e a prática. O presente trabalho é de caráter descritivo exploratório com abordagem qualitativa, que consiste na descrição de fotomicrografias autorais capturadas do material de apoio de sangue periférico e de medula óssea, pertencente ao acervo de lâminas, utilizado nas aulas práticas da disciplina supracitada dispondo-se na forma de um atlas didático. Foram abordados neste trabalho a morfologia fisiológica madura e imatura dos leucócitos e eritrócitos, morfologia madura de plaquetas, alterações leucocitárias adquiridas e hereditárias, alterações de eritrócitos e inclusões eritrocitárias, alterações no tamanho de plaquetas, mielograma, leucemias e guia prático de como realizar a leitura microscópica de uma distensão sanguínea.

**Palavras-chave:** Hematologia. Sangue periférico. Medula óssea.

## ABSTRACT

This research aims to develop a didactic hematology atlas, to provide the scientific and academic communities with a reliable support material for quick and practical consultation, essential for monitoring in classes, providing the students with knowledge and skills to act as qualified professionals during the activity of a hematological examination making important information available for the clinical diagnosis, prognosis and treatment of the patient. The theme was decided after the Clinical Hematology course at the Universidade Federal de Santa Catarina (Federal University of Santa Catarina), where the necessity for didactic material about blood cells was noticed by students so they could consult it during graduation, assisting therefore in their learning and development, creating a link between theory and practice. The present work is of an exploratory descriptive character with a qualitative approach, which consists on the description of captured photomicrographs of peripheral blood and bone marrow support material, belonging to the slide collection, used in the above-mentioned practical classes available in the form of a didactic atlas. This work covers mature and immature physiological morphology of leukocytes and erythrocytes, mature platelet morphology, acquired and hereditary leukocyte changes, changes in erythrocytes and erythrocyte inclusions, changes in platelet size, myelogram, leukemias and a guide on how to understand the microscopic reading of a blood strain.

**Keywords:** Hematology. Peripheral blood. Bone marrow.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Hierarquia da Hemopoese.....	27
Figura 2: Fórmula de Schilling.....	29
Figura 3: Esquema série neutrofílica.....	31
Figura 4: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Neutrófilos Segmentados.....	31
Figura 5: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Eosinófilos Segmentados.....	32
Figura 6: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Basófilos.....	33
Figura 7: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Monócitos.....	34
Figura 8: Esquema série eritroide.....	34
Figura 9: Fotomicrografia de Citomorfologia de Eritrócitos.....	35
Figura 10: Fotomicrografia de Citomorfologia de Plaquetas.....	36
Figura 11: Esquema série linfoide.....	36
Figura 12: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Linfócitos.....	37
Figura 13: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Hipersegmentação de neutrófilos.....	39
Figura 14: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de Pelger-Hüet.....	40
Figura 15: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Granulação tóxica em neutrófilos.....	41
Figura 16: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Corpúsculo de Döhle.....	42
Figura 17: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Vacuolizações de neutrófilos.....	42
Figura 18: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Bastonete de Auer.....	43
Figura 19: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de Alder-Reilly.....	44
Figura 20: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de May-Hegglin.....	45
Figura 21: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de Chédiak-Higashi.....	46
Figura 22: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Linfócitos atípicos.....	47
Figura 23: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Reticulócitos.....	57
Figura 24: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Alterações qualitativas.....	58

Figura 25: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Alterações qualitativas .....	59
Figura 26: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Drepanócitos.....	60
Figura 27: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Esquizócitos .....	61
Figura 28: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Inclusões eritrocitárias.....	62
Figura 29: Fotomicrografia de Alteração Plaquetária de tamanho. Macroplaquetas .....	63
Figura 30: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Mieloblastos .....	65
Figura 31: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Promielócitos .....	66
Figura 32: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Mielócitos .....	66
Figura 33: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Metamielócitos .....	67
Figura 34: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Neutrófilos Bastonetes.....	68
Figura 35: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Proeritroblasto .....	69
Figura 36: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Eritroblasto basófilo .....	70
Figura 37: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Eritroblastos policromáticos.....	70
Figura 38: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Eritroblastos ortocromáticos ....	71
Figura 39: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Linfoblastos .....	72
Figura 40: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Prolinfócitos .....	72
Figura 41: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Plasmócitos.....	73
Figura 42: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal .....	74
Figura 43: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal.....	76
Figura 44: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal .....	78
Figura 45: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal .....	80
Figura 46: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal .....	82
Figura 47: Fotomicrografia de Leucemia .....	90

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 - Características morfológicas de linfoblastos e mieloblastos nas LA .....	87
Quadro 2: Valores de referência absoluto e relativo de leucócitos .....	112
Quadro 3: Causas de alterações quantitativas de leucócitos.....	113

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AR	Alder-Reilly
ATP	Trifosfato de adenosina
BFU-E	Unidades formadoras de colônias da linhagem eritrocítica
BFU-Meg	Unidades formadoras de colônias megacariocíticas
BT	Bastonete
CCS	Centro de Ciências da Saúde
CFU-Baso	Unidades formadoras de colônias de basófilos
CFU-Eo	Unidades formadoras de colônias de eosinófilos
CFU-G	Unidades formadoras de colônias de neutrófilos
CFU-GEMM	Unidade formadora de colônias de granulócitos/eritrócitos/macrófagos/ megacariócitos
CFU-Linfo	Unidade formadora de colônias de linfócitos
CFU-LM	Unidade formadora de colônias linfoide / mieloide
CFU-M	Unidades formadoras de colônias de monócitos
CFU-S	Unidade formadora de colônias do baço
CHCM	Concentração de hemoglobina corpuscular média
CHS1	Gene regulador do transporte lisossomal
CIVD	Coagulação intravascular disseminada
EB	Eritroblasto basófilo
EDTA	Ácido etilenodiamino tetra-acético
EO	Eritroblasto ortocromático
EPC	Eritroblasto policromático
FAB	Classificação Britânica-Americana-Francesa
G-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e monócitos
G6PD	Glicose-6-fosfato desidrogenase
Hb	Hemoglobina
HDW	Amplitude de distribuição da concentração de hemoglobina nos eritrócitos
HUPEST	Hospital Universitário Polydoro Ernani de São Thiago
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LCAT	Lecitina-colesterol aciltransferase

LLA	Leucemia linfoblástica aguda
LLC	Leucemia linfocítica crônica
LMA	Leucemia mieloide aguda
LMC	Leucemia mieloide crônica
LYST	Gene regulador do transporte lisossomal
MB	Mieloblasto
MC	Mielócito
MHA	May-Hegglin
MM	Metamielócito
OMS	Organização Mundial de Saúde
PE	Proeritroblasto
PMC	Promielócito
RDW	Amplitude de Distribuição dos Glóbulos Vermelhos
RNA	Ácido ribonucleico
RT	Reticulócito
SG	Segmentado
SMD	Síndrome mielodisplásica
UFSC	Universidade Federal de Santa Catarina
VCM	Volume Corpuscular Médio

## LISTA DE SÍMBOLOS

fL	Fentolitro
g/dL	Gramas por decilitro
μm	Micrômetro
mm <sup>3</sup>	Milímetro cúbico
pg	Picograma
%	Porcentagem

## SUMÁRIO

<b>1.</b>	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
1.1	OBJETIVOS.....	21
1.1.1	<b>Objetivo Geral .....</b>	<b>21</b>
1.1.2	<b>Objetivos Específicos .....</b>	<b>21</b>
<b>2.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>22</b>
2.1	CARACTERÍSTICAS DA PESQUISA.....	22
2.2	PESQUISA BIBLIOGRÁFICA .....	22
2.3	SELEÇÃO DO MATERIAL DE MEDULA ÓSSEA E SANGUE PERIFÉRICO .....	22
2.4	LEITURA DO MATERIAL E fotomicrografias.....	23
2.5	ANÁLISE E DESCRIÇÃO DAS FOTOMICROGRAFIAS NO FORMATO DE ATLAS DIDÁTICO.....	24
<b>3</b>	<b>HEMOPOESE.....</b>	<b>26</b>
<b>4</b>	<b>MORFOLOGIA FISIOLÓGICA DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS MATURAS.....</b>	<b>29</b>
4.1	LINHAGEM MIELOIDE .....	30
4.1.1	<b>Linhagem granulocítica .....</b>	<b>30</b>
4.1.1.1	Neutrófilo segmentado .....	31
4.1.1.2	Eosinófilo .....	32
4.1.1.3	Basófilo.....	32
4.1.2	<b>Linhagem monocítica .....</b>	<b>33</b>
4.1.2.1	Monócito.....	33
4.1.3	<b>Linhagem eritroide .....</b>	<b>34</b>
4.1.3.1	Eritrócito.....	35
4.1.4	<b>Linhagem megacariocítica .....</b>	<b>35</b>
4.1.4.1	Plaqueta .....	35
4.2	LINHAGEM LINFOIDE.....	36
4.2.1	<b>Linfócito.....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>ALTERAÇÕES ADQUIRIDA E HEREDITÁRIA DOS LEUCÓCITOS.....</b>	<b>38</b>
5.1	ALTERAÇÃO NUCLEAR .....	38
5.1.1	<b>Hipersegmentação .....</b>	<b>38</b>
5.1.2	<b>Anomalia de Pelger-Hüet.....</b>	<b>39</b>
5.2	ALTERAÇÃO CITOPLASMÁTICA.....	40
5.2.1	<b>Granulação tóxica.....</b>	<b>40</b>
5.2.2	<b>Corpúsculo de Döhle .....</b>	<b>41</b>
5.2.3	<b>Vacúolo .....</b>	<b>42</b>

5.2.4	<b>Bastonete de Auer</b> .....	43
5.2.5	<b>Anomalia de Alder-Reilly</b> .....	43
5.2.6	<b>Anomalia de May-Hegglin</b> .....	44
5.2.7	<b>Síndrome Chédiak-Higashi</b> .....	45
5.3	<b>ALTERAÇÃO NUCLEAR E CITOPLASMÁTICA</b> .....	46
5.3.1	<b>Linfócitos atípicos</b> .....	46
6	<b>ALTERAÇÕES DOS ERITRÓCITOS</b> .....	48
6.1	<b>ALTERAÇÃO NA COLORAÇÃO OU ANISOCROMIA</b> .....	48
6.1.1	<b>Hipocromia</b> .....	48
6.1.2	<b>Policromasia</b> .....	49
6.2	<b>ALTERAÇÃO NO TAMANHO OU ANISOCITOSE</b> .....	49
6.2.1	<b>Micrócitos e microcitose</b> .....	49
6.2.2	<b>Macrócitos e macrocitose</b> .....	50
6.3	<b>ALTERAÇÃO NA DISTRIBUIÇÃO</b> .....	50
6.3.1	<b>Formação de rouleaux</b> .....	50
6.4	<b>ALTERAÇÃO NA FORMA OU PECILOCITOSE</b> .....	51
6.4.1	<b>Drepanócito</b> .....	51
6.4.2	<b>Codócito</b> .....	51
6.4.3	<b>Acantócito</b> .....	52
6.4.4	<b>Queratócito</b> .....	52
6.4.5	<b>Esquizócito</b> .....	52
6.4.6	<b>Equinócito</b> .....	53
6.4.7	<b>Dacriócito</b> .....	53
6.4.8	<b>Ovalócito e eliptócitos</b> .....	53
6.4.9	<b>Esferócitos</b> .....	54
6.4.10	<b>Estomatócito</b> .....	54
6.5	<b>INCLUSÕES ERITROCITÁRIAS</b> .....	55
6.5.1	<b>Pontilhado basófilo</b> .....	55
6.5.2	<b>Howell-jolly</b> .....	55
6.5.3	<b>Corpúsculo de Pappenheimer</b> .....	56
6.5.4	<b>Corpo de Heinz</b> .....	56
6.5.5	<b>Anel de Cabot</b> .....	57
6.6	<b>RETICULÓCITO</b> .....	57
7	<b>ALTERAÇÕES NAS PLAQUETAS</b> .....	63
7.1	<b>ALTERAÇÃO NO TAMANHO</b> .....	63
8	<b>MEDULA ÓSSEA</b> .....	64
8.1	<b>MIELOBLASTO</b> .....	65



8.2	PROMIELÓCITO.....	65
8.3	MIELÓCITO .....	66
8.4	METAMIELÓCITO.....	67
8.5	NEUTRÓFILO BASTONETE.....	67
8.6	MONOBLASTO.....	68
8.7	PROMONÓCITO.....	68
8.8	PROERITROBLASTO.....	69
8.9	ERITROBLASTO BASÓFILO .....	69
8.10	ERITROBLASTO POLICROMÁTICO .....	70
8.11	ERITROBLASTO ORTOCROMÁTICO .....	71
8.12	LINFOBLASTO .....	71
8.13	PROLINFÓCITO .....	72
8.14	PLASMÓCITO.....	73
<b>9</b>	<b>LEUCEMIAS .....</b>	<b>84</b>
9.1	LEUCEMIAS AGUDAS.....	85
<b>9.1.1</b>	<b>Leucemia mieloide aguda .....</b>	<b>85</b>
<b>9.1.2</b>	<b>Leucemia linfoblástica aguda .....</b>	<b>86</b>
9.2	LEUCEMIAS CRÔNICAS .....	88
<b>9.2.1</b>	<b>Leucemia mieloide crônica.....</b>	<b>88</b>
<b>9.2.2</b>	<b>Leucemia linfocítica crônica .....</b>	<b>89</b>
<b>10</b>	<b>GUIA PRÁTICO DE COMO REALIZAR A LEITURA MICROSCÓPICA DE UMA DISTENSÃO SANGUÍNEA .....</b>	<b>91</b>
<b>11</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>94</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>95</b>
	APÊNDICE A – Contagem global de eritrócitos na câmara de Neubauer .....	102
	APÊNDICE B – Determinação do hematócrito ou microhematócrito.....	104
	APÊNDICE C – Hemoglobinometria .....	105
	APÊNDICE D – Índices hematimétricos .....	106
	APÊNDICE E – Contagem total dos leucócitos em câmara de Neubauer.....	107
	APÊNDICE F – Preparo da distensão sanguínea .....	109
	APÊNDICE G – Contagem diferencial dos leucócitos .....	110
	APÊNDICE H – Leucocitose e leucopenia .....	112

## 1. INTRODUÇÃO

Esse projeto teve o objetivo de elaborar um atlas didático de hematologia, através da descrição do material de apoio de medula óssea e sangue periférico, utilizado nas aulas práticas de Hematologia Clínica do Departamento de Análises Clínicas (ACL) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), cuja decisão pelo tema surgiu após realização da disciplina supracitada.

Nessa disciplina os alunos realizavam leituras de lâminas de material de medula óssea e sangue periférico no microscópio, observando sua celularidade e morfologia em condições fisiológicas e patológicas, fazendo diferenciação da morfologia celular. Com isso, durante as aulas, surgiam dúvidas por parte dos alunos referente à morfologia das células, utilizando figuras de livros para saná-las. Entretanto, em alguns momentos, não era possível sanar as dúvidas, já que nos livros são selecionadas as melhores imagens, muitas vezes incompatíveis com o que era visto no microscópio pelos alunos. Notou-se a necessidade de um material didático para que os estudantes pudessem consultá-lo durante a graduação, auxiliando na aprendizagem e desenvolvimento, com fotomicrografias<sup>1</sup> capturadas das lâminas utilizadas na disciplina, criando um elo entre a teoria e a prática. Segundo Justino (2011):

No universo da educação, a utilização de recursos didáticos e da tecnologia inovadora, somados a prática pedagógica adequada, busca despertar o interesse para o aprendizado, pois oferecem um conjunto de recursos importantes e ferramentas de comunicação e informações, tornando-se, assim, um componente essencial de pesquisa e um potente instrumento de ensino-aprendizagem (JUSTINO, 2011, p. 73)

O presente atlas é um material com imagens de autoria própria das células da medula óssea e sangue periférico mediante descrição de suas respectivas características, fornecendo às comunidades científica, acadêmica e profissional um material de apoio fidedigno para consulta rápida e prática. É fundamental para acompanhamento nas aulas agregando aos alunos conhecimento e habilidade para agirem como profissionais competentes durante análise da distensão de sangue e de medula óssea, essencial para a avaliação hematológica dos pacientes, fornecendo informações importantes para o diagnóstico clínico. É necessário um profissional qualificado e capacitado para exercer a função referida acima, evitando possíveis erros que

---

<sup>1</sup> Técnica por meio da qual se obtêm reproduções fotográficas em tamanhos reduzidos através das lentes de um microscópio.

possam comprometer a saúde do paciente. Para isso é necessário que esse profissional tenha ou tenha tido acesso a um material didático descritivo sobre células sanguíneas que o auxilie na sua formação e execução do trabalho (LORENZI, 2011).

Segundo Failace e Fernandes (2015), o hemograma é um exame que avalia os três componentes presentes no sangue, os eritrócitos, leucócitos e as plaquetas, envolvendo uma avaliação quantitativa e qualitativa de cada estrutura sanguínea, ou seja, contagem por meio de analisadores hematológicos automatizados e análise microscópica da morfologia através da hematoscopia, respectivamente. O hemograma é um exame essencial para uma avaliação hematológica, sendo solicitado para uma análise de rotina do paciente ou em situações de queixas que requerem um diagnóstico e monitoramento, expressando as condições do sangue periférico em um certo momento da vida do indivíduo, sendo importante para a identificação de alterações celulares adquiridas e hereditárias, anemias, leucemias, hemorragias, infecções, hematozoários e dentre outras patologias, fornecendo informações importantes para o diagnóstico clínico, tratamento e acompanhamento do paciente (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; SOUZA et al., 2018).

A hematoscopia é realizada através da microscopia da distensão sanguínea após coloração, fazendo parte do hemograma, fornecendo dados valiosos no estudo das doenças relacionadas ao sangue e demais sistemas do organismo, avaliando os três componentes do sangue (FAILACE; FERNANDES, 2015). Comar, Malvezzi e Pasquini (2017) afirma que a hematoscopia tem como objetivo buscar alterações morfológicas e a identificação de células imaturas relevantes para o diagnóstico e monitoramento dos pacientes e serve como uma ferramenta para complementar as informações obtidas nos analisadores hematológicos automatizados, já que não conseguem detectar algumas alterações celulares.

De acordo com Kawahara e Shiozawa (2015) a coloração da distensão sanguínea para o exame microscópico é um procedimento prático e fundamental para avaliação e estudo das células sanguíneas, que possuem características morfológicas definidas, podendo ser distinguidas umas das outras por observação microscópica direta. O processo de leitura da distensão sanguínea está entre os processos mais demorados nos laboratórios de hematologia, exigindo alta competência técnica, visando a minimização de erros inerentes à subjetividade. Uma sistematização técnica ao examinar o material torna-se necessária para minimizar erros e extrair dele o maior número possível de conclusões. A memorização das características citológicas importantes é uma das formas de realizar a leitura com excelência, assegurando um

exame completo da distensão sanguínea, certificando-se de que pontos importantes foram observados (COMAR; MALVEZZI; PASQUINI, 2017).

O tipo celular mais predominante no sangue periférico adulto é o neutrófilo segmentado, seguido por linfócito, monócito, eosinófilo, bastonete e basófilo. As células citadas anteriormente são as formas maduras, estando presentes no sangue periférico, entretanto para que cada célula chegue ao seu estágio de maturação completo, são necessárias células precursoras imaturas, ou seja, durante a leitura da distensão sanguínea é esperado encontrar apenas formas maduras em situações fisiológicas, diferente da distensão de medula óssea, onde é possível evidenciar células imaturas, já que é o local de produção destas células (KENT; DYKSTRA; EAVES, 2016; LORENZI, 2011).

Durante a análise da distensão sanguínea podem ser identificadas algumas alterações dos leucócitos, que podem ser quantitativas e qualitativas. As quantitativas estão relacionadas com a quantidade das células, que podem estar aumentadas ou diminuídas. O aumento resulta da redistribuição celular ou de um aumento na produção e liberação medular, já a diminuição também pode resultar da redistribuição ou da redução na produção e liberação da medula óssea, portanto necessitam de maiores investigações. As qualitativas estão relacionadas com alterações no núcleo ou citoplasma da célula e englobam as anomalias leucocitárias, que são modificações na forma e função da célula. Essas modificações possuem carácter hereditário, transmitidas como doenças autossômicas recessivas ou dominantes, como por exemplo anomalia de Alder-Reilly e Chédiak-Higashi, que são recessivas, e anomalia de Pelger-Huet e May-Hegglin que são dominantes. Também podem ser identificadas as alterações adquiridas de leucócitos, que são decorrentes de infecções virais e bacterianas, resposta medicamentosa, intoxicação, queimaduras e gestação, exemplos de alterações são granulocitose tóxica, corpos de Döhle, hipersegmentação, vacuolizações e linfócitos atípicos (FAILACE; FERNANDES, 2015; LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015).

As alterações hereditárias e adquiridas citadas anteriormente, são confundidas entre si em muitos casos, gerando um diagnóstico errôneo, sendo imprescindível um profissional atualizado, capacitado e qualificado para a realizar a avaliação hematológica, contribuindo para um tratamento adequado e melhora na qualidade de vida do paciente.

Além das alterações adquiridas e hereditárias dos leucócitos, existem as leucemias, que, segundo o Instituto Nacional de Câncer – INCA – (2020) é uma doença maligna, onde uma célula sanguínea imatura sofre uma mutação genética transformando-a em uma célula

cancerosa, multiplicando-se rapidamente, de forma que as células sanguíneas saudáveis presentes na medula óssea vão sendo substituídas por células anormais cancerosas. Atualmente, existem diversos tipos de leucemia, as mais comuns são a leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia mieloide crônica (LMC), que afetam as células imaturas de origem mieloide e leucemia linfoblástica aguda (LLA) e leucemia linfocítica crônica (LLC), que afetam as células imaturas e maduras, respectivamente, de origem linfóide necessitando de uma hematoscopia realizada de forma correta para um posterior tratamento adequado do paciente (HAMERSCHLAK, 2008; MARQUES, 2017; SILVA, 2006).

Alterações nas hemácias também podem ser detectadas, sendo quantitativas ou qualitativas. As quantitativas estão relacionadas ao número de eritrócitos presentes no sangue do indivíduo, que pode estar aumentado, situação conhecida como eritrocitose, que não precisa necessariamente estar correlacionada com hemoglobina e hematócrito aumentados, mas caso haja essa correlação, chama-se de poliglobulia. Já as situações onde ocorrem diminuição no número de hemácias, chama-se de eritropenia. As qualitativas envolvem alterações de coloração, tamanho, morfologia e inclusões em eritrócitos, necessitando de um profissional capacitado para desenvolver uma hematoscopia com excelência contribuindo para a saúde da população (GUALANDRO, 2013; LORENZI, 2011; NAOUM, P., NAOUM, F., 2008).

Em algumas situações a avaliação da distensão sanguínea é insuficiente para a análise do quadro clínico do paciente, sendo necessária uma maior investigação através coleta de medula óssea para a realização do mielograma. Nesse exame uma pequena quantidade de sangue contido na região esponjosa do osso é aspirada por um profissional qualificado e analisado citologicamente (FAILACE; FERNANDES, 2015; INCA, 2020).

Não se sabe exatamente quando e de que maneira o sangue foi examinado pela primeira vez, mas antes dos dias da microscopia só era possível estudar o aspecto macroscópico do sangue [...]. O exame microscópico do sangue por Leeuwenhoek e outros no século 17 e aperfeiçoamento subsequentes em seu equipamento rudimentar forneceram os meios pelos quais a teoria e o dogma seriam gradualmente substituídos pelo conhecimento científico (LEE et al., 1996, p.3).

Desde então, os avanços científicos e tecnológicos na área de hematologia impulsionaram grande desenvolvimento e agilidade na prevenção e diagnóstico laboratorial de diversas doenças hematológicas, especialmente as de origem hereditária, sendo necessário que o profissional atuante da área esteja em constante adaptação e atualização para melhor desempenho da função (NAOUM, 2001).

## 1.1 OBJETIVOS

### 1.1.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo a elaboração de um atlas didático de hematologia por meio da descrição do material de apoio de medula óssea e sangue periférico utilizado nas aulas práticas de hematologia clínica, pertencente ao acervo de lâminas da disciplina.

### 1.1.2 Objetivos Específicos

- Realizar revisão teórica referente a hemopoese, morfologia fisiológica de células sanguíneas, alterações qualitativas leucocitárias, eritrocitárias e plaquetárias, mielograma e leucemias.
- Preparar fotomicrografias morfológicas de células sanguíneas, de origem mieloide e linfoide, de medula óssea e sangue periférico.
- Detalhar os estágios de maturação celular e as características morfológicas dos precursores celulares.
- Descrever a morfologia celular citoplasmática e nuclear fisiológica de leucócitos.
- Descrever a morfologia celular citoplasmática fisiológica de eritrócitos.
- Descrever a morfologia fisiológica de plaquetas.
- Realizar a descrição das alterações qualitativas adquiridas e hereditárias em leucócitos.
- Detalhar as alterações qualitativas de coloração, tamanho, morfologia e inclusões citoplasmáticas em eritrócitos.
- Detalhar a alteração qualitativa de tamanho em plaquetas.
- Preparar fotomicrografias de medula óssea enumerando e identificando as células sanguíneas presentes no campo.
- Descrever as características celulares presentes na leucemia linfocítica crônica (LLC), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA) e leucemia mieloblástica aguda (LMA).
- Elaborar um guia prático de como realizar a leitura microscópica da distensão sanguínea.

## 2. METODOLOGIA

### 2.1 CARACTERÍSTICAS DA PESQUISA

O presente trabalho é de caráter descritivo exploratório com abordagem qualitativa, que consiste na descrição de fotomicrografias capturadas do material de apoio de sangue periférico e de medula óssea, pertencente ao acervo de lâminas, utilizado nas aulas práticas de Hematologia Clínica do departamento de análises clínicas da Universidade Federal de Santa Catarina, dispondo-se na forma de um atlas didático.

Segundo Gil (2017), a pesquisa descritiva:

Tem como objetivo a descrição das características de determinada população ou fenômeno. Podem ser elaboradas também com a finalidade de identificar as possíveis relações entre variáveis. São em grande número as pesquisas que podem ser classificadas como descritivas e a maioria das que são realizadas com objetivos profissionais provavelmente se enquadra nessa categoria (GIL, 2017, p. 26)

Ainda de acordo com Gil (2017, p. 26), “as pesquisas exploratórias têm como propósito proporcionar maior familiaridade com o problema, com vistas a torná-lo mais explícito”.

### 2.2 PESQUISA BIBLIOGRÁFICA

Para a realização do trabalho foi necessário realizar um levantamento bibliográfico em livros de hematologia e nos periódicos acadêmicos do portal *Scientific Electronic Library Online*<sup>2</sup> (sciELO), PubMed<sup>3</sup> e ScienceDirect<sup>4</sup>, sendo avaliados artigos nos idiomas inglês, espanhol e português sobre hematologia nos últimos vinte anos.

### 2.3 SELEÇÃO DO MATERIAL DE MEDULA ÓSSEA E SANGUE PERIFÉRICO

A primeira etapa do trabalho consistiu na seleção das lâminas do acervo utilizado nas aulas práticas de Hematologia Clínica para contemplar o conteúdo deste atlas didático de hematologia. Para a realização desta etapa, foi consultado o material utilizado nas aulas práticas

---

<sup>2</sup> Disponível em: <https://www.scielo.org/>

<sup>3</sup> Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

<sup>4</sup> Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/>

da disciplina, que descreve o conteúdo de cada lâmina de distensão sanguínea e de medula óssea, e foram selecionadas lâminas de medula óssea e lâminas de sangue periférico.

As lâminas selecionadas de sangue periférico abrangem: a morfologia fisiológica de células maduras e imaturas da linhagem granulocítica, monocítica, eritroide, linfóide e apenas de célula madura da linhagem megacariocítica, devido à falta de material; as alterações leucocitárias adquiridas e hereditárias; alterações de tamanho, cor, forma e inclusões dos eritrócitos; e leucemias. As lâminas selecionadas de medula óssea abrangem a morfologia fisiológica de leucócitos, eritrócitos e plaquetas.

#### 2.4 LEITURA DO MATERIAL E FOTOMICROGRAFIAS

A leitura do material de apoio de sangue periférico e de medula óssea, pertencente ao acervo de lâminas, utilizado nas aulas práticas de Hematologia Clínica, foi realizada com o auxílio do microscópio. A distensão sanguínea e de medula óssea possui três regiões, a cabeça, o corpo e a cauda, a leitura do material ocorreu na região do corpo, uma região intermediária entre cabeça e cauda, nessa região os leucócitos, hemácias e plaquetas estão distribuídos de forma mais homogênea, e esta é a área de escolha para a análise qualitativa da distensão sanguínea e de medula óssea. Inicialmente, a leitura foi executada com a objetiva de pequeno aumento, ou seja, de 10x, para a observação da distribuição das células especialmente nas margens e cauda da distensão. Foi selecionada a região de distribuição adequada dos elementos sanguíneos e realizada a leitura do material com a objetiva de 40x, através do método de Ameia modificado, ou seja, zigue-zague, percorrendo o material adequadamente. Em algumas situações foi necessário avaliar detalhes sutis por imersão, através da objetiva de 100x com uma gota de óleo de imersão para auxiliar na leitura.

As fotomicrografias foram obtidas através de uma câmera fotográfica, SONNY-Cyber-Shot ZEISS 7,2 Megapixels, e de câmera de aparelho celular, iPhone 6s, acoplados e uma das lentes do microscópio ligado focado na estrutura celular contida na lâmina do material de apoio de sangue periférico e medula óssea que deseja proceder a fotomicrografia.



## 2.5 ANÁLISE E DESCRIÇÃO DAS FOTOMICROGRAFIAS NO FORMATO DE ATLAS DIDÁTICO

Após a obtenção das fotomicrografias foi realizada a seleção das imagens para cada tópico do atlas. Algumas fotomicrografias não receberam edição, entretanto outras foi necessário proceder edição no próprio Microsoft Word, tais como recorte e ajuste na luminosidade da foto. Em seguida, foi realizada a descrição da característica morfológica das células presentes no sangue periférico e medula óssea conforme o levantamento bibliográfico.

## 2.6 ESTRUTURA DO TRABALHO

Quanto à organização, este trabalho está estruturado em onze seções que se organizam em elementos referentes as células sanguíneas presentes na medula óssea e sangue periférico e suas morfologias em condições fisiológicas e patológicas.

A primeira seção contém elementos introdutórios que apresentam breves apontamentos sobre como surgiu a decisão pelo tema, a importância e objetivos da pesquisa e conceitos de hematologia, abordando brevemente a morfologia celular em condições fisiológicas e patológicas.

A segunda seção descreve a metodologia utilizada para a produção deste atlas didático com base no material de medula óssea e sangue periférico utilizado nas aulas práticas de Hematologia Clínica da Universidade Federal de Santa Catarina.

A terceira seção aborda uma revisão sobre a hemopoese, trazendo considerações importantes sobre o assunto, necessárias para a compreensão das seções subsequentes.

A quarta seção é sobre a morfologia fisiológica das células sanguíneas de linhagem mieloide e linfóide, dispondo a fotomicrografia de cada célula madura e seus precursores celulares com suas respectivas descrições morfológicas.

A quinta seção aborda as alterações celulares adquiridas e hereditárias dos leucócitos expondo as fotomicrografias e descrições.

A sexta seção é sobre as alterações dos eritrócitos, com fotomicrografias e descrições sobre as alterações de tamanho, cor, forma e inclusões eritrocitárias.

A sétima seção aborda as alterações de tamanho das plaquetas.

A oitava seção discorre sobre como é a celularidade da medula óssea vista ao microscópio durante a realização do mielograma e sobre a morfologia fisiológica dos precursores celulares de linhagem mieloide e linfoide, dispondo a fotomicrografia com suas respectivas descrições morfológicas.

A nona seção aborda sobre as leucemias, descrevendo as alterações celulares visualizadas na distensão sanguínea na LMA, LLA, LMC e LLC.

A décima seção é um guia prático descrevendo como realizar a leitura microscópica de uma distensão sanguínea.

Para concluir, a décima primeira e última seção traz as considerações finais, onde são apresentadas algumas reflexões e considerações a partir da elaboração da presente pesquisa.

### 3 HEMOPOESE

O sangue é um tecido fluido formado pelos elementos celulares suspensos no plasma. Estes elementos são os leucócitos, chamados também de glóbulos brancos, hemácias, também denominados eritrócitos ou glóbulos vermelhos, e as plaquetas ou fragmentos celulares, os quais possuem limites de concentrações restritos, que variam com o sexo e a idade (CALADO; FALCÃO, 2013). No adulto normal o número de leucócitos varia de  $4.000/\text{mm}^3$  a  $11.000/\text{mm}^3$ , as hemácias de  $3.500.000/\text{mm}^3$  a  $4.500.000$  em mulheres e  $4.500.000/\text{mm}^3$  a  $5.500.000/\text{mm}^3$  em homens e plaquetas de  $150.000/\text{mm}^3$  a  $450.000/\text{mm}^3$ . O plasma corresponde a mais de 50% do sangue normal.

As três estruturas do sangue são originadas de um precursor celular comum e indiferenciado denominado célula tronco, pluripotente ou stem-cell, por um processo chamado hemopoese, um processo contínuo de produção, desenvolvimento, maturação e destruição de células sanguíneas, mantidas em níveis normais fisiologicamente e aumentados ou diminuídos em resposta à demanda, ou seja, em condições patológicas (GROARKE; YOUNG, 2019; KENT; DYKSTRA; EAVES, 2016). A hemopoese é iniciada no período embrionário e continua ao longo da vida, sendo um processo complexo e hierárquico, onde no ápice encontra-se a célula tronco, uma célula com capacidade de auto-renovação para manter o pool de stem-cells, de diferenciação para progenitores de todas as linhagens sanguíneas e de alta capacidade proliferativa (NG; ALEXANDER, 2017). A hemopoese se divide em embrionária, fetal e pós-natal, as duas primeiras denominadas pré-natal (LORENZI, 2011).

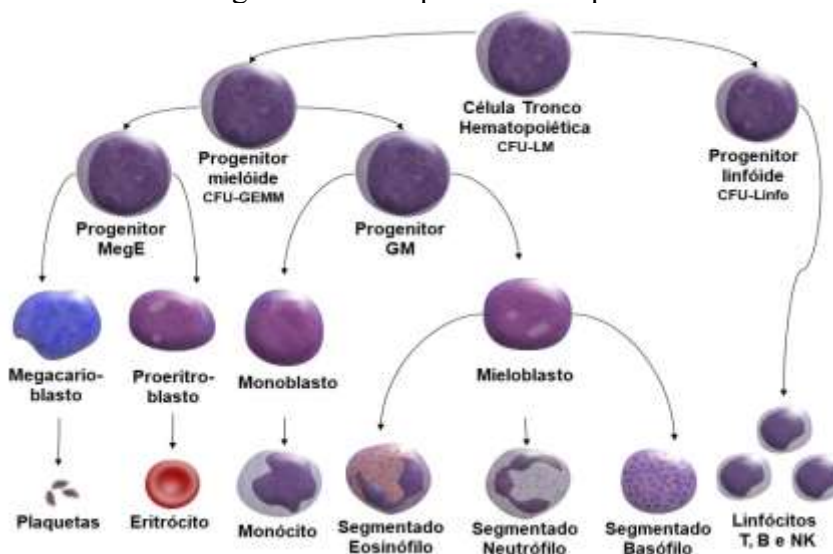
A hemopoese pré-natal ocorre em três estágios anatômicos, mesoblástico, hepático e mieloide. As primeiras células sanguíneas surgem por volta da sétima ou oitava semana de vida por meio de agrupamentos de células redondas localizadas no saco vitelino, chamado estágio mesoblástico da hemopoese embrionária, perdurando até o quarto mês. Do quarto ao sexto mês, as células sanguíneas são provenientes do baço e fígado, chamado estágio hepático da hemopoese hepatoesplênica. A partir do sexto mês, a formação das mesmas passa a ocorrer na medula óssea vermelha, chamado estágio mieloide da hemopoese medular (CALADO; FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011; NG; ALEXANDER, 2017).

Segundo Calado e Falcão (2013) a hemopoese pós-natal ocorre fisiologicamente na medula óssea vermelha em humanos, predominantemente na medula óssea de ossos chatos e longos como vértebras, costelas, crânio, esterno, sacro, pelve e fêmur. As células

indiferenciadas pluripotentes que estão em repouso na medula óssea são estimuladas pelo fator de crescimento de stem-cell e pelo fator de diferenciação FLT3, e por meio da Unidade Formadora de Colônia no Baço (CFU-S) dividem-se e diferenciam-se em células indiferenciadas mieloide e linfoide, células com maior grau de diferenciação, tornando-se onipotentes, sem capacidade de auto-renovação, capazes de dar origem a apenas uma determinada série sanguínea. A célula indiferenciada mieloide, denominada CFU-GEMM, diferencia-se para as linhagens granulocíticas, eritrocitárias, monocitárias e megacariocitárias. A célula indiferenciada linfoide, CFU-Linfo, origina os linfócitos tipo T (timo-dependentes), linfócitos B (bursa-símile-dependentes) e linfócitos citotóxicos (Célula Natural Killer) (LORENZI, 2011).

Na figura 1 é possível observar a hierarquia da hemopoese, iniciando pelo primeiro progenitor hematopoiético, a unidade formadora de colônias linfoide/mieloide (CFU-LM), que produz todas as linhagens hematopoiéticas. O CFU-LM diferencia-se em unidade formadora de colônias linfoide, denominada CFU-Linfo, que produz apenas células de origem linfoide e em unidade formadora de colônia granulocítica/eritroide/monocítica/megacariocítica, denominada CFU-GEMM, que produz apenas células de origem mieloide. A CFU-GEMM se diferenciará em unidades formadoras de colônias da linhagem megacariocítica (BFU-Meg), eritrocítica (BFU-E), eosinofílica (CFU-Eo), basofílica (CFU-Baso), neutrofílica (CFU-G) e monocítica (CFU-M) formando plaquetas, eritrócitos, eosinófilos, basófilos, neutrófilos e monócitos maduros, respectivamente (RIEGER; SCHROEDER, 2012; WERTHEIM; BAGG, 2014).

Figura 1: Hierarquia da Hemopoese



Fonte: BLATT, 2004.

As células sanguíneas de origem mieloide após maduras, saem da medula óssea e caem na circulação para exercerem suas funções. As células que vão se diferenciar em linfócitos B permanecem na medula óssea e após maduras entram na circulação, migrando para os órgãos linfoides secundários. Já as células que irão se diferenciar em linfócitos T migram da medula óssea para o timo para ocorrer o processo de seleção e maturação, após maduros vão para a circulação e posteriormente para os órgãos linfoides secundários (CALADO; FALCÃO, 2013; MESQUITA JÚNIOR et al., 2010).

A eritropoese é responsável pela produção da primeira linhagem celular, que inclui os eritrócitos, células responsáveis pelo transporte de oxigênio dos pulmões aos tecidos e transportar gás carbônico dos tecidos aos pulmões. A segunda linhagem são os leucócitos, formados por meio da leucopoese, o grupo mais heterogêneo de células sanguíneas, tanto morfológica quanto fisiologicamente, estão envolvidas na resposta imunológica inata e adquirida do organismo, onde principal objetivo é a defesa contra agentes externos, como bactérias, vírus, fungos, parasitas e partículas estranhas ao meio interno. Por último a terceira linhagem originada pela trombopoese, que são as plaquetas, responsáveis pela hemostasia e prevenção de sangramento (CALADO; FALCÃO, 2013; NG; ALEXANDER, 2017; RIEGER; SCHROEDER, 2012; WERTHEIM; BAGG, 2014).

As células sanguíneas maduras são constantemente regeneradas ao longo da vida a partir de células-tronco hematopoiéticas através de diferentes estágios de progenitores e maturação, dependendo de um microambiente adequado e de fatores de crescimento, também chamados de fatores estimuladores de colônias, responsáveis por estimular a proliferação e diferenciação de células imaturas e a atividade funcional das células maduras. Por isso é necessário compreender e reconhecer as diferentes linhagens de células sanguíneas e seus estágios de maturação (RIEGER; SCHROEDER, 2012).

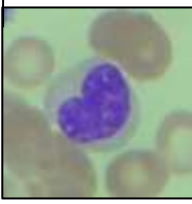
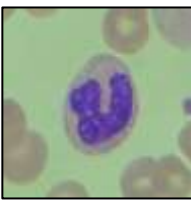
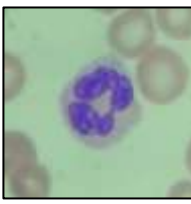
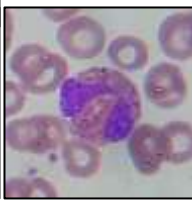
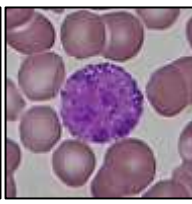
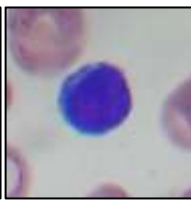
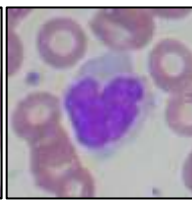
#### 4 MORFOLOGIA FISIOLÓGICA DAS CÉLULAS SANGUÍNEAS MATURAS

Os leucócitos, eritrócitos e plaquetas são os componentes presentes na medula óssea e no sangue periférico que possuem características morfológicas definidas, podendo ser distinguidas umas das outras por observação microscópica direta (KAWAHARA; SHIOZAWA, 2015). A célula indiferenciada mieloide dará origem as linhagens granulocíticas, eritrocitárias, monocíticas e megacariocítica, ou seja, neutrófilos, eosinófilos e basófilos, eritrócitos, monócitos e plaquetas, respectivamente, e a célula indiferenciada linfoide originará linfócitos do tipo T, B e células NK (KENT; DYKSTRA; EAVES, 2016).

Pode-se dividir os leucócitos em cinco tipos diferentes, conforme características específicas de coloração, morfologia nuclear e citoplasmática, sendo estes neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos, os três primeiros chamados de polimorfonucleares, e os dois últimos de mononucleares, com e sem granulações secundárias ou específicas, respectivamente. Essa divisão compreende os leucócitos imaturos e maduros (CALADO; FALCÃO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015; ROSENFELD, 2012).

As células citadas anteriormente são as formas maduras presentes no sangue periférico, entretanto para que cada célula chegue ao seu estágio de maturação completo, são necessárias células precursoras imaturas. Fisiologicamente, durante a leitura da distensão sanguínea é esperado encontrar apenas formas maduras, diferente da distensão de medula óssea, onde é possível evidenciar células imaturas, já que é o local de produção destas células (MESQUITA JÚNIOR et al., 2010).

Figura 2: Fórmula de Schilling

NEUTRÓFILOS						
						
METAMIELOCITO	BASTÃO	SEGMENTADO	EOSINÓFILO	BASÓFILO	LINFÓCITO	MONÓCITO
0%	0 a 5%	45,5 a 74%	0,5 a 4%	0 a 2%	22,3 a 49,9%	0,7 a 7,5%
0 mm <sup>3</sup>	1700 a 7500 mm <sup>3</sup>		20 a 670 mm <sup>3</sup>	0 a 130 mm <sup>3</sup>	1000 a 3500 mm <sup>3</sup>	200 a 920 mm <sup>3</sup>

Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

## 4.1 LINHAGEM MIELOIDE

### 4.1.1 Linhagem granulocítica

Para a formação de leucócitos polimorfonucleares, que são os neutrófilos, eosinófilos e basófilos, processo denominado leucopoese, a célula indiferenciada mieloide diferencia-se em mieloblasto (MB), a primeira célula reconhecidamente granulocítica, que sofre divisão celular originando o promielócito (PMC), que divide aproximadamente três vezes em mielócito (MC) que se divide uma vez, do qual derivam o metamielócito (MM), o bastonete (BT) e o segmentado (SG), para formação de neutrófilo, basófilo e eosinófilo maduros, conforme o tipo de grânulos, conforme a Figura 3 (CALADO; FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011).

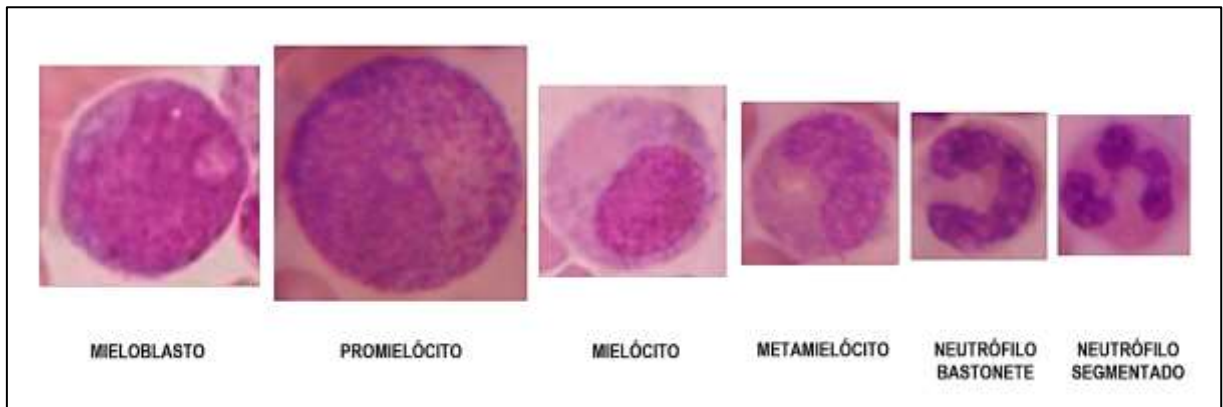
As granulações específicas dos eosinófilos são constituídas por proteínas básicas com afinidade por corantes ácidos, corando-as de alaranjado. As granulações específicas dos basófilos são grandes e pouco numerosas com afinidade por corantes básicos devido aos seus mucopolissacarídeos ácidos, portanto adquirem uma coloração azulada. As granulações neutrófilas são numerosas, delicadas e não possuem afinidade específica por corante ácido ou básico (BAIN, 2007; CALADO; FALCÃO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

O mieloblasto, promielócito e mielócito, ou seja, células imaturas, não são encontradas fisiologicamente no sangue periférico, quando presentes em grande quantidade no sangue periférico denomina-se desvio à esquerda, o metamielócito pode aparecer fisiologicamente em algumas situações, como na gestação. Desvio à esquerda é o aumento de neutrófilos jovens no sangue periférico, devido a liberação acelerada dessas células pela medula óssea, que pode ser decorrente de processos fisiológicos, encontrados na gestação e em neonatos<sup>5</sup>, ou decorrentes de processos patológicos, como infecção e leucemia (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015; LORENZI, 2011).

---

<sup>5</sup> Terminologia para designar o período que compreende do dia do nascimento até o 28º dia de vida de um indivíduo.

Figura 3: Esquema série neutrofilica

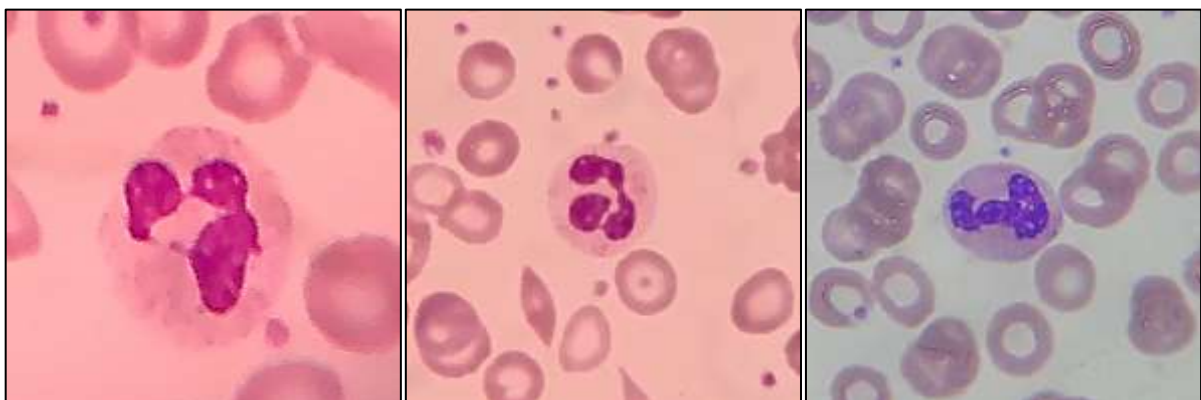


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.1.1.1 Neutrófilo segmentado

O neutrófilo segmentado é a forma madura do neutrófilo, sendo o leucócito mais abundante presente no sangue, tem cerca de 10 a 14  $\mu\text{m}$  de tamanho, seu núcleo é central, com uma forte cor arroxeada, possui cerca de dois a cinco lóbulos, que estão interligados por meio de filamentos de cromatina, cromatina grosseira e condensada. O citoplasma é abundante e acidófilo, com coloração rosa esmaecida e granulações inespecíficas e específicas finas (CALADO; FALCÃO, 2013; BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 4: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Neutrófilos Segmentados



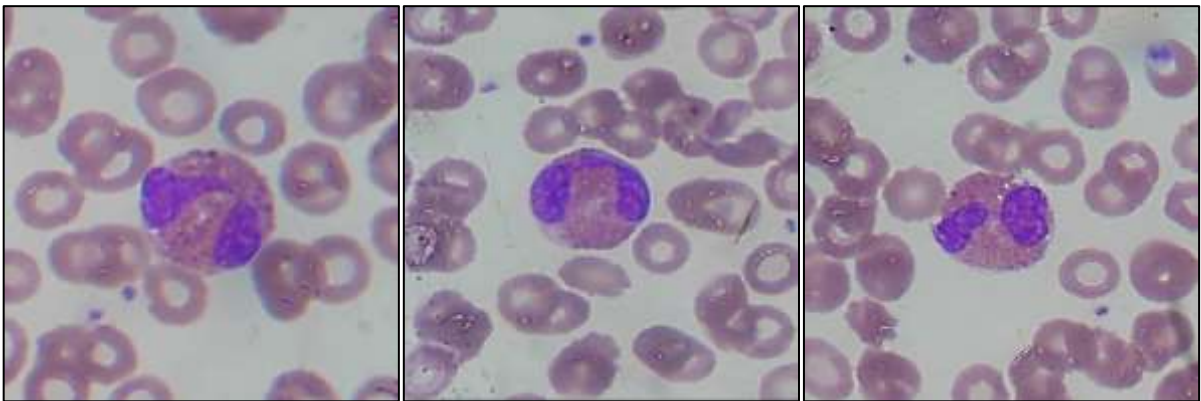
Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina



#### 4.1.1.2 Eosinófilo

O eosinófilo maduro é redondo ou levemente oval, um pouco maior que o neutrófilo, medindo entre 12 a 17  $\mu\text{m}$ , seu núcleo é arroxeadado e central, possui de dois a três lóbulos, cromatina grosseira. Seu citoplasma é abundante e possui coloração rosa, com granulação inespecífica e específica esférica, esta última é maior que as granulações específicas dos neutrófilos, sendo a característica mais notável do eosinófilo, com afinidade por corante ácido tornando-se laranja devido ao seu conteúdo básico (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

Figura 5: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Eosinófilos Segmentados

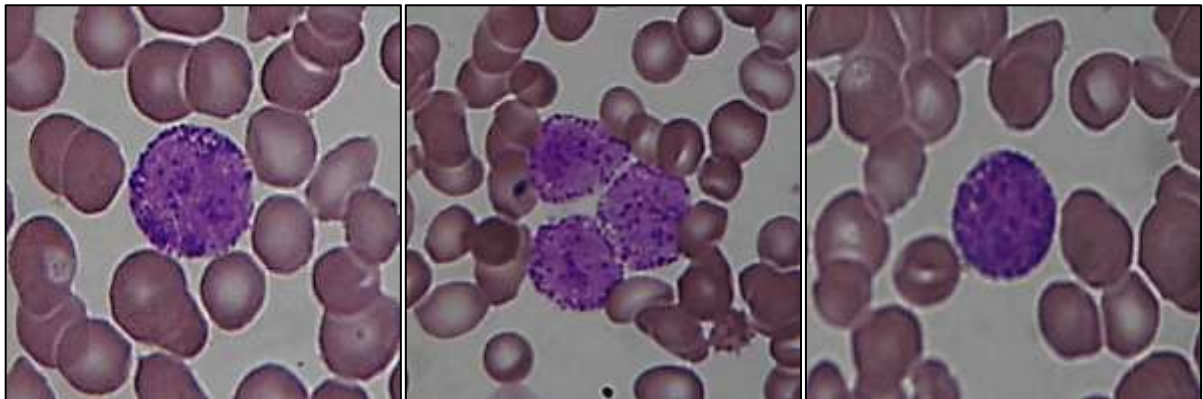


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.1.1.3 Basófilo

O basófilo possui aproximadamente 10 a 16  $\mu\text{m}$ , seu núcleo é central possui de dois a três lóbulos, sendo dificilmente visualizado devido aos numerosos grânulos preto-púrpuras grosseiros presentes no seu citoplasma abundante rosa, cromatina densa e seus grânulos possuem afinidade por corante básico tornando-se azulado devido ao seu conteúdo ácido (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

Figura 6: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Basófilos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.1.2 Linhagem monocítica

A célula indiferenciada mielóide pode-se diferenciar em monoblasto, em sequência o promonócito, uma forma intermediária e, por fim, o monócito maduro (CALADO; FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011).

##### 4.1.2.1 Monócito

O monócito, uma célula mononuclear, possui morfologia celular bem variável, sendo esta uma característica importante. Geralmente é maior que os outros leucócitos, mede aproximadamente 12 a 20  $\mu\text{m}$  com contorno irregular, a relação núcleo/citoplasma é baixa, o núcleo é azul arroxeado grande, irregular, central e com chanfraduras marcadas, possui cromatina delicada e sem nucléolos visíveis. Seu citoplasma é abundante, levemente basófilo com coloração cinza-azulado, com granulações finas inespecíficas lilás e pode conter vacúolos (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015; ZAGO, 2013).

Figura 7: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Monócitos

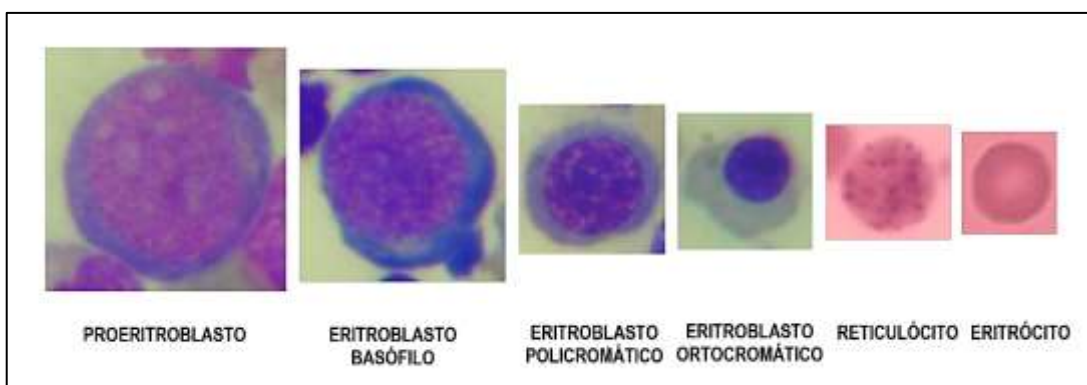


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.1.3 Linhagem eritroide

Na medula óssea, a célula indiferenciada pluripotente diferencia-se na primeira célula da linhagem eritoblástica, o proeritroblasto (PE) que diferencia-se em eritoblástico basófilo (EB). O EB diferencia-se em eritoblasto policromático (EPC), este último divide-se em uma única célula-filha, sendo esta o eritoblasto ortocromático (EO), que dá origem um reticulócito (Rt), por último, o Rt dará origem a célula madura final, o eritrócito (LEE et al., 1996; LORENZI, 2011).

Figura 8: Esquema série eritroide

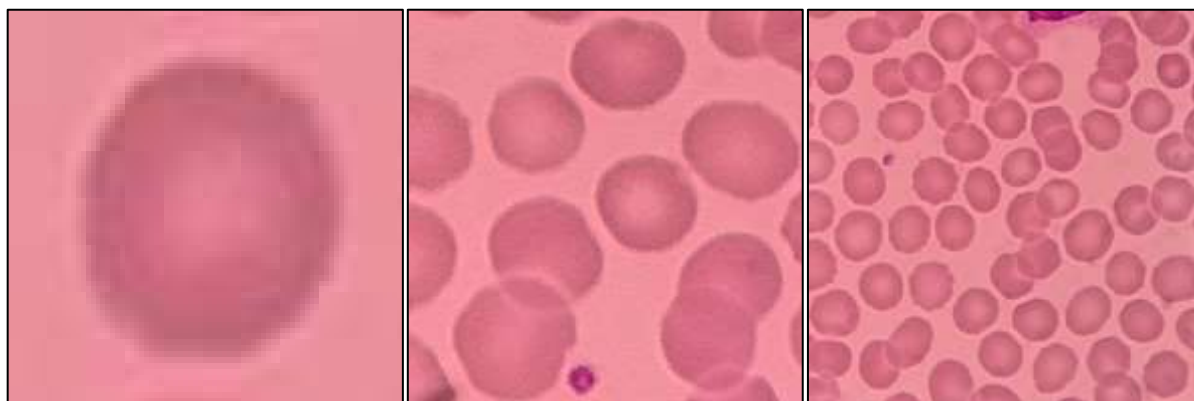


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.1.3.1 Eritrócito

O eritrócito possui cerca de 7  $\mu\text{m}$  de diâmetro, sem núcleo, possui forma de um disco bicôncavo com contorno circular, onde a espessura da borda mede aproximadamente 2,6  $\mu\text{m}$  e o centro 0,8  $\mu\text{m}$ , tornando o eritrócito uma célula com a borda mais corada e o centro mais claro, ou seja, uma área de palidez central ocupando cerca de um terço da célula, (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

Figura 9: Fotomicrografia de Citomorfologia de Eritrócitos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.1.4 Linhagem Megacariocítica

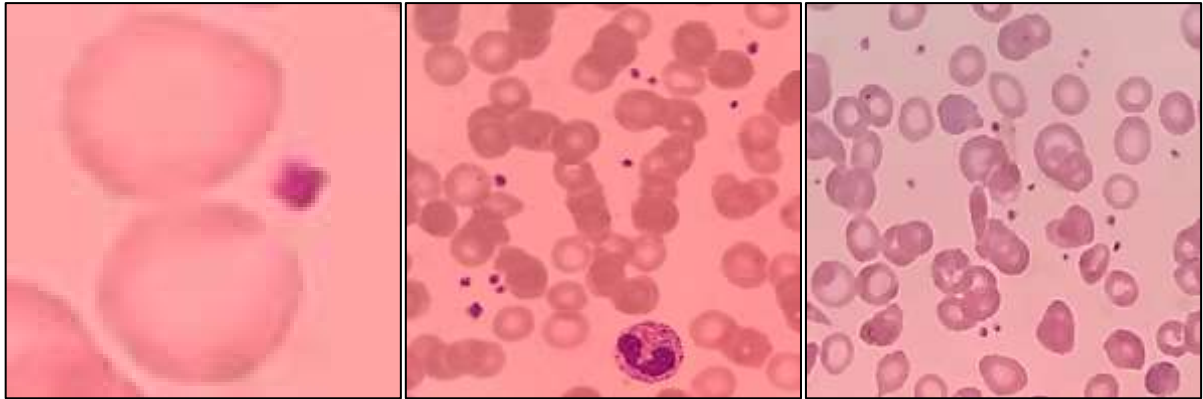
A célula indiferenciada mielóide pode-se diferenciar em megacarioblasto, a primeira célula da linhagem megacariocítica. Em sequência o megacarioblasto dará origem ao megacariócito basófilo e acidófilo, cujos os citoplasmas fragmentam-se dando origem as plaquetas (CALADO; FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011).

##### 4.1.4.1 Plaqueta

As plaquetas são pequenos fragmentos celulares derivados do citoplasma do megacariócito na medula óssea, medem de um a três  $\mu\text{m}$  de diâmetro, arredondada ou ovoide, são cinza-azuladas, anucleadas, possuem grânulos azurófilos pequenos. No sangue

anticoagulado com EDTA as plaquetas geralmente encontram-se dispersas, já no sangue nativo as plaquetas possuem uma tendência a agregar-se (BAIN, 2007; CALADO; FALCÃO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

Figura 10: Fotomicrografia de Citomorfologia de Plaquetas

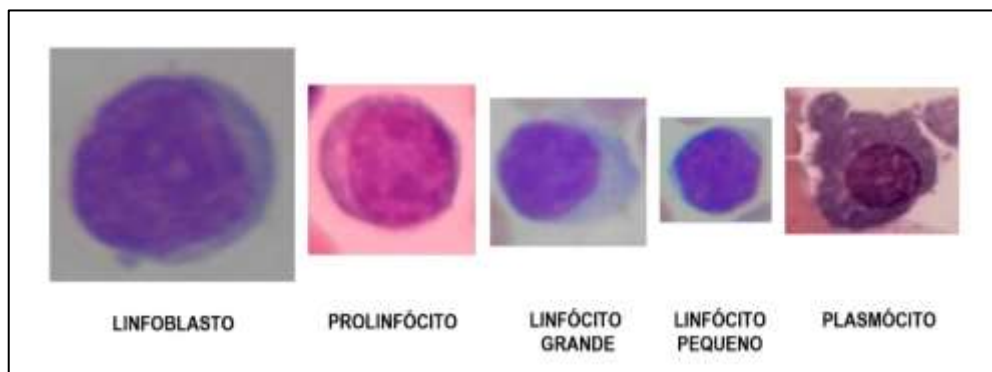


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.2 LINHAGEM LINFOIDE

A célula indiferenciada linfoide diferencia-se em linfoblasto, na sequência gera o prolinfócito que dará origem aos linfócitos T e B maduros e células exterminadoras naturais (NK) (LORENZI, 2011).

Figura 11: Esquema série linfoide



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 4.2.1 Linfócito

O linfócito, uma célula mononuclear, mede cerca de 10 a 16  $\mu\text{m}$ , com linfócitos pequenos medindo de 10 a 12  $\mu\text{m}$  e linfócitos grandes medindo de 12 a 16  $\mu\text{m}$ . Os linfócitos pequenos são predominantes, possuem formato redondo com contorno regular, elevada relação núcleo/citoplasma, com um núcleo grande e redondo, cromatina condensada e de coloração azul arroxeadada, possui citoplasma basófilo escasso de coloração azul celeste. Os linfócitos grandes representam cerca de 10% dos linfócitos, possuem contorno irregular, menor relação núcleo/citoplasma, com um núcleo grande, cromatina menos condensada e de coloração azul arroxeadada, possui citoplasma basófilo abundante de coloração azul celeste. Podem apresentar poucos grânulos azurófilos inespecíficos ou primários contendo enzimas lisossômicas, chamado de linfócitos granular (BAIN, 2007; CALADO; FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 12: Fotomicrografia de Citomorfologia de Leucócitos. Linfócitos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina



## 5 ALTERAÇÕES ADQUIRIDA E HEREDITÁRIA DOS LEUCÓCITOS

As alterações leucocitárias podem ser classificadas em quantitativas e qualitativas. As alterações quantitativas envolvem o número de leucócitos, que pode estar aumentado ou diminuído, leucocitose e leucopenia, respectivamente, que pode ser às custas de um tipo celular ou de todos. O aumento de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, linfócitos e monócitos é conhecido como neutrofilia, eosinofilia, basofilia, linfocitose e monocitose, respectivamente, já a diminuição é neutropenia, eosinopenia, linfopenia e monocitopenia, respectivamente. O termo basopenia não é comumente utilizado, visto que em muitas análises de distensão sanguínea não é possível evidenciar a presença do basófilo, portanto torna-se difícil dizer que está com uma contagem diminuída. As alterações qualitativas envolvem alterações na morfologia da célula, que pode ser nuclear ou citoplasmática, podendo ou não ocorrer perda da função celular (BAIN, 2007; NIERO-MELO; RESENDE; GAIOLLA, 2013).

As alterações quantitativas e qualitativas podem ser fisiológicas ou patológicas. As alterações fisiológicas englobam, por exemplo, as que são evidenciadas na gestação, nos idosos, recém-nascidos, crianças e após exercício físico. As alterações patológicas estão presentes na infecção, inflamação, resposta medicamentosa, intoxicação, queimadura, leucemia e linfoma, por exemplo. Ainda, as alterações qualitativas e quantitativas podem ser divididas em adquiridas e hereditárias.

As alterações qualitativas nucleares e citoplasmáticas adquiridas são a hipersegmentação; e as granulações tóxicas, Corpos de Döhle e vacuolizações nos neutrófilos, respectivamente. Já as alterações qualitativas nucleares e citoplasmáticas hereditárias são a anomalia de Pelger-Hüet e macropolicitos; e anomalia de Alder-Reilly, anomalia de May-Hegglin e Síndrome Chédiak-Higashi, respectivamente.

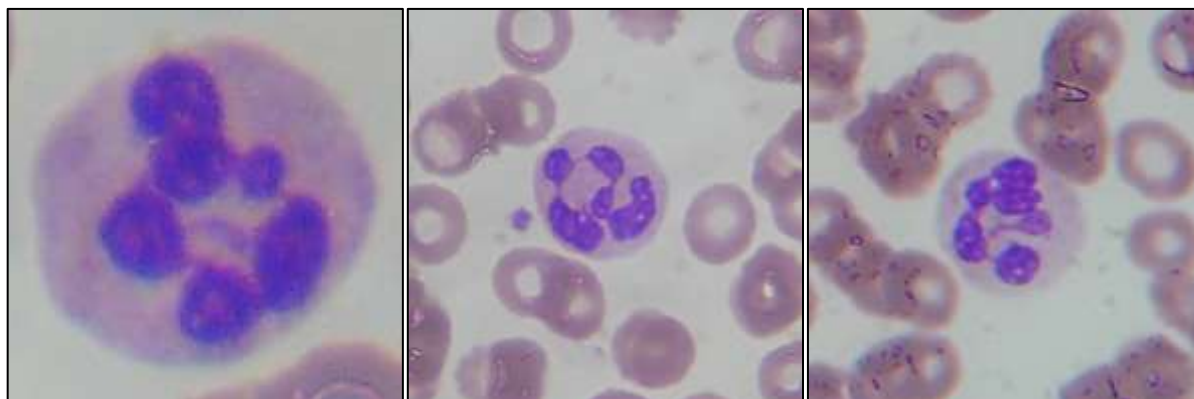
### 5.1 ALTERAÇÃO NUCLEAR

#### 5.1.1 Hipersegmentação

A hipersegmentação é uma situação na qual os neutrófilos possuem um número aumentado de lóbulos nucleares distintos, onde seu núcleo é dividido em cinco ou mais lóbulos.

Ocorre fisiologicamente durante a gestação e senescência<sup>6</sup>, e patologicamente na anemia megaloblástica por deficiência de vitamina B12 e/ou ácido fólico e infecções, por exemplo (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015; PALMER et al., 2015).

Figura 13: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Hipersegmentação de neutrófilos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 5.1.2 Anomalia de Pelger-Hüet

A anomalia de Pelger-Hüet é uma alteração autossômica dominante benigna caracterizada pela diminuição da segmentação do núcleo dos granulócitos e a cromatina com aspecto grosseiro, gerando um aparente assincronismo de maturação, visto que o citoplasma apresenta coloração típica e granulações específicas finas normais, mas o núcleo encontra-se na forma de bastão. Nos indivíduos heterozigotos é observado neutrófilos com cromatina mais densa e núcleo bilobulado em forma de haltere, já nos indivíduos homozigotos, situação rara, os neutrófilos possuem núcleos arredondados ou ovais. Apesar da alteração nuclear presente na anomalia de Pelger-Hüet, a atividade fagocítica e enzimática do neutrófilo é aparentemente

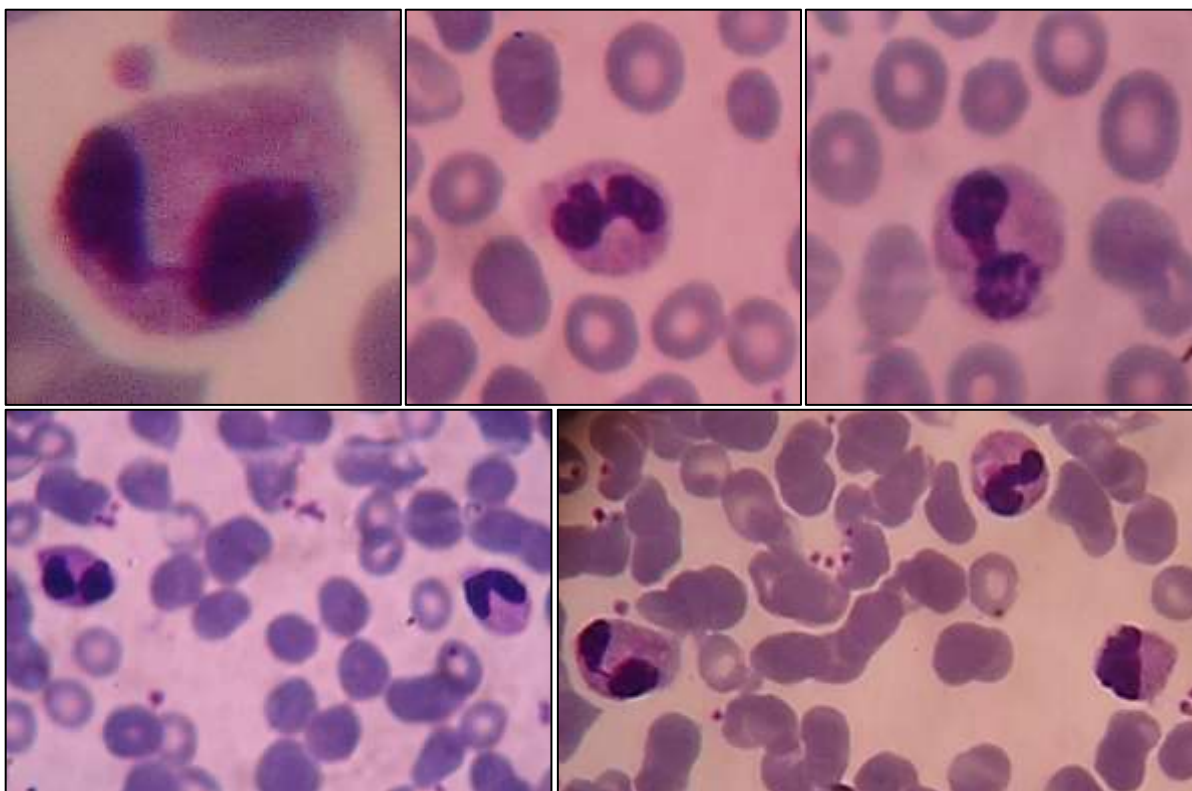
---

<sup>6</sup> Senescência é o processo fisiológico de envelhecimento ao nível celular ou o conjunto de fenômenos associados a este processo.



normal (BOROVIK et al., 2013; CALDERAN et. al., 2008; FAILACE; FERNANDES, 2015; LORENZI, 2011).

Figura 14: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de Pelger-Hüet



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

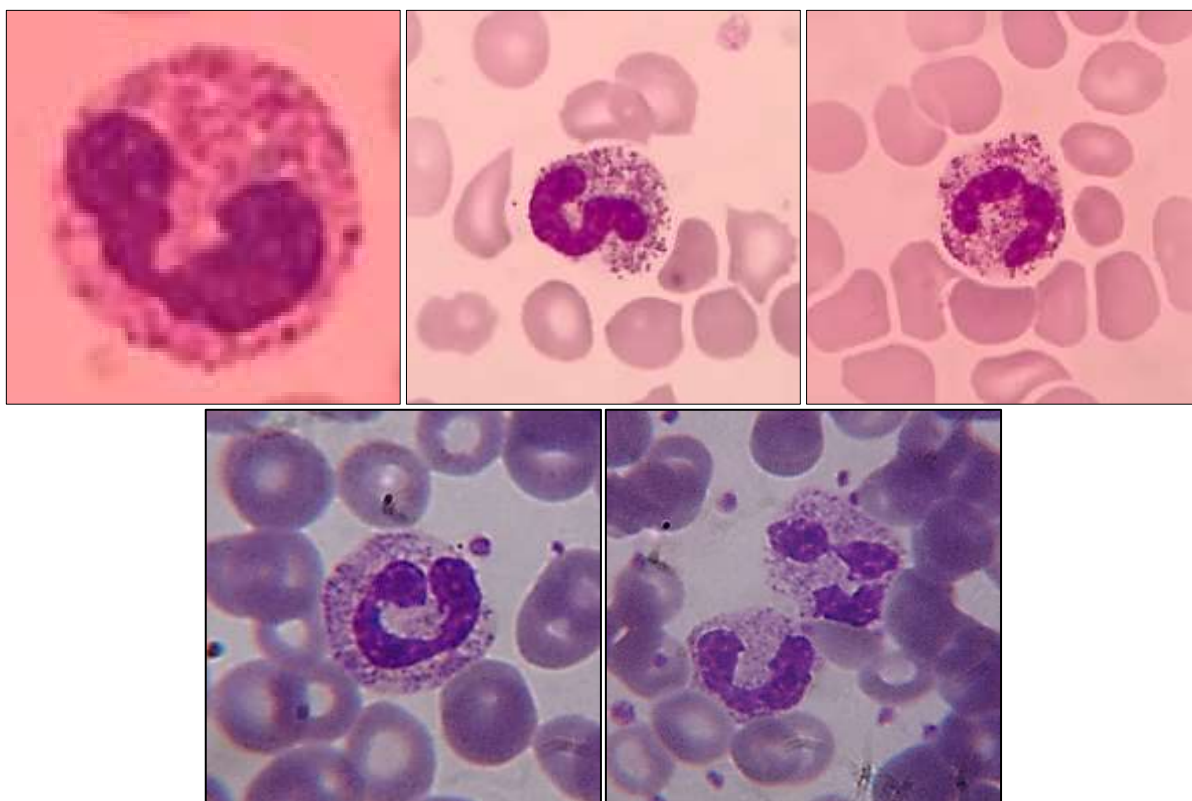
## 5.2 ALTERAÇÃO CITOPLASMÁTICA

### 5.2.1 Granulação tóxica

As granulações tóxicas possuem coloração basofílica, são maiores que as granulações primárias normais e estão presentes no citoplasma de neutrófilos segmentados e bastonetes. Refletem a uma perturbação na maturação do neutrófilos, devido sua produção rápida pela medula óssea e diminuição no tempo de maturação, com persistência dos grânulos azurófilos ou primários nas células maduras que deveriam ser substituídas pela granulação secundária ou específica. Ocorre durante um quadro de infecção, inflamação, terapias com G-CSF e GM-CSF

e gestação, este último ocorre fisiologicamente (BAIN, 2007; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015; SALGADO, 2007).

Figura 15: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Granulação tóxica em neutrófilos

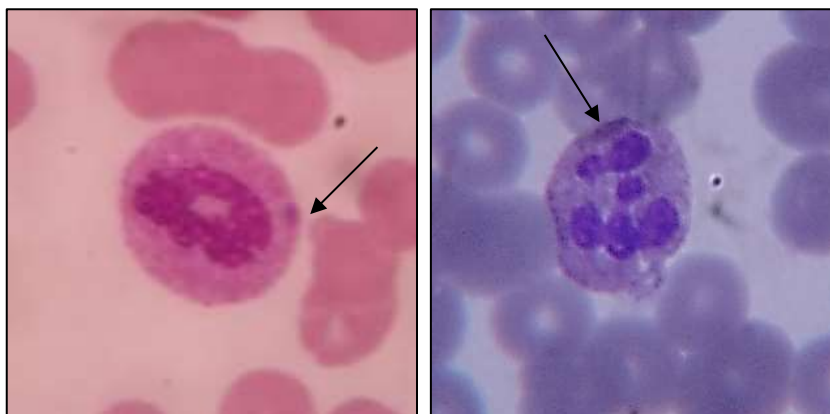


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 5.2.2 Corpúsculo de Döhle

Os corpúsculos de Döhle são inclusões basófilas pequenas no citoplasma da célula, de coloração azul-pálida, únicas ou múltiplas, com aproximadamente de um a dois  $\mu\text{m}$  de diâmetro, vistas na periferia dos neutrófilos. São resultantes da agregação do retículo endoplasmático e grânulos de glicogênio. São evidenciados nas infecções, inflamações, resposta medicamentosa, anomalia de May-Hegglin, SMD e gravidez, este último ocorre fisiologicamente (BAIN, 2007; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

Figura 16: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Corpúsculo de Döhle

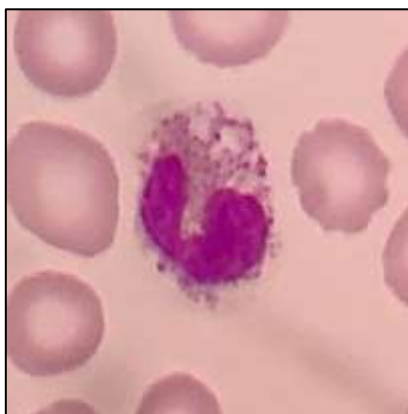


Seta preta: Corpúsculo de Döhle. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 5.2.3 Vacúolo

A vacuolização citoplasmática pode aparecer em qualquer célula, sendo mais frequente nos neutrófilos, podendo ser vacúolos pequenos ou grandes. Indica produção medular deficiente das células, gerando perda de integridade da membrana celular e da granulação, decorrentes da fusão dos grânulos com um vacúolo fagocítico. Os vacúolos estão presentes em intoxicações por benzeno e infecções, por exemplo. *In vitro* pode ser artefato de armazenamento, devido a exposição prolongada ao anticoagulante ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (BAIN, 2007; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

Figura 17: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Vacúolos em neutrófilo

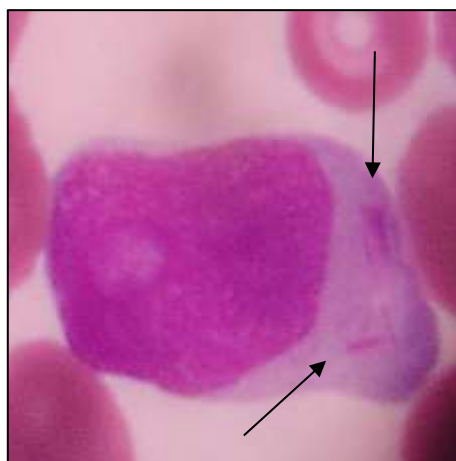


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 5.2.4 Bastonete de Auer

O bastonete de Auer são bastões em forma de agulha, de coloração azul-arroxeadada, formados por agrupamentos de materiais lisossomais. São encontrados no interior dos mieloblastos leucêmicos na leucemia mieloide aguda (LMA). Quando há numerosos bastonetes de Auer, formando feixes, chama-se de faggot cells, encontrado no interior de promielócitos anormais na leucemia promielocítica aguda (LPA). É um marcador específico para neoplasias da linhagem mielóide e coram-se positivamente a mieloperoxidase. Quando vistos, devem ser relatados (BAIN, 2007; PALMER et al., 2015).

Figura 18: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Bastonete de Auer

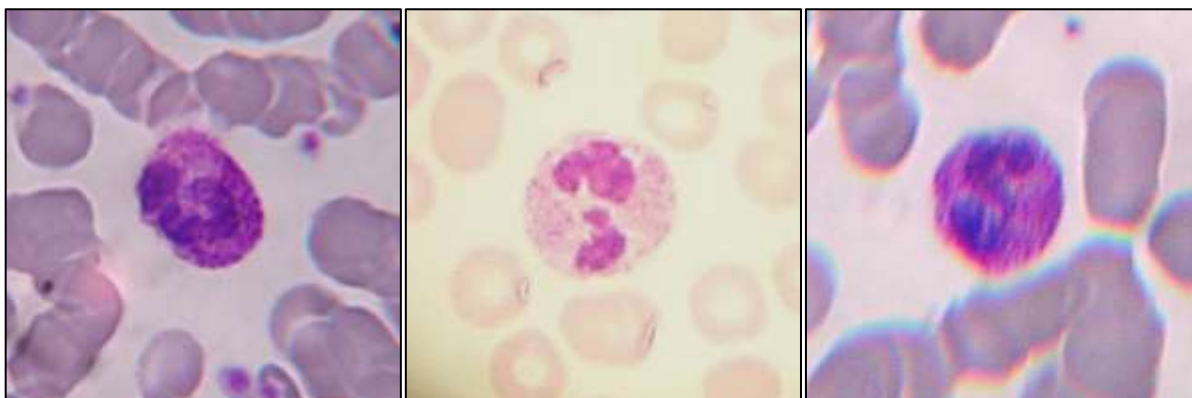


Seta preta: Bastonete de Auer. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 5.2.5 Anomalia de Alder-Reilly

A anomalia de Alder-Reilly (AR) é uma alteração autossômica recessiva devido a um erro metabólico que altera o metabolismo das granulações lisossomais dos leucócitos, o que leva ao acúmulo desses grânulos azurófilos no citoplasma dessas células, que podem mostrar uma zona clara ao seu redor. A anomalia de Alder-Reilly está associada à mucopolissacaridiose grupo de doenças metabólicas onde faltam as enzimas lisossômicas que decompõem os mucopolissacarídeos (BHAN et al.; 2019; FAILACE; FERNANDES, 2015; MELO; SILVEIRA, 2015).

Figura 19: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de Alder-Reilly

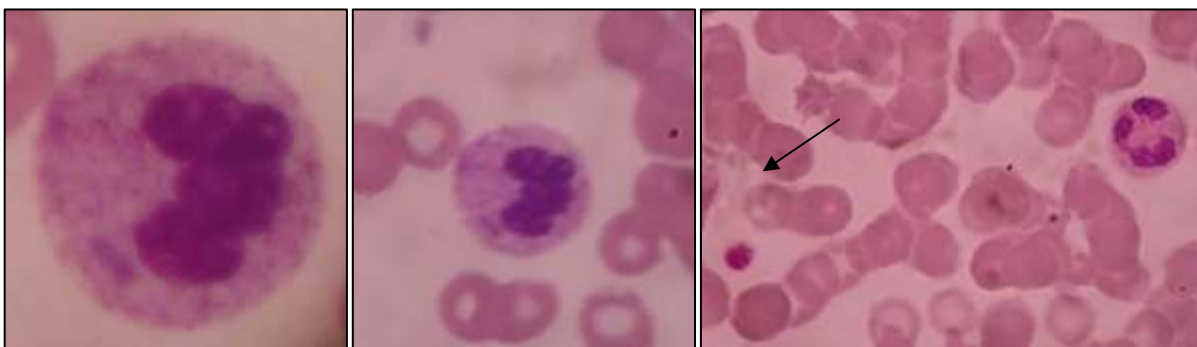


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 5.2.6 Anomalia de May-Hegglin

A anomalia de May-Hegglin (MHA) é uma alteração autossômica dominante rara, caracterizada por corpos de inclusão azul nos granulócitos e monócito, um grau variável de trombocitopenia, com presença de macroplaquetas e plaquetas gigantes. As inclusões citoplasmáticas basófilas vistas nos granulócitos e monócitos na MHA são semelhantes a corpos de Döhle, entretanto mais proeminentes, numerosas, definidas, não localizadas na periferia das células e intensamente mais corada de azul que os corpos de (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015). A inclusão citoplasmática é resultante da deposição da cadeia pesada da miosina nos leucócitos. A MHA é causada por anormalidades no gene MYH9 localizado no cromossomo 22q12–13, resultando na produção desordenada da cadeia pesada da proteína miosina não-muscular do tipo IIa, uma proteína citoplasmática expressa nas plaquetas (FAILACE; FERNANDES, 2015; HUSSEIN; GOMEZ; KADIR, 2013).

Figura 20: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de May-Hegglin



Seta preta: Macroplaqueta. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 5.2.7 Síndrome Chédiak-Higashi

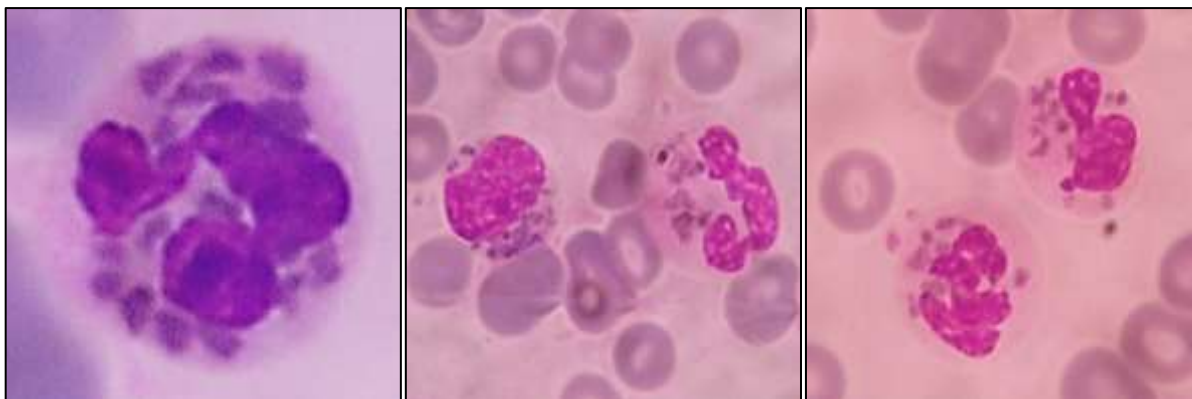
A anomalia de Chédiak-Higashi é uma alteração autossômica recessiva rara, ocasionada por mutações genéticas, sendo a principal a mutação do gene regulador do transporte lisossomal (LYST ou CHS1), gerando um defeito genético da fusão da proteína de membrana lisossomal das células. Nessa anomalia visualiza-se granulações azurófilas gigantes patognomônicas<sup>7</sup> no citoplasma de diversas células, como leucócitos e plaquetas, facilmente diagnosticada. A anomalia de Chédiak-Higashi é incompatível com a vida por conta da disfunção fagocitária primária e, conseqüente, suscetibilidade às infecções (BAIN, 2007; BEZERRA; SANTO-VELOSO; ANTUNES, 2019; MENDES; CARTAXO, 2018).

---

<sup>7</sup> Termo médico que se refere a sinal ou sintoma específico de uma determinada doença.



Figura 21: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Anomalia de Chédiak-Higashi



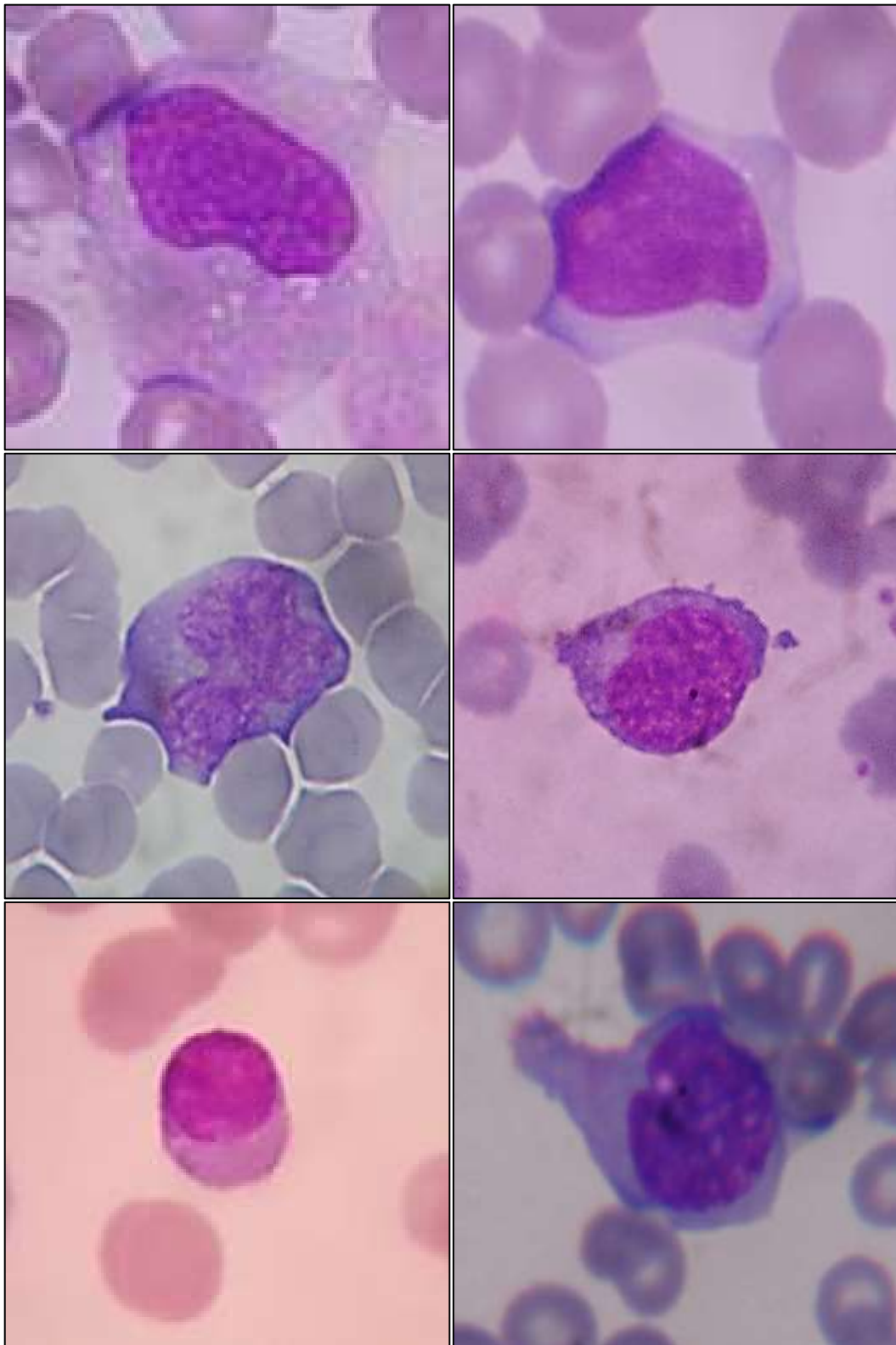
Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 5.3 ALTERAÇÃO NUCLEAR E CITOPLASMÁTICA

#### 5.3.1 Linfócitos atípicos

O linfócito atípico é uma alteração adquirida com anormalidades como aumento no tamanho celular, até 30  $\mu\text{m}$ , imaturidade nuclear, falta de condensação da cromatina, contorno celular e nuclear irregulares, nucléolo visível, lobulação nuclear irregular, citoplasma basofílico e abundante que se indenta em torno dos eritrócitos próximos, podendo conter vacúolos e grânulos azurófilos. São formas intermediárias de ativação dos linfócitos e aparecem em decorrência de estímulos antigênicos virais e outros estímulos imunológicos. Pode ser do tipo plasmocitário, monocitóide ou leucocitóide com morfologias distintas, acompanhadas de leucocitose às custas de linfocitose (BAIN, 2007; NIERO-MELO; RESENDE; GAIOLLA, 2013; OLIVEIRA et. al., 2009; PALMER et al., 2015).

Figura 22: Fotomicrografia de Alteração Leucocitária Qualitativa. Linfócitos atípicos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa:  
Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina



## 6 ALTERAÇÕES DOS ERITRÓCITOS

O eritrócito, também chamado de hemácia ou glóbulo vermelho, é uma célula de origem mieloide, assim como os leucócitos, originadas a partir da eritropoese, regulada em vários estágios de maturação para garantir produção suficiente de hemácias em resposta a demanda fisiológica e patológica (BARMINKO; REINHOLT; BARON, 2015).

As alterações que ocorrem na série vermelha podem ser quantitativas ou qualitativas, ambas são de extrema importância e devem ser avaliadas juntamente. As qualitativas envolvem alterações de coloração, tamanho, morfologia e inclusões em eritrócitos, realizadas por meio da hematoscopia de lâminas coradas por métodos panóticos (GUALANDRO, 2013). É importante salientar que nem sempre estas alterações estão associadas a quadros patológicos, pois em algumas situações fisiológicas é possível verificar a presença das mesmas, como por exemplo, durante a gravidez, demonstrando a relevância de compreender a história clínica do indivíduo.

### 6.1 ALTERAÇÃO NA COLORAÇÃO OU ANISOCROMIA

A anisocromia descreve a variabilidade no grau de coloração ou hemoglobinação dos eritrócitos, variando entre hipocromia, normocromia e hiperchromia na mesma distensão sanguínea. Pode-se notar a presença de anisocromia através do HDW, um índice hematimétrico que indica a amplitude de distribuição da concentração de hemoglobina nos eritrócitos, com valor de referência de 1,82 a 2,64 g/dL (BAIN, 2007). A anisocromia indica uma situação de mudança, por exemplo, como a que ocorre na anemia por deficiência de ferro durante tratamento ou na regressão da anemia de doença crônica (MELO; SILVEIRA, 2015; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

#### 6.1.1 Hipocromia

A hipocromia é a redução da coloração do eritrócito, com palidez que ocupa grande parte central da célula, devido a baixa concentração de hemoglobina (GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015). A hipocromia pode ser generalizada, ou seja, todos os eritrócitos da distensão sanguínea são afetados, ou pode afetar apenas uma população de células, ou seja, alguns eritrócitos da distensão sanguínea encontram-se hipocrômicos. A

hipocromia pode gerar diminuição no índice hematimétrico CHCM (Concentração da Hemoglobina Corpuscular Média), cujo valor de referência é de 31,6 a 34,9 g/dL (BAIN, 2007). São variadas as causas de hipocromia, como por exemplo, anemia ferropriva, entretanto os eritrócitos de crianças saudáveis são geralmente levemente hipocrômicos, quando comparado com adultos, indicando uma hipocromia fisiológica (NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

### **6.1.2 Policromasia**

A policromasia é uma situação onde os eritrócitos ficam com uma coloração róseo-azulada devido a captação simultânea do corante eosina pela hemoglobina e dos corantes básicos pelo RNA ribossômico residual (BAIN, 2007; MELO; SILVEIRA, 2015). Os eritrócitos com policromasia são imaturos com características de reticulócitos em transformação para eritrócitos e possuem o tamanho maior que um eritrócito maduro normal. A policromasia é evidenciada em situações de estresse hematopoiético onde os reticulócitos imaturos são liberados para o sangue periférico durante estímulo medular mediante os altos níveis de eritropoietina, como durante o tratamento terapêutico com ferro ou folatos e na anemia hemolítica (GUALANDRO, 2013; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008; PALMER et al., 2015).

## **6.2 ALTERAÇÃO NO TAMANHO OU ANISOCITOSE**

A anisocitose é o aumento na variação do tamanho dos eritrócitos, considerada inespecífica, onde o RDW (Amplitude de distribuição dos eritrócitos), fornecido por equipamentos automatizados, fornecerá um valor alto, cujo valor de referência é de 9,9 a 15,5%. Na distensão sanguínea é possível evidenciar a presença de eritrócitos normocíticos e microcíticos, normocíticos e macrocíticos ou microcíticos e macrocíticos, este último chamado de anisocitose dimórfica, onde há presença de duas populações distintas de eritrócitos (BAIN, 2007; PALMER et al., 2015).

### **6.2.1 Micrócitos e microcitose**

Micrócitos são hemácias de tamanho pequeno, inferior a 7  $\mu\text{m}$ . É possível comparar o diâmetro do eritrócito com o núcleo do linfócito pequeno, que mede aproximadamente 8,5  $\mu\text{m}$ ,

para facilitar a identificação dos micrócitos. Se todos ou a maioria dos eritrócitos forem microcíticos, chama-se de microcitose e o VCM (Volume Corpuscular Médio), cujo valor de referência é de 82 a 98 fL, será baixo, ou seja, inferior a 82 fL, mas se apenas algumas hemácias estiverem microcíticas, chama-se apenas de micrócitos e pode não gerar diminuição no VCM. (BAIN, 2007). São diversas as causas de microcitose, como deficiência de ferro (CALADO; FALCÃO, 2013; GUALANDRO, 2013; PALMER et al., 2015).

### 6.2.2 Macrócitos e macrocitose

Macrócitos são hemácias de tamanho aumentado, maior que 9  $\mu\text{m}$ , podem ter formato redondo ou oval. Se todos ou a maioria dos eritrócitos forem macrocíticos chama-se de macrocitose e o VCM será superior a 98 fL, mas se apenas algumas hemácias estiverem macrocíticas, chama-se apenas de macrócitos e pode não gerar aumento no VCM. As causas de hemácias macrocíticas são variadas, como por exemplo, na anemia megaloblástica por deficiência de vitamina B12 e/ou ácido fólico. Além das causas patológicas existem situações fisiológicas onde há hemácias macrocíticas, como em sangue de recém-nascido, gravidez e idosos, os dois últimos com discreta macrocitose (BAIN, 2007; GUALANDRO, 2013; PALMER et al., 2015).

## 6.3 ALTERAÇÃO NA DISTRIBUIÇÃO

### 6.3.1 Formação de rouleaux

A formação de Rouleaux é uma situação onde os eritrócitos encontram-se empilhados, lembrando uma pilha de moedas. Geralmente ocorre quando a concentração plasmática de proteínas de alto peso molecular aumenta, onde as cargas negativas ao redor das hemácias responsáveis pela repulsão entre elas são anuladas, reduzindo a repulsão e gerando o Rouleaux. *In vivo*<sup>8</sup> aparecem na gestação, inflamação e mieloma múltiplo, *in vitro*<sup>9</sup> surgem quando a gota

---

<sup>8</sup> Que ocorre dentro de um organismo ou em tecido vivo.

<sup>9</sup> Expressão utilizada para designar as experimentações que são efetuadas fora do indivíduo, ou seja, em tubos de ensaio.

de sangue permanece por muito tempo na lâmina antes da distensão, sendo um artefato (GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

#### 6.4 ALTERAÇÃO NA FORMA OU PECILOCITOSE

A pecilocitose é quando há um aumento no número de eritrócitos com formas anormais, podendo ser devido a produção de células anormais na medula ou danos nas mesmas após liberação para o sangue periférico. Na maioria das vezes a pecilocitose é um achado inespecífico, mas são indícios de algumas patologias. Já outros são patognomônicos, como os drepanócitos, indicativos de anemia falciforme (BAIN, 2007; GUALANDRO, 2013).

##### 6.4.1 Drepanócito

O drepanócito ou célula falciforme é uma célula em forma de foice ou meia-lua, com pelo menos uma extremidade pontiaguda, o que diferencia do ovalócito (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015; PALMER et al., 2015). É um tipo de célula muito específico exclusivamente relacionado a presença da hemoglobina S (Hb S) no interior dos eritrócitos, que se polimeriza, precipita e traciona a membrana da célula, deformando-a, indicando anemia falciforme (BAIN, 2007). Quando a célula falciforme tem a forma delgada é possível que esteja no seu estado irreversível, enquanto que na forma de meia-lua pode ser do tipo reversível (MELO; SILVEIRA, 2015; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

##### 6.4.2 Codócito

O codócito, também chamado de célula em alvo ou *target cells*, ocorre devido à maior concentração de hemoglobina na região central do eritrócito, adquirindo uma coloração mais densa no meio da área de palidez central, em volta há um anel branco e na periferia um anel de coloração normal. Formam-se devido a um excesso de membrana, como na icterícia obstrutiva e na deficiência hereditária de lecitina-colesterol aciltransferase (LCAT) ou devido a redução do conteúdo citoplasmático sem redução proporcional da membrana celular, como na deficiência de ferro, talassemias e hemoglobinopatias, associado à microcitose ou à

hipocromia (BAIN, 2007; GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

#### **6.4.3 Acantócito**

O acantócito é uma célula espiculada contraída, geralmente esférica, com duas a vinte projeções espiculadas irregulares de comprimentos variados distribuídas irregularmente na superfície celular, sendo uma deformação irreversível que ocorre *in vivo*. Decorrem de alterações na composição dos lipídeos da membrana celular dos eritrócitos. Aparecem nas situações de hipofunção esplênica, pós-esplenectomia, hepatopatia avançada e na abetalipoproteinemia hereditária ou síndrome de Bassen-Kornzweig (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015; PALMER et al., 2015).

#### **6.4.4 Queratócito**

O queratócito é uma célula desprovida de uma parte da forma de disco normal, adquire forma de célula “mordida” ou chifre, com pares de espículas, geralmente duas, às vezes quatro ou seis. Essa célula se origina de uma ou mais tentativas de fagocitose pelos macrófagos esplênicos e também pela ruptura de pseudovacúolos periféricos e posterior fusão de membranas contrapostas quando há dano traumático aos eritrócitos (MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015). Pode estar presente no choque com prótese cardíaca defeituosa, na anemia hemolítica microangiopática, na coagulação intravascular disseminada (CIVD) e dentre outras causas (BAIN, 2007; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

#### **6.4.5 Esquizócito**

O esquizócito é um fragmento de eritrócito, ou seja, é menor que um eritrócito íntegro, com uma morfologia bastante variável e irregular, muitos são espiculados, mas outros possuem uma membrana celular pequena para o volume citoplasmático, transformando-se em esferoesquizócitos. Aparecem na piropecilocitose hereditária e em situações de lesão mecânica, este último acompanhado geralmente de queratócitos (BAIN, 2007; MELO; SILVEIRA, 2015; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008; PALMER et al., 2015).

#### **6.4.6 Equinócito**

O equinócito é uma célula desprovida da forma em disco, apresentando de dez a trinta espículas, com forma e distribuição regulares na superfície, conhecida como células crenadas (MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015). A equinocitose pode estar relacionada ao aumento dos ácidos graxos no plasma, à formação de lisolecitina e à diminuição na quantidade de adenosina trifosfato (ATP), deixando a célula crenada, entretanto, é reversível. *In vitro* pode ser um artefato de estocagem da distensão sanguínea, entretanto, *in vivo*, a equinocitose pode aparecer fisiologicamente em recém nascidos e patologicamente em hepatopatias, carência nutricional por fosfato, deficiência de piruvatoquinase, tratamento com heparina e uremia, por exemplo (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015)

#### **6.4.7 Dacriócito**

O dacriócito é o eritrócito em forma de gota ou lágrima que sofreu estiramento excedendo seu limite de elasticidade ao passar nas fenestrações entre cordões e sinus medulares do baço, tornando-se deformado (FAILACE; FERNANDES, 2015; PALMER et al., 2015). O aparecimento de dacriócitos é um grande indício de mielofibrose idiopática ou secundária, onde devido a hipofunção da medula óssea o baço passa a produzir as células sanguíneas. Além da mielofibrose, os dacriócitos podem surgir na anemia megaloblástica, em pacientes esplenectomizados e, em menor proporção, algumas anemias hemolíticas e na diseritropoese (GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

#### **6.4.8 Ovalócito e eliptócitos**

Os eliptócitos e ovalócitos são utilizados muitas vezes como sinônimos, entretanto alguns autores, Bain (2007), Gualandro (2013), Palmer et al. (2015), Melo e Silveira (2015) sugerem que o termo eliptócito seja utilizado para o eritrócito cujo maior eixo é o dobro do eixo menor e ovalócito quando cujo maior eixo é inferior ao dobro do eixo menor. Segundo Failace e Fernandes (2015), realizar a distinção dos eliptócitos e ovalócitos através das medidas do seu eixo ou diâmetro é irrelevante, afirmando que alguns possuem formato ovoide, com extremidade mais arredondada, outros possuem forma de charuto.

Os eliptócitos ou ovalócitos podem aparecer em condições adquiridas em menor quantidade, como na anemia por deficiência de ferro, anemia megaloblástica e síndrome mielodisplásica, e condições hereditárias em maior quantidade, como na eliptocitose hereditária, onde é possível evidenciar a presença de muitos eliptócitos ou ovalócitos, decorrentes de alterações estruturais genéticas nas proteínas do citoesqueleto que compõe a membrana eritrocitária, a espectrina e Banda 4.1. As alterações estruturais nas proteínas tornam o citoesqueleto instável e deformável quando passa através dos pequenos capilares da microcirculação. Os ovalócitos macrocíticos, mais conhecidos como macrovalócitos, são característicos da anemia megaloblástica (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015; GUALANDRO, 2013; LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015).

#### **6.4.9 Esferócitos**

Segundo Bain (2007), Gualandro (2013), Palmer et al. (2015), Melo e Silveira (2015) os esferócitos são eritrócitos de forma esférica ou aproximadamente esférica, já segundo Failace e Fernandes (2015), os esferócitos não são esféricos, apenas possuem a biconcavidade reduzida ou mantêm a concavidade apenas em um dos lados. O esferócito possui um diâmetro inferior a 6,5  $\mu\text{m}$  porque perdeu porções de membrana devido às anormalidades herdadas ou adquiridas do citoesqueleto e da membrana celular, mas sem perda equivalente do citosol, perdendo a característica de palidez central, tornando-se mais intensamente corado, única situação onde o termo hiperocrômico é cabível. O termo esferócito é utilizado para células com diâmetro reduzido, já o termo microesferócito é utilizado para células com diâmetro e volume reduzidos, ou seja, microcíticas. A elasticidade dos esferócitos é insuficiente para a passagem pela circulação esplênica, ficando retidos por muito tempo e hemolisam prematuramente. Os esferócitos aparecem na esferocitose hereditária e na anemia imuno-hemolíticas, por exemplo (NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

#### **6.4.10 Estomatócito**

O estomatócito é uma célula não côncava que apresenta um halo linear central semelhante a uma boca resultante de anormalidades da membrana, como a expansão do folheto interno da dupla camada lipídica que forma a membrana eritrocitária. Às vezes os estomatócitos

são artefatos de preparação nas zonas delgadas da distensão sanguínea, mas podem surgir ocasionalmente em indivíduos saudáveis e em recém-nascido. Patologicamente, aparecem nas hepatopatias e na estomatocitose hereditária, este último é uma anemia hemolítica rara que afeta a permeabilidade da membrana do eritrócito (BAIN, 2007; GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015; PALMER et al., 2015).

## 6.5 INCLUSÕES ERITROCITÁRIAS

Além das alterações no tamanho (anisocitose), coloração (anisocromia) e morfologia (pecilocitose), existem as inclusões eritrocitárias, devido à presença de remanescentes de material nuclear ou de mitocôndrias, como ocorre nas anemias, talassemias, intoxicações, esplenectomia, e presença de microrganismos e dentre outras situações. Fazem parte deste grupo os corpos de Howell-Jolly, pontilhados basofílicos, Anel de Cabot, Corpos de Pappenheimer e Corpos de Heinz (NAOUM PC; NAOUM FA, 2008). Estes achados na leitura da distensão sanguínea, auxiliam no diagnóstico, entretanto em algumas situações são necessários exames e técnicas mais específicas para elucidação do caso e diagnóstico final.

### 6.5.1 Pontilhado basófilo

O pontilhado basófilo são pequenas e numerosas inclusões basófilas, ou seja, de coloração azul, no citoplasma dos eritrócitos, contendo RNA. O pontilhado basófilo pode ser granulações finas, como evidenciado na anemia megaloblástica, anemia hemolítica e outros estados de diseritropoese, e pode ser granulações grosseiras, como visto nas talassemias, na deficiência hereditária de pirimidina 5'-nucleotidase e na intoxicação por chumbo ou por outros metais pesados (BAIN, 2007; GUALANDRO, 2013; PALMER et al., 2015).

### 6.5.2 Howell-jolly

Os corpos de Howell-Jolly são inclusões eritrocitárias pequenas ou médias, arredondas, basofílicas e geralmente únicas (PALMER et al., 2015). O corpo Howell-Jolly é um remanescente de material nuclear, ou seja, DNA, proveniente da fragmentação do núcleo ou de



expulsão incompleta do núcleo. Às vezes é possível evidenciar os corpos de Howell-Jolly nos eritrócitos da medula óssea em indivíduo sadios, mas que são removidos pelo baço e não visualizados na distensão do sangue periférico. Fisiologicamente aparecem no sangue periférico dos recém-nascidos devido a imaturidade do baço. Aparecem no sangue periférico após esplenectomia<sup>10</sup> e alterações esplênicas, como na anemia falciforme e megaloblástica (BAIN, 2007; FAILACE; FERNANDES, 2015; GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

### **6.5.3 Corpúsculo de Pappenheimer**

O Corpúsculo de Pappenheimer consiste em inclusões basofílicas, pequenas, de tamanho, forma e distribuição irregulares, formando pequenos conglomerados localizados próximos à periferia do eritrócito (PALMER et al., 2015; MELO; SILVEIRA, 2015). O Corpúsculo de Pappenheimer contém ferro acumulado devido a sua não incorporação no grupamento heme por causa do bloqueio maturativo, sendo formado por agregados de ferritina, mitocôndrias ou fagossomos que possuem ferritina agregada, portanto, o eritrócito que contém o Corpúsculo de Pappenheimer é chamado de siredócito. O Corpúsculo de Pappenheimer aparece no hipoesplenismo e na sobrecarga de ferro (BAIN, 2007; GUALANDRO, 2013).

### **6.5.4 Corpo de Heinz**

Os corpos de Heinz são pequenos grânulos roxos irregulares redondos ou ovais localizados, geralmente, na periferia dos eritrócitos, visualizados após coloração supravital com azul de cresil brilhante, um corante indutor. Surgem após oxidação da hemoglobina, onde as cadeias de globina libertam-se do grupamento heme e precipitam-se, formando o corpo de heinz, que normalmente são removidos pelo baço. São visualizados na deficiência de glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD), nas anemias hemolíticas, nas hemoglobinopatias por hemoglobinas instáveis, nas intoxicações por drogas, em pacientes esplenectomizados e em outras situações (MELO; SILVEIRA, 2015; NAOUM, 2000; NAOUM PC; NAOUM FA, 2008).

---

<sup>10</sup> Remoção cirúrgica completa ou parcial do baço.

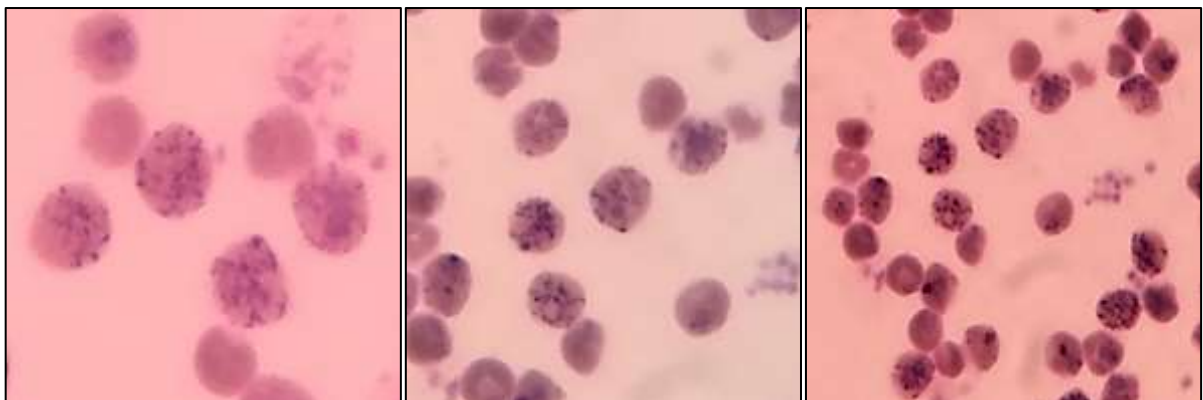
### 6.5.5 Anel de Cabot

Os anéis de Cabot são filamentos finos aparecendo como estruturas anelares ou dobradas em forma de oito, de coloração azulada, no interior do eritrócito. São decorrentes de material remanescente de RNA ribossômico, ou seja, restos nucleares, sendo um sinal de regeneração que podem ser observados na intoxicação por chumbo, anemia megaloblástica, anemia hemolítica e após esplenectomia (GUALANDRO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

### 6.6 RETICULÓCITO

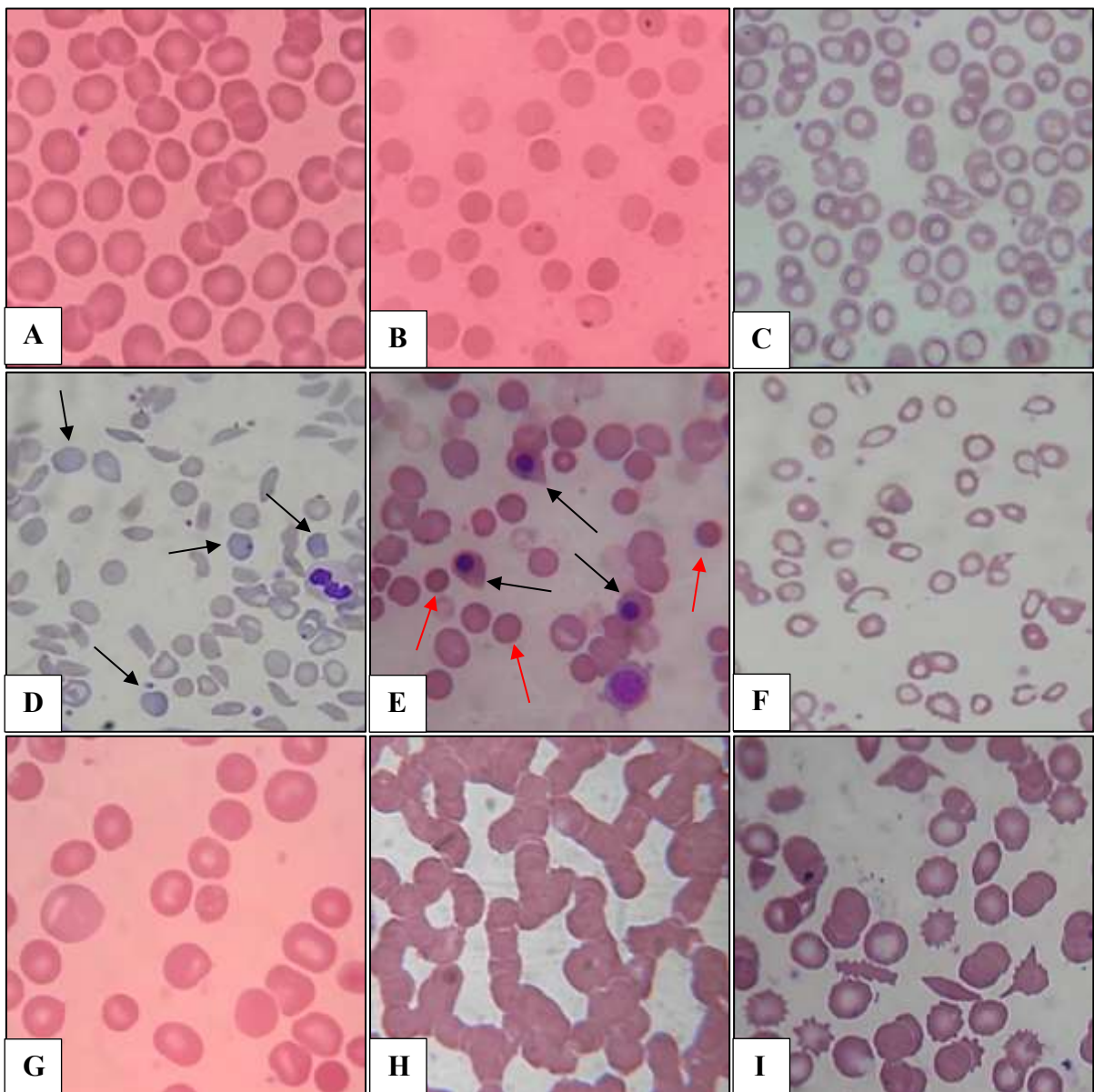
O reticulócito (Rt) é célula um pouco maior que o eritrócito, com aproximadamente 8  $\mu\text{m}$  de diâmetro, sem núcleo, citoplasma acidófilo, embora retém no citoplasma traços de basofilia, dando uma coloração conhecida como policromasia. Após coloração com azul-de-cresil brilhante é possível visualizar um reticulado basófilo (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; ZAGO; CALADO, 2013).

Figura 23: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Reticulócitos



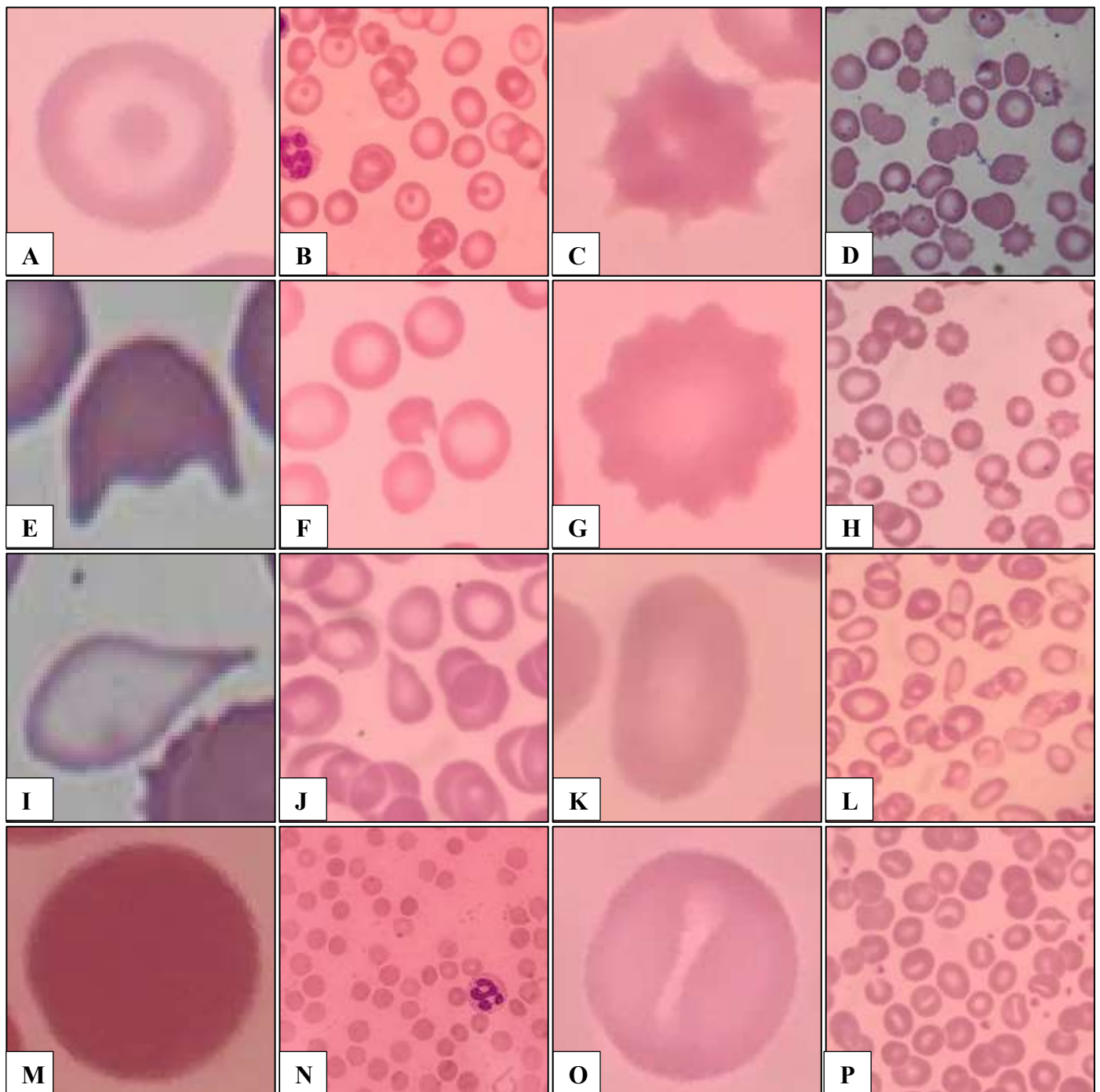
Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração Azul de Cresil Brilhante contra -corada com May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

Figura 24: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Alterações qualitativas



A. Eritrócitos normais; B. Anisocromia; C. Hipocromia; D. Policromasia (seta preta); E. Anisocitose, esferócitos (seta vermelha) e eritroblastos (seta preta); F. Micrócitos; G. Macrócitos; H. Rouleaux; I. Pecilocitose. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

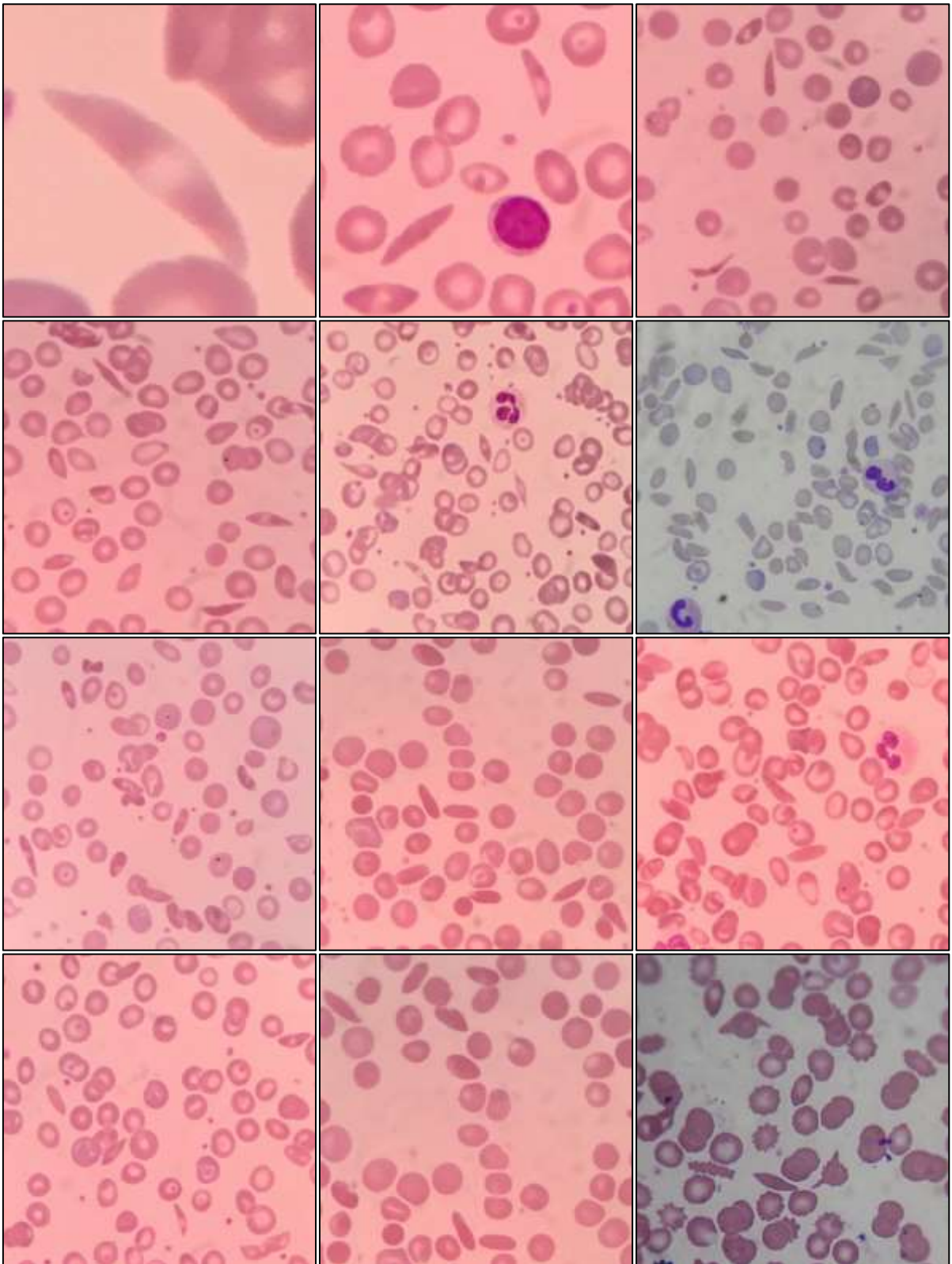
Figura 25: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Alterações qualitativas



A e B. Codócito; C e D. Acantócito; E e F. Queratócito; G e H. Equinócito; I e J. Dacriócito; K e L. Eliptócito e ovalócito; M e N. Esferócito; O e P. Estomatócito Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

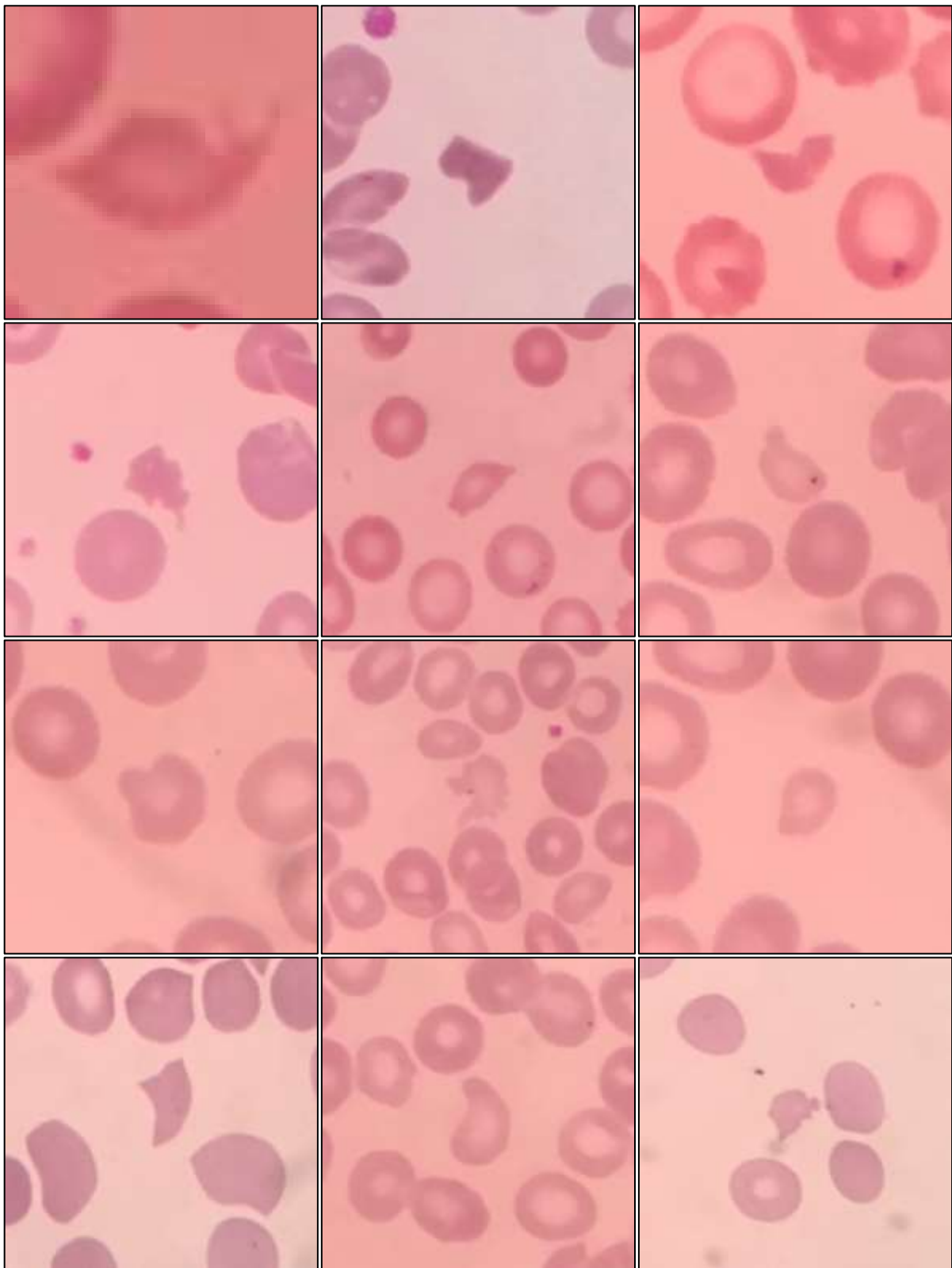


Figura 26: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Drepanócitos



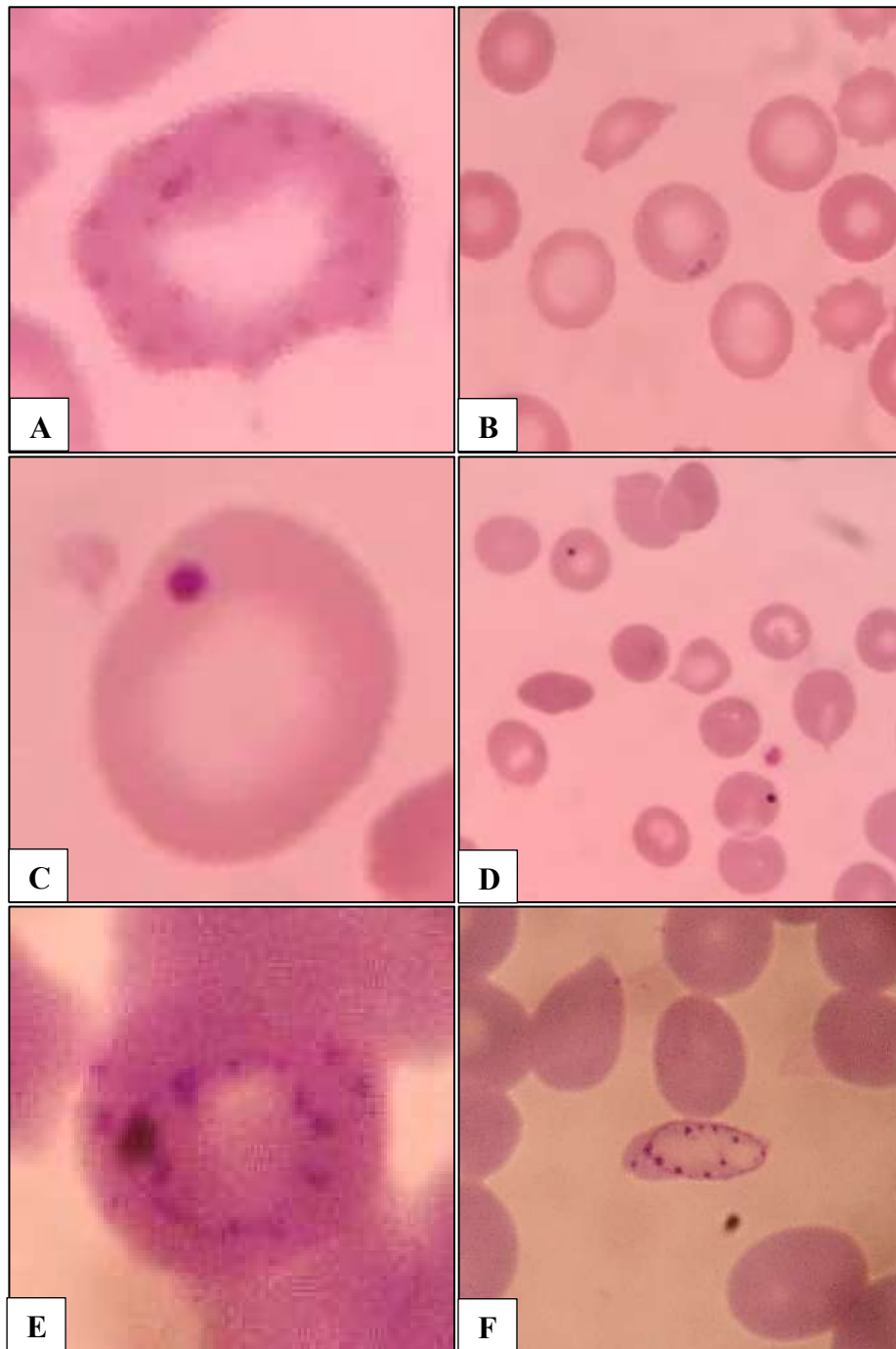
Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

Figura 27: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Esquizócitos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

Figura 28: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Inclusões eritrocitárias



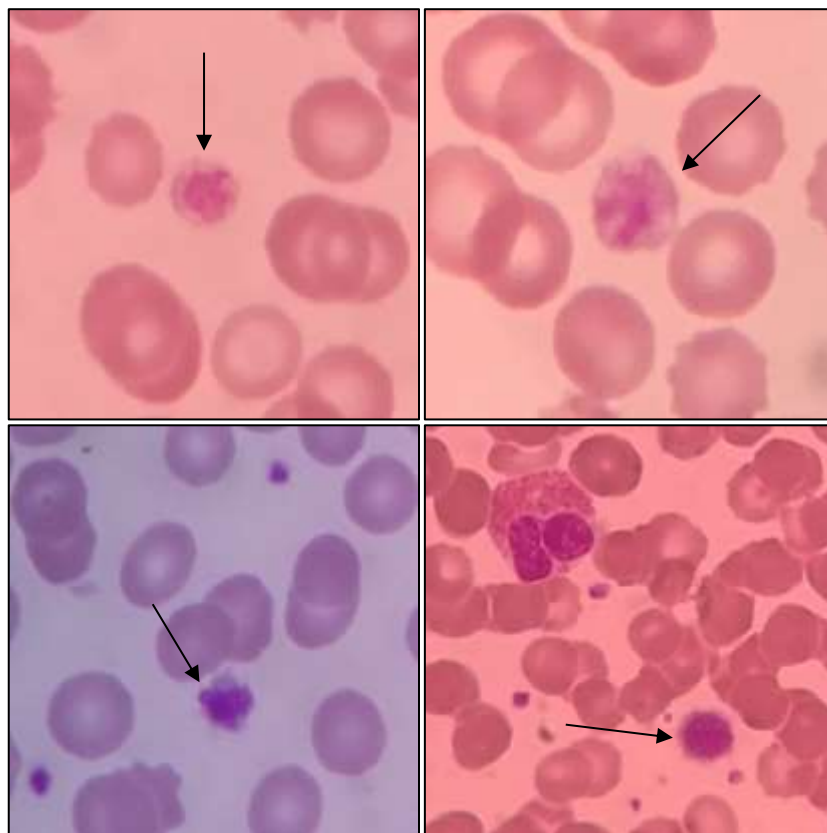
A e B. Pontilhado basófilo; C e D. Howell-Jolly; E e F. Anel de cabot. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profª. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

## 7 ALTERAÇÕES NAS PLAQUETAS

### 7.1 ALTERAÇÃO NO TAMANHO

As plaquetas podem apresentar alterações no seu tamanho, quando o tamanho exceder  $4\ \mu\text{m}$ , mas ser inferior ao tamanho de um eritrócito e linfócito maduro é chamada de macroplaqueta e quando as plaquetas são maiores que essas células se chama plaqueta gigante. Geralmente o aumento no tamanho das plaquetas está relacionado a elevação da sua produção pela medula óssea devido à sua destruição no sangue periférico (LOURENÇO, 2013). São evidenciadas em diversas situações, como na anomalia de May-Hegglin, trombocitopenia hereditária, síndromes mieloproliferativas e mielodisplásicas, coagulação intravascular disseminada, pós-esplenectomia e dentre outras situações (BAIN, 2007; CALADO; FALCÃO, 2013; MELO; SILVEIRA, 2015).

Figura 29: Fotomicrografia de Alteração Plaquetária de tamanho. Macroplaquetas



Seta preta: Macroplaquetas. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina



## 8 MEDULA ÓSSEA

A medula óssea é o maior órgão hematopoiético e um órgão linfoide primário extremamente complexo e organizado, responsável pela produção, desenvolvimento, maturação e destruição de eritrócitos, leucócitos e plaquetas a partir da stem-cell. A medula óssea é dividida em vermelha e amarela, a medula óssea vermelha é um material gelatinoso e semifluido localizado no interior de ossos longos, responsável pela hemopoese, já a medula amarela, que é composta de adipócitos, substitui a medula vermelha com a progressão da idade e limita seu potencial de realizar a hemopoese, porém em situações de estresse, a medula vermelha pode voltar a exercer essa função (CALADO; FALCÃO, 2013; WERTHEIM; BAGG, 2014).

Na prática clínica é comum a utilização de exames laboratoriais com amostra de sangue para diagnóstico e prognóstico, entretanto alguns estados patológicos necessitam de maior investigação através da avaliação laboratorial da medula óssea, auxiliando no diagnóstico final e acompanhamento de doenças hematológicas como leucemias, anemias e plaquetopenias, por exemplo, para isso o profissional responsável pelo exame deve ter capacidade e conhecimento para realizá-lo e estar em constante atualização (FLEURY, 1999).

Pode-se extrair dois tipos diferentes de amostras para o exame da medula óssea, por aspiração, conhecida como mielograma, ou por biópsia da medula óssea. Existem diferenças entre os dois tipos de materiais coletados, no material aspirado é possível visualizar melhor a progressão da maturação e realizar uma avaliação morfológica mais detalhada das células, já no exame histológico com a biópsia é possível estimar melhor a celularidade da medula óssea (PASQUINI; BITTENCOURT; MEDEIROS, 2013).

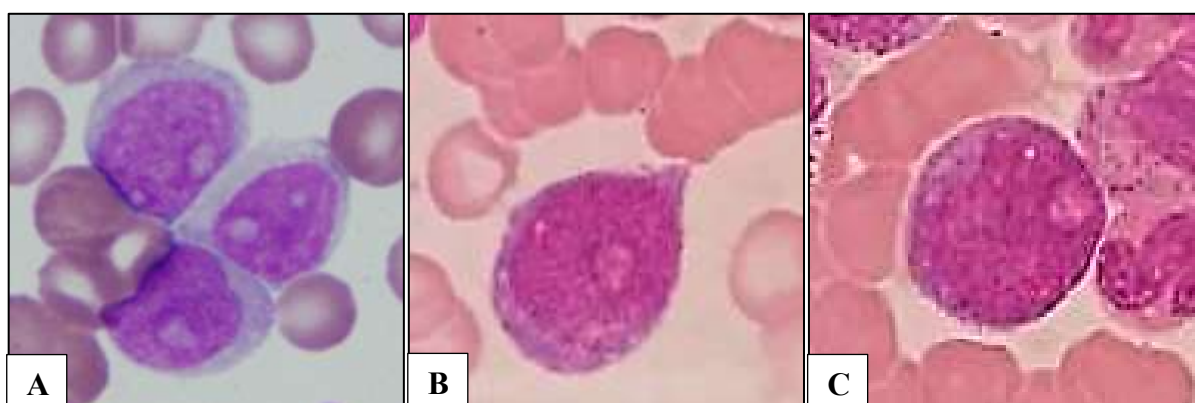
Durante o mielograma é possível avaliar a estimativa da celularidade, detalhamento da estrutura celular e avaliação de células tumorais. A distensão de medula óssea fornece poucas informações sobre a celularidade total da medula, já que pode ocorrer ampla flutuação na concentração celular provocada pela aspiração de quantidades variáveis de sangue com medula óssea, ou seja, contaminação de sangue periférico na hora da coleta. No mielograma é possível visualizar os precursores celulares fisiologicamente, ou seja, as células imaturas, diferente do sangue periférico onde a presença de células precursoras é uma situação não fisiológica. Durante a avaliação da estimativa da celularidade a amostra pode ser classificada como

normocelular, hipocelular e hipercelular, quando a produção de células sanguíneas se encontra nos níveis normais, abaixo e acima, respectivamente.

### 8.1 MIELOBLASTO

O mieloblasto é primeira célula da linhagem granulocítica, tem um diâmetro de 12 a 20  $\mu\text{m}$ , possui uma forma um pouco ovalada com contorno ligeiramente irregular, com relação núcleo-citoplasma elevada, núcleo grande redondo ou ovalado, com padrão de cromatina difuso e nucléolos geralmente evidentes. Seu citoplasma é escasso, basófilo, granulações primárias nem sempre muito visíveis dependendo da técnica de coloração utilizada e zona de golgi ausente (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015; ZAGO, 2013).

Figura 30: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Mieloblastos

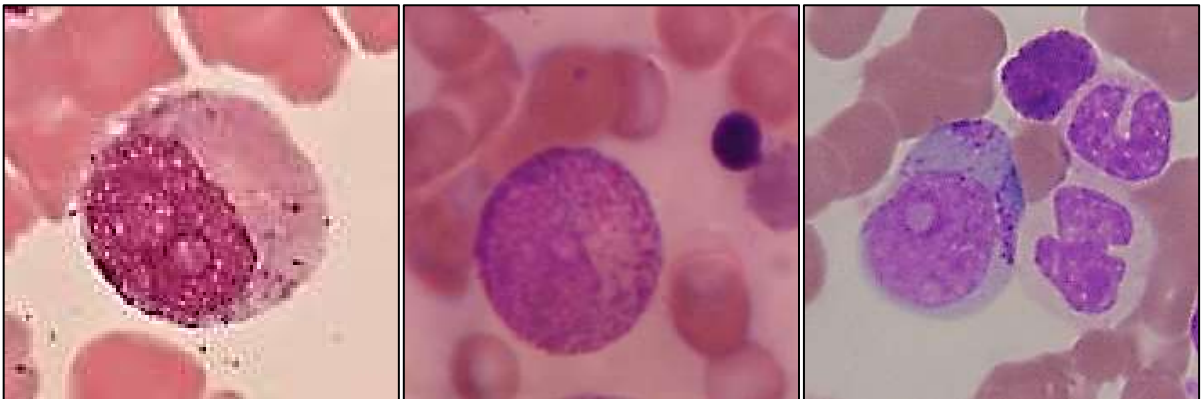


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea (A) e sangue periférico (B e C), Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 8.2 PROMIELÓCITO

O promielócito é uma célula redonda ou ovalada, mede cerca de 15 a 25  $\mu\text{m}$  de diâmetro, núcleo oval. Em relação ao mieloblasto, o promielócito possui uma relação núcleo-citoplasma menor e citoplasma mais basófilo. Cromatina ligeiramente condensada e nucléolos aparentes, zona de golgi evidente, com granulações primárias grosseiras e granulações secundárias, esta última definem e diferenciam o promielócito neutrófilo, eosinófilo e basófilo devido as suas características tintoriais próprias (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 31: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Promielócitos

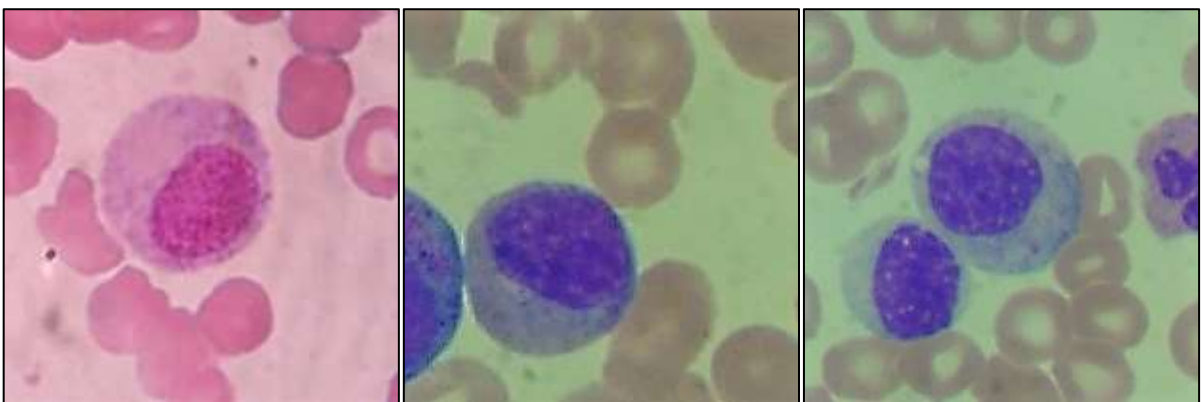


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 8.3 MIELÓCITO

O mielócito é uma célula redonda um pouco menor que o promielócito, com diâmetro de 10 a 18  $\mu\text{m}$ , com núcleo redondo ou oval que pode ser excêntrico, cromatina moderadamente condensada e sem nucléolos evidentes. Quando comparado ao promielócito, o citoplasma do mielócito é mais acidófilo e possui granulações específicas, embora em menor quantidade, responsáveis por definir e diferenciar o mielócito neutrófilo, eosinófilo e basófilo devido as suas características tintoriais próprias (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 32: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Mielócitos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 8.4 METAMIELÓCITO

O metamielócito é uma célula redonda, tem seu tamanho ainda mais reduzido em comparação com as células anteriores, medindo de 10 a 15  $\mu\text{m}$ , possui núcleo reniforme, ou seja, com morfologia semelhante a um rim, com cromatina grosseira, sem nucléolos evidentes. Seu citoplasma é acidófilo, abundante e com granulações específicas, responsáveis por definir e diferenciar o metamielócito neutrófilo, eosinófilo e basófilo devido as suas características tintoriais próprias (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 33: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Metamielócitos



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 8.5 NEUTRÓFILO BASTONETE

O neutrófilo bastonete é uma célula madura redonda, mede cerca de 10 a 14  $\mu\text{m}$ , possui núcleo em ferradura ou bastão, ou seja, desprovida de lóbulos nucleares, citoplasma abundante, acidófilo com granulações finas secundárias ou específicas (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 34: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Neutrófilos Bastonetes



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico (A e B) e medula óssea (C), Coloração May Grunwald-Giemsa: Profª. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

## 8.6 MONOBLASTO

O monoblasto é uma célula grande, maior que o mieloblasto, possui cerca de 20 a 30  $\mu\text{m}$ , com núcleo grande e redondo, cromatina delicada, nucléolos evidentes, citoplasma basófilo, agranular e escasso com alta relação núcleo/citoplasma. São vistos no sangue nas leucemias agudas com diferenciação monocítica (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

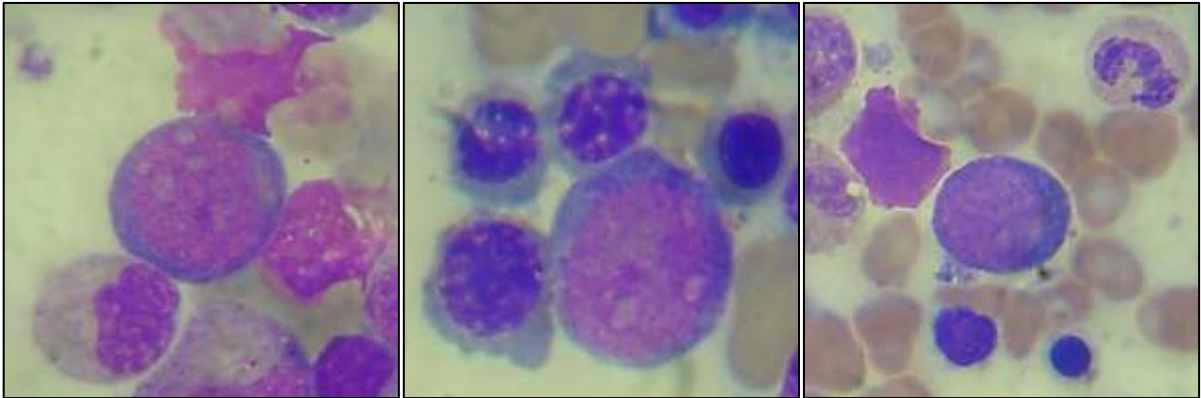
## 8.7 PROMONÓCITO

O promonócito mede cerca de 20  $\mu\text{m}$ , mesmo tamanho do seu antecessor, entretanto seu núcleo possui lobulação ou outra irregularidade, menor relação núcleo/citoplasma, a cromatina nuclear é mais condensada podendo ou não ser evidenciados nucléolos, o contorno celular é irregular apresentando algumas projeções citoplasmáticas, com citoplasma azul acinzentado. Podem ser vistos no sangue periférico em condições reativas e em algumas leucemias (BAIN, 2007; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

## 8.8 PROERITROBLASTO

O proeritroblasto (PE), uma célula redonda, é a primeira célula da linhagem eritroide, mede aproximadamente 18  $\mu\text{m}$  de diâmetro, alta relação núcleo/citoplasma, núcleo redondo e grande com cromatina frouxa, no interior do núcleo é possível visualizar nucléolos. Seu citoplasma é escasso, intensamente basófilo, com halo perinuclear claro e pode exibir extrusões citoplasmáticas (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; ZAGO; CALADO, 2013).

Figura 35: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Proeritroblasto



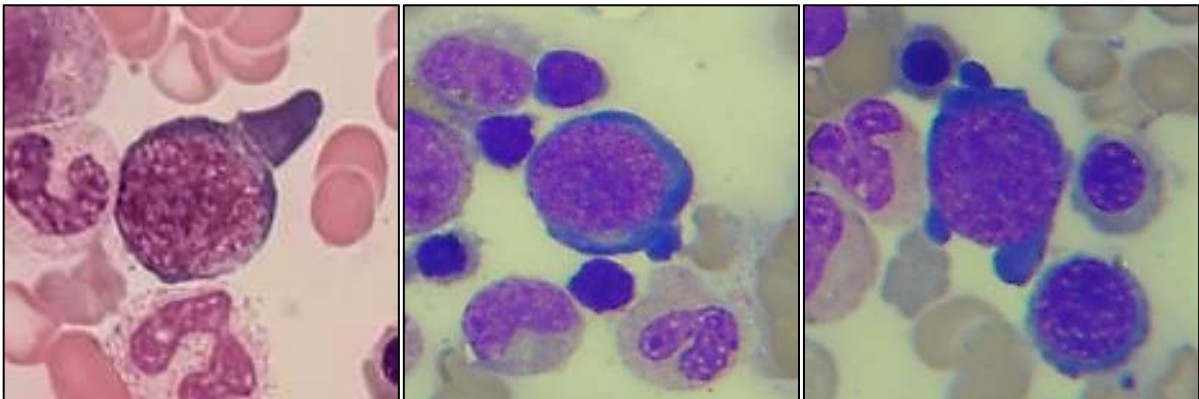
Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

## 8.9 ERITROBLASTO BASÓFILO

O eritroblástico basófilo (EB) é célula um pouco menor que o proeritroblasto, medindo cerca de 15  $\mu\text{m}$  de diâmetro, núcleo redondo e central, com cromatina mais condensada, tornando os nucléolos menos visíveis, a relação núcleo/citoplasma é menor. Seu citoplasma é mais amplo e basófilo com regiões mais claras (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; ZAGO; CALADO, 2013).



Figura 36: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Eritroblasto basófilo

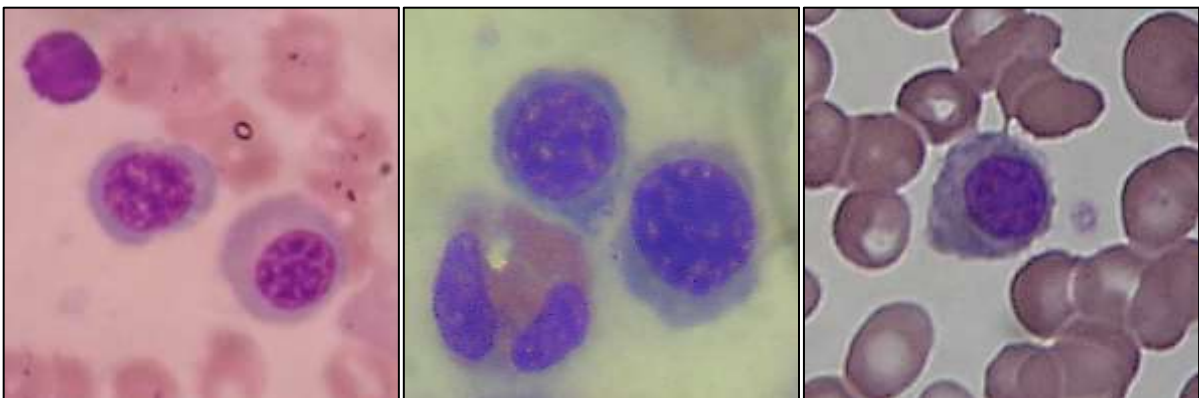


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

#### 8.10 ERITROBLASTO POLICROMÁTICO

O eritroblasto policromático (EPC) possui em torno de 12  $\mu\text{m}$  de diâmetro, o núcleo é redondo e central, com cromatina mais grosseira, impedindo visualização do nucléolo, com relação núcleo/citoplasma menor quando comparada com as células anteriores, citoplasma amplo. Neste momento ocorre a síntese da hemoglobina, produzindo uma coloração pardacenta (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; ZAGO; CALADO, 2013).

Figura 37: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Eritroblastos policromáticos

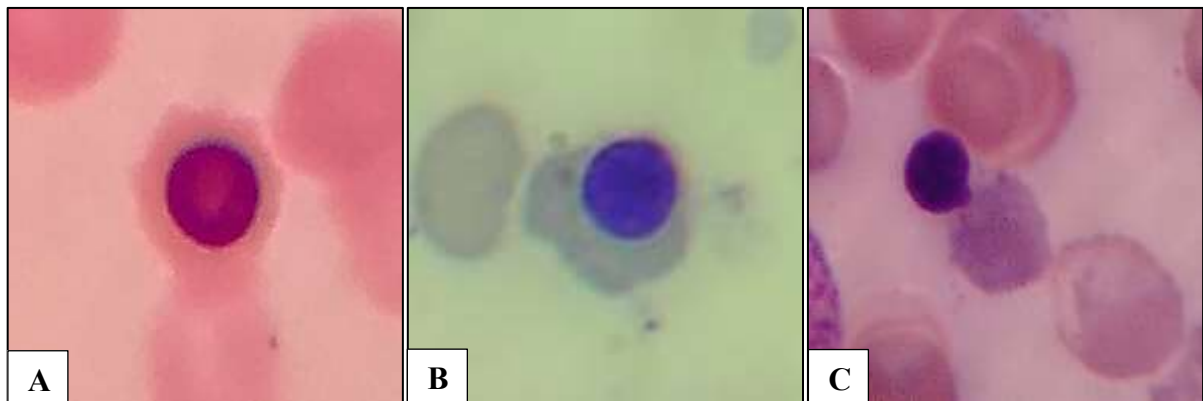


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 8.11 ERITROBLASTO ORTOCROMÁTICO

O eritroblasto ortocromático (EO) possui cerca de 10  $\mu\text{m}$  de diâmetro, núcleo redondo, pequeno, central ou excêntrico, com cromatina densa e sem nucléolo, o citoplasma é abundante e torna-se acidófilo devido à grande quantidade de hemoglobina. Neste momento ocorre perda do núcleo para o parênquima medular e passagem da célula para a corrente sanguínea (LORENZI, 2011; MELO; SILVEIRA, 2015; ZAGO; CALADO, 2013).

Figura 38: Fotomicrografia de Citomorfologia Eritrocitária. Eritroblastos ortocromáticos



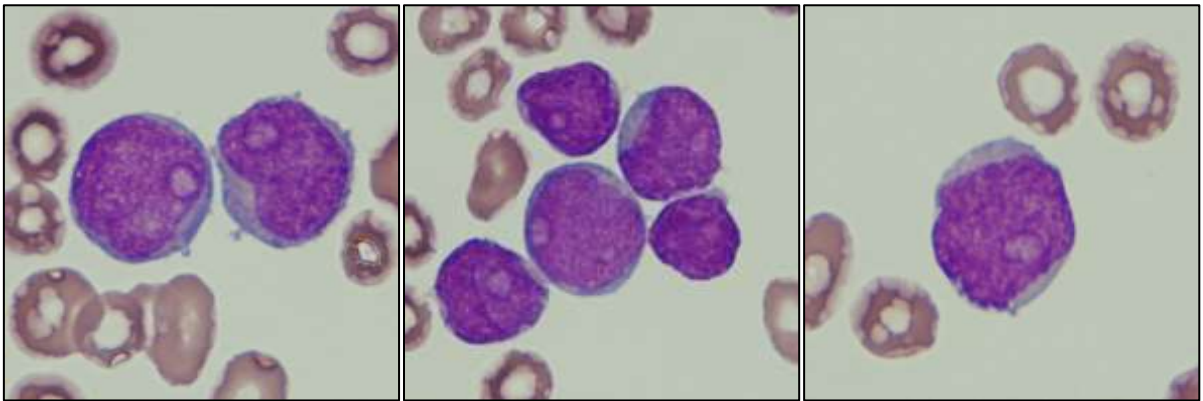
A e B. Eritroblastos ortocromáticos com núcleo; C. Eritroblasto ortocromático expulsando núcleo. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profª. Dra. Solange Lúcia Blatt, Camila Kraus Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 8.12 LINFOBLASTO

O linfoblasto é a primeira célula da linhagem linfoide, mede cerca de 15 a 20  $\mu\text{m}$ , possui núcleo redondo, cromatina frouxa, nucléolos geralmente evidentes, citoplasma basófilo, escasso e sem granulações (LORENZI, 2011; BAIN, 2007). Segundo Palmer et al. (2015) os linfoblastos não podem ser diferenciados de forma confiável de alguns mieloblastos indiferenciados ou pouco diferenciados, portanto, devem ser considerados e contados como uma célula blástica, ou seja, blasto.



Figura 39: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Linfoblastos

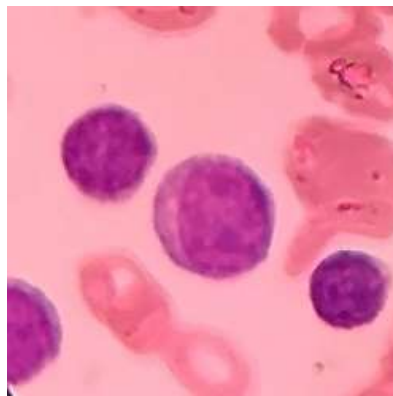


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

### 8.13 PROLINFÓCITO

O prolinfócito mede cerca de 10 a 15  $\mu\text{m}$ , núcleo redondo, com a cromatina menos frouxa que o linfoblasto e menos condensada que o linfócito maduro, podem ser evidenciados os nucléolos, possui citoplasma mais abundante que a célula anterior, levemente basófilo, podendo ter granulações (BAIN, 2007; CALADO; FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011; PALMER et al., 2015).

Figura 40: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Prolinfócitos

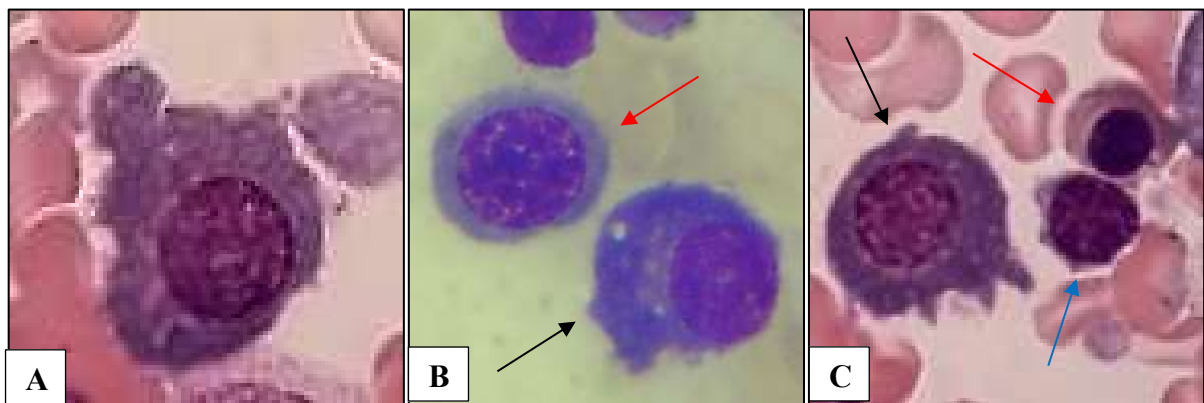


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

## 8.14 PLASMÓCITO

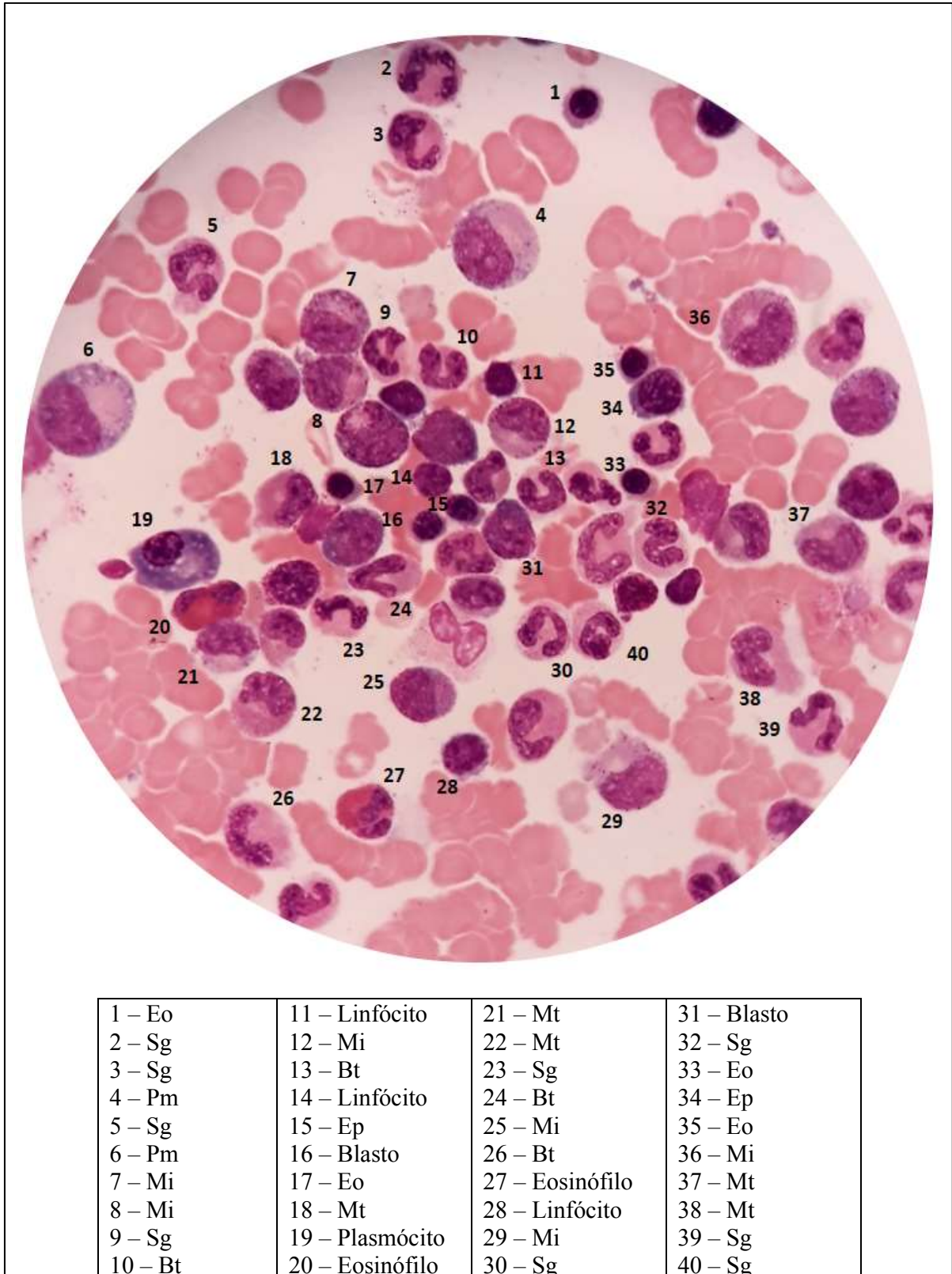
O plasmócito pode medir cerca de 8 a 10  $\mu\text{m}$ , um pouco maiores que os linfócitos pequenos, ou medir em torno de 20  $\mu\text{m}$ . Possui forma oval, núcleo redondo ou oval e excêntrico, cromatina aglomerada, baixa relação núcleo/citoplasma, citoplasma abundante e intensamente basófilo e zona de golgi menos basófila próxima ao núcleo. Os plasmócitos não costumam estar presentes fisiologicamente no sangue periférico, mas é possível evidenciá-los na medula óssea. Podem estar presentes no sangue periférico no mieloma múltiplo e em situações reacionais, como infecção, inflamação, cirrose e dentre outras condições (BAIN, 2007; CALADO; FALCÃO, 2013; PALMER et al., 2015).

Figura 41: Fotomicrografia de Citomorfologia Leucocitária. Plasmócitos



A. Plasmócito; B. Plasmócito (seta preta) e Eritroblasto policromático (seta vermelha); C. Plasmócito (seta preta); Eritroblasto ortocomático (seta vermelha) e linfócito (seta azul). Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

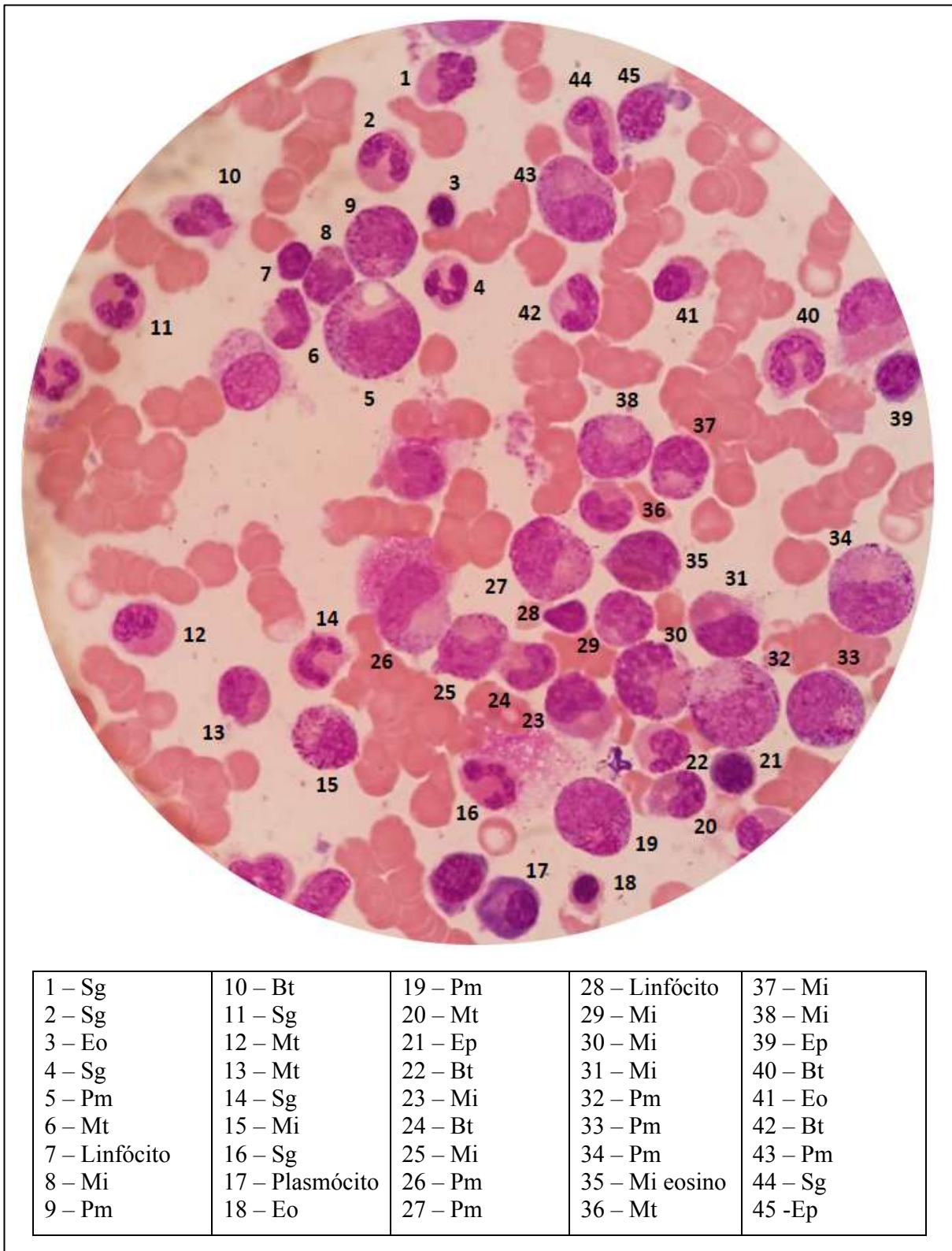
Figura 42: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grünwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

**Figura 42:** Fotomicrografia de Medula Óssea Normal. 1. Eritroblasto ortocromático; 2. Segmentado Neutrófilo; 3. Segmentado Neutrófilo; 4. Promielócito Neutrófilo; 5. Segmentado Neutrófilo; 6. Promielócito Neutrófilo; 7. Mielócito Neutrófilo; 8. Mielócito Neutrófilo; 9. Segmentado Neutrófilo; 10. Bastonete Neutrófilo; 11. Linfócito; 12. Mielócito Neutrófilo; 13. Bastonete Neutrófilo; 14. Linfócito; 15. Eritroblasto policromático; 16. Blasto; 17. Eritroblasto ortocromático; 18. Metamielócito Neutrófilo; 19. Plasmócito; 20. Eosinófilo; 21. Metamielócito Neutrófilo; 22. Metamielócito Neutrófilo; 23. Segmentado Neutrófilo; 24. Bastonete Neutrófilo; 25. Mielócito Neutrófilo; 26. Bastonete Neutrófilo; 27. Eosinófilo; 28. Linfócito; 29. Mielócito Neutrófilo; 30. Segmentado Neutrófilo; 31. Blasto; 32. Segmentado Neutrófilo; 33. Eritroblasto ortocromático; 34. Eritroblasto policromático; 35. Eritroblasto ortocromático; 36. Mielócito Neutrófilo; 37. Metamielócito Neutrófilo; 38. Metamielócito Neutrófilo; 39. Segmentado Neutrófilo; 40. Segmentado Neutrófilo.

Figura 43: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal

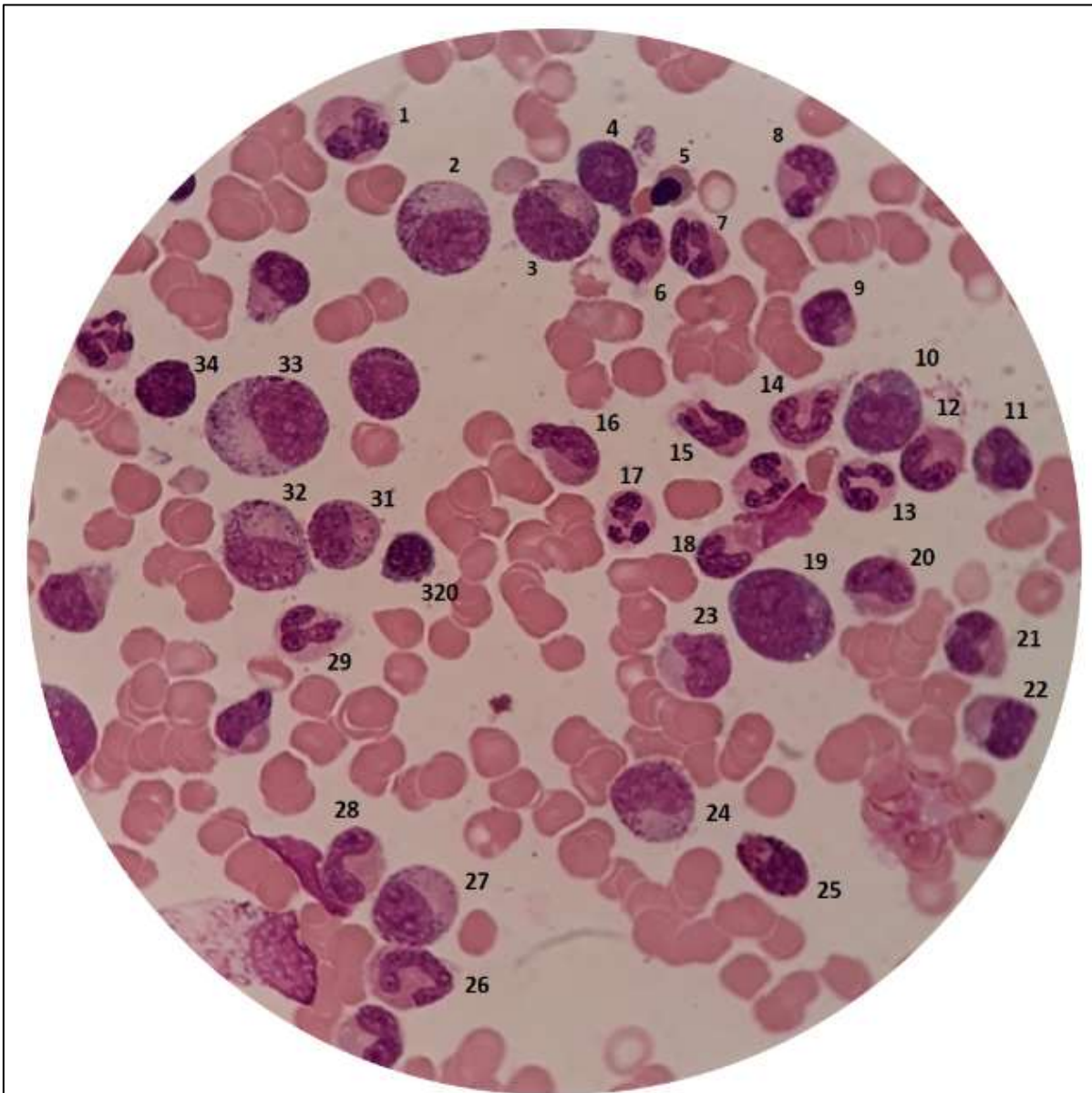


Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

**Figura 43:** Fotomicrografia de Medula Óssea Normal. 1. Segmentado Neutrófilo; 2. Segmentado Neutrófilo; 3. Eritroblasto ortocromático; 4. Segmentado Neutrófilo; 5. Promielócito Neutrófilo; 6. Metamielócito Neutrófilo; 7. Linfócito; 8. Mielócito Neutrófilo; 9. Promielócito Neutrófilo; 10. Bastonete Neutrófilo; 11. Segmentado Neutrófilo; 12. Metamielócito Neutrófilo; 13. Metamielócito Neutrófilo; 14. Segmentado Neutrófilo; 15. Mielócito Neutrófilo; 16. Segmentado Neutrófilo; 17. Plasmócito; 18. Eritroblasto ortocromático; 19. Promielócito Neutrófilo; 20. Metamielócito Neutrófilo; 21. Eritroblasto policromático; 22. Bastonete Neutrófilo; 23. Mielócito Neutrófilo; 24. Bastonete Neutrófilo; 25. Mielócito Neutrófilo; 26. Promielócito Neutrófilo; 27. Promielócito Neutrófilo; 28. Linfócito; 29. Mielócito Neutrófilo; 30. Mielócito Neutrófilo; 31. Mielócito Neutrófilo; 32. Promielócito Neutrófilo; 33. Promielócito Neutrófilo; 34. Promielócito Neutrófilo; 35. Mielócito Eosinófilo; 36. Metamielócito Neutrófilo; 37. Mielócito Neutrófilo; 38. Mielócito Neutrófilo; 39. Eritroblasto policromático; 40. Bastonete Neutrófilo; 41. Eritroblasto ortocromático; 42. Bastonete Neutrófilo; 43. Promielócito Neutrófilo; 44. Segmentado Neutrófilo; 45. Eritroblasto policromático



Figura 44: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal



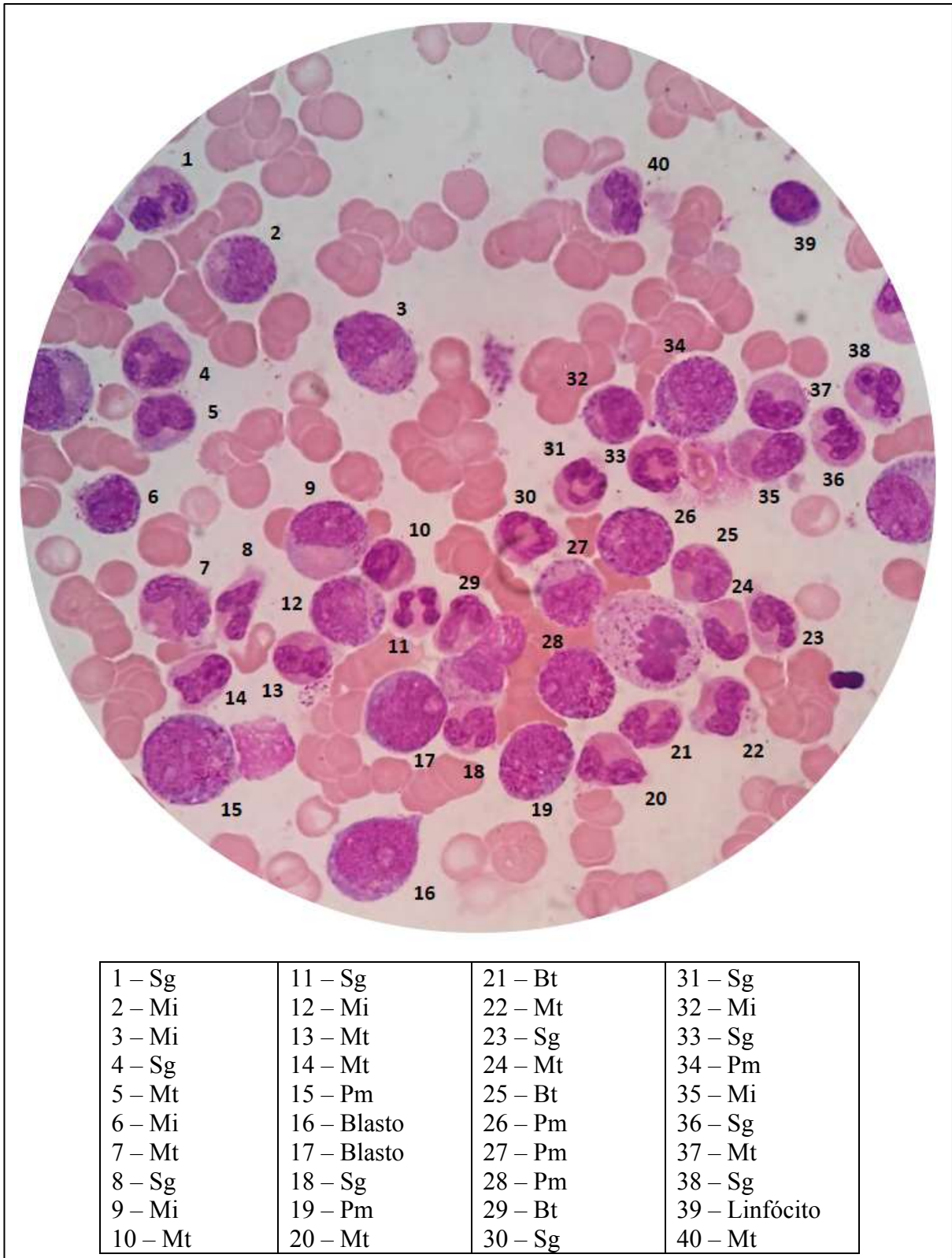
1 – Sg	10 – Blasto	19 – Blasto	27 – Pm
2 – Pm	11 – Mt	20 – Mt	28 – Bt
3 – Pm	12 – Bt	21 – Mt	29 – Sg
4 – Blasto	13 – Sg	22 – Mt	30 – Ep
5 – Eo	14 – Bt	23 – Mt	31 – Mi
6 – Sg	15 – Sg	24 – Mi	32 – Pm
7 – Sg	16 – Bt	25 – Basófilo	33 – Pm
8 – Bt	17 – Sg	26 – Sg	34 – Linfócito
9 – Sg	18 – Mt		

Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

**Figura 44:** Fotomicrografia de Medula Óssea Normal. 1. Segmentado Neutrófilo; 2. Promielócito Neutrófilo; 3. Promielócito Neutrófilo; 4. Blasto; 5. Eritroblasto Ortocromático; 6. Segmentado Neutrófilo; 7. Segmentado Neutrófilo; 8. Bastonete Neutrófilo; 9. Segmentado Neutrófilo; 10. Blasto; 11. Metamielócito Neutrófilo; 12. Bastonete Neutrófilo; 13. Segmentado Neutrófilo; 14. Bastonete Neutrófilo; 15. Segmentado Neutrófilo; 16. Bastonete Neutrófilo; 17. Segmentado Neutrófilo; 18 – Metamielócito/Bastonete Neutrófilo; 19. Blasto; 20. Metamielócito Neutrófilo; 21. Metamielócito Neutrófilo; 22. Metamielócito Neutrófilo; 23. Metamielócito Neutrófilo; 24. Mielócito Neutrófilo; 25. Basófilo; 26. Segmentado Neutrófilo; 27. Promielócito Neutrófilo; 28. Bastonete Neutrófilo; 29 – Segmentado Neutrófilo; 30. Eritroblasto policromático; 31. Mielócito Neutrófilo; 32. Promielócito Neutrófilo; 33. Promielócito Neutrófilo; 34. Linfócito



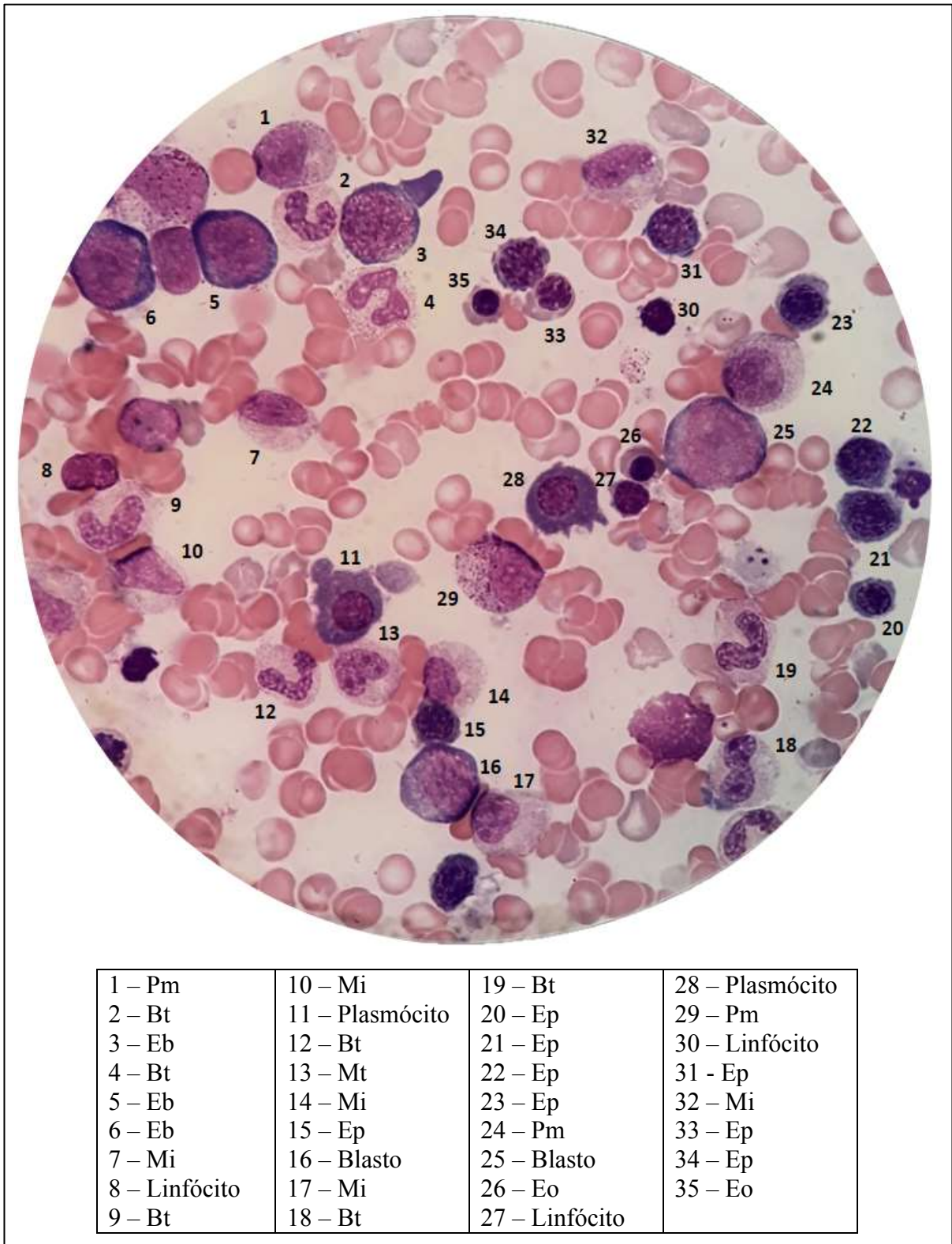
Figura 45: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grünwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

**Figura 45:** Fotomicrografia de Medula Óssea Normal. 1. Segmentado Neutrófilo; 2. Mielócito Neutrófilo; 3. Mielócito; 4. Segmentado Neutrófilo; 5. Metamielócito Neutrófilo; 6. Mielócito Neutrófilo; 7. Metamielócito Neutrófilo; 8. Segmentado Neutrófilo; 9. Mielócito Neutrófilo; 10. Metamielócito Neutrófilo; 11. Segmentado Neutrófilo; 12. Mielócito Neutrófilo; 13. Metamielócito Neutrófilo; 14. Metamielócito; 15. Promielócito; 16. Blasto; 17. Blasto; 18. Segmentado Neutrófilo; 19. Promielócito Neutrófilo; 20. Metamielócito Neutrófilo; 21. Bastonete Neutrófilo; 22. Metamielócito Neutrófilo; 23. Segmentado Neutrófilo; 24 – Metamielócito Neutrófilo; 25. Bastonete Neutrófilo; 26. Promielócito Neutrófilo; 27. Promielócito Neutrófilo; 28. Promielócito Neutrófilo; 29. Bastonete Neutrófilo; 30. Segmentado Neutrófilo; 31. Segmentado Neutrófilo; 32. Mielócito Neutrófilo; 33. Segmentado Neutrófilo; 34. Promielócito Neutrófilo; 35. Mielócito Neutrófilo; 36. Segmentado Neutrófilo; 37. Metamielócito Neutrófilo; 38. Segmentado Neutrófilo; 39. Linfócito; 40. Metamielócito Neutrófilo

Figura 46: Fotomicrografia de Medula Óssea Normal



Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, medula óssea, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina

**Figura 46:** Fotomicrografia de Medula Óssea Normal. 1. Promielócito Neutrófilo; 2. Bastonete Neutrófilo; 3. Eritroblasto basófilo; 4. Bastonete Neutrófilo; 5. Eritroblasto basófilo; 6. Eritroblasto basófilo; 7. Mielócito Neutrófilo; 8. Linfócito; 9. Bastonete Neutrófilo; 10. Mielócito Neutrófilo; 11. Plasmócito; 12. Bastonete Neutrófilo; 13. Metamielócito Neutrófilo; 14. Mielócito Neutrófilo; 15. Eritroblasto policromático; 16. Blasto; 17. Mielócito Neutrófilo; 18. Bastonete Neutrófilo; 19. Bastonete Neutrófilo; 20. Eritroblasto policromático; 21. Eritroblasto policromático; 22. Eritroblasto policromático; 23. Eritroblasto policromático; 24. Promielócito Neutrófilo; 25. Blasto; 26. Eritroblasto ortocromático; 27. Linfócito; 28. Plasmócito; 29. Promielócito; 30. Linfócito; 31. Eritroblasto policromático; 32. Mielócito Neutrófilo; 33. Eritroblasto policromático; 34. Eritroblasto policromático; 35. Eritroblasto ortocromático

## 9 LEUCEMIAS

As leucemias são um grupo heterogêneo de neoplasias do sistema hematopoiético que se originam na medula óssea. Alguma célula imatura sofre mutação genética, transformando-se em uma célula cancerosa, com alta capacidade replicativa, podendo substituir as células saudáveis da medula óssea, e, posteriormente, invadir o sangue periférico, atingindo vários órgãos do indivíduo (FAILACE; FERNANDES, 2015; JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013; MARQUES, 2017; SILVA et al., 2006).

As leucemias podem ser classificadas de acordo com a linhagem da célula afetada, estando divididas em mieloide, linfoide ou ambígua, conhecidas como leucemia mieloide quando as células afetadas são os neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos, eritrócitos e plaquetas, leucemia linfoide envolvendo linfócitos e leucemia bifenotípica quando afeta ambas as linhagens de células sanguíneas (MARQUES, 2017). Além de classificar a leucemia em mieloide e linfoide é possível classificar conforme estado de maturidade das células leucêmicas, ou seja, em aguda e crônica. Na leucemia aguda ocorre um bloqueio maturativo e proliferação clonal maligna e rápida de células sanguíneas imaturas, tornando-se incapazes de desempenhar as suas funções. Na leucemia crônica as células leucêmicas circulantes são células mais maduras que no início da doença conseguem desempenhar a sua função e o indivíduo pode não apresentar sintomatologia, mas conforme a leucemia agrava lentamente os sintomas vão surgindo, ocorrendo o aumento das células maduras anormais no sangue periférico e medula óssea (INCA, 2020; SILVA et al., 2006). Com a produção desordenada de um tipo celular ocorre a supressão das demais linhagens hematológicas, com isso as leucemia aguda frequentemente está acompanhada de um quadro anêmico, sangramentos espontâneos devido a plaquetopenia e suscetibilidade às infecções (JUNQUEIRA, CARNEIRO, 2013).

As leucemias abordadas neste trabalho são a leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfoblástica aguda (LLA) e leucemia linfocítica crônica (LLC), conforme a revisão da classificação de neoplasias mieloides e leucemia aguda da Organização Mundial da Saúde (2016), com etiologia, sinais e sintomas, diagnóstico e tratamento específicos.

Além da análise morfológica das células sanguíneas na amostra de sangue periférico e de medula óssea para constatação da leucemia, são realizados exames complementares como avaliação clínica, citoquímica, imunofenotipagem, citogenética e genética-molecular visando

uma classificação adequada da leucemia, fornecendo o prognóstico da doença e posterior tratamento (CHAUFFAILLE; YAMAMOTO, 2013; SILVA et al., 2006).

## 9.1 LEUCEMIAS AGUDAS

As leucemias agudas (LA) são um grupo heterogêneo de doenças com alta morbimortalidade que se caracterizam por uma proliferação rápida e descontrolada de células imaturas e um bloqueio na maturação e diferenciação das células-tronco hematopoiéticas. Afeta a linhagem mieloide na leucemia mieloide aguda (LMA) e a linhagem linfoide na leucemia linfoblástica aguda (LLA), o que resulta no acúmulo de progenitores anormais, chamados de blastos, na medula óssea, sangue periférico e outros tecidos, substituindo as células maduras normais (LAMEGO et al., 2009; SILVA et al., 2006). Em alguns casos os blastos caracterizam-se pela expressão de marcadores linfóides e mielóides em uma mesma célula, originando as leucemias agudas ambíguas (MPAL), em outros casos os blastos não apresentam marcadores específicos para as linhagens linfoide ou mieloide, originando as leucemias indiferenciadas (MARQUES, 2017).

A característica principal das leucemias agudas é a substituição progressiva e rápida da medula óssea pelos blastos resultando em pancitopenia, ou seja, diminuição da produção normal das três linhagens mielóides, sendo estes os eritrócitos, granulócitos maduros e plaquetas (FAILACE; FERNANDES, 2015; SILVA et al., 2006).

### 9.1.1 Leucemia mieloide aguda

A leucemia mieloide aguda (LMA) é uma neoplasia maligna de células hematopoiéticas progenitoras de origem mieloide, com diversidade clínica, morfológica e molecular, com alta morbimortalidade (CAMPREGHER et al., 2017; HELMAN et al., 2011). Caracteriza-se pela proliferação anormal, rápida, descontrolada e exagerada de um clone células mielóides indiferenciadas, conhecidas como blastos, células incapazes de evoluírem até o estágio final de maturação completa, substituindo as células normais da medula óssea e invadindo o sangue periférico (LIMA et al., 2016; LOVATO, 2015; MELO, 2008; MELO; SILVEIRA, 2015). Em muitos casos não existe causa aparente, mas pode estar relacionada fatores genéticos e

ambientais, como a exposição ao benzeno, quimioterapia, infecções virais e irradiações ionizantes (HAMERSCHLAK, 2008; PELLOSO et al., 2003; SILVA et al., 2006).

Na distensão sanguínea e no mielograma é possível evidenciar blastos leucêmicos, células grandes de 20  $\mu\text{m}$  de diâmetro, com forma e núcleo redondos, cromatina delicada com um ou mais nucléolos, citoplasma escasso, basófilo e granulações primárias, estas células podem ser mieloblastos, monoblastos, megacarioblastos, eritroblastos ou uma população mista (BAIN, 2007; BENÍCIO; REGO, 2013). Na LMA há, geralmente, leucocitose e pode ou não ter neutropenia, plaquetopenia e anemia normocítica e normocrômica (MELO, 2008; MELO; SILVEIRA, 2015; SILVA et al., 2006). Em alguns casos é possível evidenciar bastonetes de Auer que são agrupamentos de materiais lisossomais encontrados em no interior dos blastos leucêmicos (SILVA et al., 2006; BAIN, 2007). Conforme a classificação da Organização Mundial da Saúde (OMS), para ser considerada LMA deve haver no mínimo 20% blastos entre os leucócitos no sangue periférico ou na medula óssea, diferente da classificação Francesa-Americana-Britânica (FAB), devendo ter no mínimo 30% (CHAUFFAILLE; YAMAMOTO, 2013). Outra característica importante é a presença de hiato leucêmico na sequência maturativa, ou seja, perda de escalonamento devido a uma parada ou dificuldade de maturação levando ao acúmulo de células imaturas na medula óssea e ausência de formas intermediárias entre os mieloblastos e os neutrófilos maduros.

### **9.1.2 Leucemia linfoblástica aguda**

A leucemia linfoblástica aguda (LLA) é caracterizada pela proliferação exagerada e descontrolada de um clone linfoide indiferenciado, sem capacidade de diferenciação até as formas maduras e normais, acumulando-se os linfoblastos ou células jovens na medula óssea e posteriormente invadindo o sangue periférico, podendo ser do tipo B ou T. Ocorre mais frequentemente em crianças, enquanto que os outros subtipos de leucemia aguda são mais comuns em adultos. Dentre as causas para o desenvolvimento desta leucemia encontram-se a predisposição genética e fatores ambientais, como radiações ionizantes, agentes quimioterápicos e o benzeno, embora estejam mais frequentemente envolvidos com a LMA (HAMERSCHLAK, 2008; LORENZI, 2011).

O critério diagnóstico de LLA é a presença de no mínimo 20% de blastos no sangue periférico ou medula óssea (CHAUFFAILLE, YAMAMOTO, 2013).

Alguns casos são acompanhados de anemia, plaquetopenia e leucocitose, embora alguns pacientes podem apresentar o número de leucócitos normal ou diminuído (BAIN, 2007; MELO, 2008; ONCIU, 2009).

Quadro 1 - Características morfológicas de linfoblastos e mieloblastos nas LA

	<b>Linfoblasto</b>	<b>Mieloblasto</b>
Tamanho	Variável Geralmente pequenos	Variável Geralmente grandes
Núcleo	Central Geralmente redondos, as vezes indentados Relação N/C alta nas formas que ocorrem em crianças e baixa nas formas que ocorrem em adultos	Tendência a serem excêntricos, redondos ou ovais Relação N/C alta em blastos indiferenciados e em alguns megacarioblastos Razão N/C geralmente baixa nas formas diferenciadas
Cromatina	Fina com condensação dispersa Muito condensada nos linfoblastos pequenos	Fina Granular, delicadamente dispersa
Nucléolo	Geralmente evidentes Ausente nos pequenos linfoblastos	Quase sempre presente, na maioria das vezes grande e proeminente Pode ter um ou mais
Citoplasma	Escasso Basofílico	Variável Abundante nos monoblastos Saliências nos eritroblastos e megacarioblastos
Grânulos	Raramente presentes Azurófilos e sempre negativos para peroxidase e esterases	Presentes nas formas com diferenciação e positivos nas citoquímicas Peroxidase positiva nas linhagens neutrofílica e eosinofílica Esterase não específica na linhagem monocítica.
Bastonetes de Auer	Sempre ausentes	Podem estar presentes Tipicamente presentes na leucemia promielocítica hipergranular
Vacúolos	Podem estar presentes	Podem estar presentes Quase sempre presentes nas leucemias que apresentam componentes monocítico

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020



## 9.2 LEUCEMIAS CRÔNICAS

Nas leucemias crônicas as células leucêmicas circulantes são células mais maduras que no início da doença conseguem desempenhar a sua função, ou seja, há um desvio escalonado de maturação dos leucócitos, e o indivíduo pode não apresentar sintomatologia. Conforme a leucemia agrava lentamente, os sintomas vão surgindo, ocorrendo o aumento das células maduras anormais. Afeta a linhagem mieloide, chamada de leucemia mieloide crônica (LMC) e a linhagem linfoide, chamada de leucemia linfocítica crônica (LLC) (MARQUES, 2017).

### 9.2.1 Leucemia mieloide crônica

A leucemia mieloide crônica (LMC) é uma neoplasia mieloproliferativa maligna, caracterizada pela excessiva proliferação de um clone mieloide anômalo na medula óssea com capacidade de expansão, assim como na LMA, entretanto de caráter crônico e preservação da capacidade de maturação celular, onde a morfologia das células normais e leucêmica é praticamente a mesma, muitas vezes dificultando o diagnóstico (DORFMAN et al., 2018; LORENZI, 201).

Segundo Monroy et al. (2018) a LMC é relacionada ao Cromossomo Philadelphia (Ph), uma anormalidade citogenética específica que ocorre pela translocação entre os braços longos dos cromossomos 9 e 22, ou seja, t(9;22), gerando o BCR-ABL, gene leucemia-específico. São diversas situações que podem levar a alteração genética e formação do Cromossomo Philadelphia, como a radiação, intoxicação por drogas, como por exemplo o benzeno e infecção viral (BOLLMANN, GIGLIO, 2011; FUNKE; PASQUINI,2013; HAMERSCHLAK, 2008).

A evolução clínica da LMC é dividida em três fases: crônica, acelerada e blástica. A fase crônica (FC), é uma fase benigna de proliferação e diferenciação celular excessiva, dura cerca de cinco anos. A segunda fase é a fase acelerada (FA), caracterizada pela perda progressiva da diferenciação celular, dura aproximadamente um ano. A última fase é a blástica (FB), um quadro de leucemia aguda, com duração média de dois a dez meses, com uma perda progressiva da diferenciação celular e habitualmente fatal (BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008; FUNKE; PASQUINI,2013; MELO, 2008).

Durante a avaliação da distensão sanguínea é possível verificar desvio à esquerda não escalonado com toda sequência maturativa até mieloblasto, podendo haver uma porcentagem

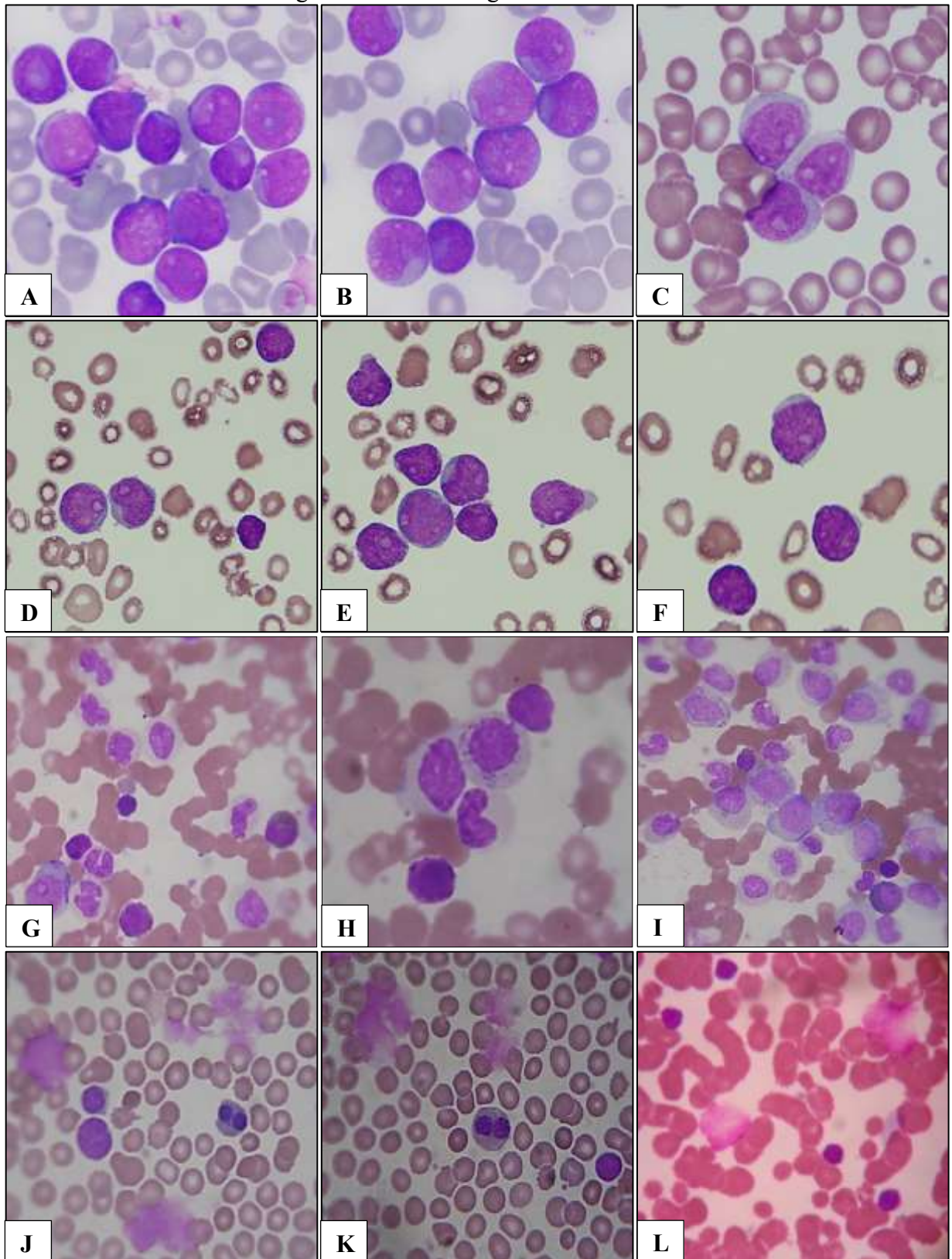
de mieoblasto maior que a de metamielócito, sendo o neutrófilo a célula predominante e os mielócito em segundo lugar, geralmente acompanhada de leucocitose variável, anemia discreta ou acentuada, plaquetas normais ou pouco elevadas. Um achado importante nesses casos é a presença de eosinofilia e basofilia. No mielograma é possível perceber a hiperplasticidade acentuada, com aumento de precursores granulocíticos, havendo diminuição dos precursores eritroblásticos e aumento da série megacariocítica. Alterna entre as fases crônica, acelerada e blástica, com  $\leq 2\%$ , 10-19% e  $\geq 20\%$  de blastos, respectivamente, segundo a classificação da OMS (BAIN, 2007; BORTOLHEIRO, CHIATTONE, 2008; INCA, 2003; LORENZI, 2011).

### **9.2.2 Leucemia linfocítica crônica**

A leucemia linfocítica crônica (LLC) é uma doença linfoproliferativa que tem origem nos linfócitos maduros, pode ser do tipo B ou T, cursa com quadro clínico benigno de evolução lenta, caracterizada por acúmulo progressivo de pequenos linfócitos maduros, no sangue periférico, medula óssea e tecidos linfáticos, com desenvolvimento de esplenomegalia, hepatomegalia e linfonomegalia. A etiologia da LLC ainda é desconhecida, embora provavelmente está relacionada com predisposição genética (FALCÃO, 2013; LORENZI, 2011; MELO, 2008).

O achado mais característico no sangue periférico é a leucocitose às custas de linfocitose persistente de linfócitos maduros, seguindo de anemia normocítica e normocrômica e plaquetopenia. Os linfócitos possuem tamanho semelhante aos normais, entretanto mais homogêneo, núcleos redondos e pequenos com cromatina densa aglomerada, nucléolos pequenos e citoplasma escasso. Na distensão sanguínea pode ocorrer a presença de formas intermediárias, ou seja, prolinfócitos, e manchas de Gumprecht, já que estas células apresentam maior fragilidade mecânica e costumam esmagar-se na distensão sanguínea, formando as manchas características (BAIN, 2007; FALCÃO, 2013; MELO, 2008; LORENZI, 2011; RODRIGUES et al., 2016).

Figura 47: Fotomicrografia de Leucemia



A, B e C. LMA; D, E e F. LLA; G, H e I. LMC; J, K e L. LLC. Microscopia óptica convencional, aumento de 1.000x, sangue periférico, Coloração May Grunwald-Giemsa: Profa. Dra. Solange Lúcia Blatt, Laboratório de Hematologia Clínica, Universidade Federal de Santa Catarina.

## 10 GUIA PRÁTICO DE COMO REALIZAR A LEITURA MICROSCÓPICA DE UMA DISTENSÃO SANGUÍNEA

Para que um exame hematológico tenha um resultado seguro, contribuindo com o diagnóstico, prognóstico e tratamento adequado do paciente, é necessário que todas as etapas pré-analíticas, analíticas e pós-analíticas sejam executadas corretamente, exigindo alta competência técnica, visando a minimização de erros inerentes à subjetividade (KAWAHARA, SHIOZAWA, 2015). Segundo Costa e Moreli (2012):

É necessário que o profissional da saúde, seja atuando em laboratórios de análises clínicas ou de pesquisas, tenha consciência desses procedimentos e evitem erros o máximo possível para não influenciar diretamente no diagnóstico por meio de resultados falso-positivos e/ou falso-negativos (COSTA; MORELI, 2012, p. 164)

A leitura microscópica de uma distensão de sangue periférico faz parte da fase analítica e deve seguir os seguintes passos:

- Primeiramente é preciso preparar o microscópio para a leitura do material, realizando a limpeza do mesmo com uma gaze ou algodão embebidos com uma solução de limpeza específica, limpando-o, principalmente, as objetivas e secando posteriormente com um algodão seco.
- Antes de conectá-lo à tomada é importante verificar se o reóstato da lâmpada está no mínimo.
- Após a limpeza é conveniente conectá-lo à tomada e ligar o interruptor do microscópio.
- Verificar se a objetiva de menor aumento está posicionada para observação, caso contrário, posicioná-la movendo o revólver de objetivas.
- Baixar a platina com auxílio do foco macrométrico.
- Colocar a lâmina do material a ser analisado na platina encaixando no retentor de lâmina, a face da distensão sanguínea deve estar voltada para cima.
- Ligar a iluminação do microscópio e ajustar o reóstato até que a intensidade da luz esteja satisfatória.
- Mover a platina, com o auxílio do charriot, até a distensão do material esteja sob o trajeto luminoso da objetiva.

- Elevar a platina com auxílio do foco macrométrico até que a lâmina quase encoste a objetiva.
- Olhar através das oculares e ajustar a posição da mesma conforme a distância interpupilar do observador.
- Ajustar o anel da ocular.
- Com o auxílio do foco macrométrico e micrométrico focar o material, olhando através das oculares.
- Ajustar a intensidade da luz, a abertura do diafragma íris do condensador e de campo até que estejam satisfatórios.
- Iniciar a leitura com uma objetiva de menor aumento, ou seja, de 10x, observar a distribuição das células especialmente nas margens e cauda do distensão, examinando a lâmina de modo geral.
- A distensão possui três regiões, a cabeça, o corpo e a cauda, a leitura do material deverá ocorrer na região do corpo, uma região intermediária entre cabeça e cauda, nessa região os leucócitos, hemácias e plaquetas estão distribuídos de forma mais homogênea, é a área de escolha para a análise qualitativa e quantitativa da distensão sanguínea e de medula óssea.
- Com a objetiva de 10x selecionar a região de distribuição adequada dos elementos sanguíneos, trocar para a objetiva de 40x e proceder a leitura do material através do método de Ameia modificado, ou seja, zigue-zague, de forma a percorrer o material adequadamente. Esta é a parte mais importante do exame, sendo possível analisar a distensão quase completamente a fim de identificar a presença de alguma alteração celular.
- Proceder a contagem diferencial dos leucócitos, que informa a frequência relativa de cada tipo celular encontrado no sangue periférico, ou seja, a forma leucocitária relativa. Contar 100 leucócitos na região com melhor distribuição celular diferenciando neutrófilos segmentados e bastonetes, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos, assim como células imaturas. A contagem diferencial de cada leucócito é emitida em valor relativo (%) e em valor absoluto ( $10^3 /\text{mm}^3$ ), este último leva em consideração a contagem total de leucócitos realizada por equipamentos automatizados.
- Enquanto é realizada a contagem diferencial dos leucócitos, é necessário avaliar a coloração, tamanho e morfologia, dos leucócitos, eritrócitos e plaquetas.
- Caso tenha necessidade em avaliar detalhes sutis, é possível analisar por imersão, através da objetiva de 100x com uma gota de óleo de imersão para auxiliar na leitura.

- Anotar a contagem diferencial dos leucócitos, se há presença de anisocitose, anisocromia e policitose, e se foram identificadas eritroblastos.
- Após a leitura do material, ajustar o reóstato até que a intensidade da luz esteja no mínimo, desligar o interruptor do microscópio e desconectá-lo à tomada.
- Retirar a lâmina do retentor de lâminas e platina, limpá-la com uma gaze caso tenha sido utilizado óleo de imersão.
- Limpar o microscópio com uma gaze ou algodão embebidos com uma solução de limpeza específica, secando posteriormente com um algodão seco.
- Posicionar a objetiva de menor aumento, 4x, para observação movendo o revolver de objetivas.
- Cobrir o microscópio com a capa específica.

A contagem diferencial dos leucócitos ocorre com base no tamanho da célula, forma nuclear, padrão de cromatina, aparência e conteúdo citoplasmático (PALMER et al., 2015)

Uma sistematização técnica ao examinar o material torna-se necessária para minimizar erros e extrair dele o maior número possível de conclusões. A memorização das características citológicas importantes é uma das formas de realizar a leitura com excelência, assegurando um exame completo da distensão sanguínea, certificando-se de que pontos importantes foram observados (COMAR; MALVEZZI; PASQUINI, 2017).

## 11 CONCLUSÃO

Neste trabalho foi realizada a elaboração de um atlas didático de hematologia, através da descrição do material de apoio de medula óssea e sangue periférico, utilizado nas aulas práticas de Hematologia Clínica da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). É um material com imagens de autoria própria das células da medula óssea e sangue periférico mediante descrição de suas respectivas características.

Com este trabalho podemos concluir que as células presentes na medula óssea e sangue periférico possuem características morfológicas próprias fisiologicamente, assim como há diversas alterações quantitativas e qualitativas de leucócitos, eritrócitos e plaquetas que necessitam de um profissional qualificado e capacitado para exercer a função, evitando possíveis erros que possam comprometer a saúde do paciente. Para isso é necessário que esse profissional tenha ou tenha tido acesso a um material didático descritivo sobre células sanguíneas que o auxilie na sua formação e execução do trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ARBER, D. A. *et al.* The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. **Blood**, New York, v.127, n.20, p. 2391-2405, maio. 2016. Disponível em: <http://www.bloodjournal.org/content/bloodjournal/127/20/2391.full.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.
- BAIN, Bárbara J. **Células Sangüíneas: Um Guia Prático**. 4. ed. Porto Alegre: Artmed, 2007. 488 p.
- BARMINKO, Jeffrey.; REINHOLT, Brad; BARON, Margaret H.. Development and differentiation of the erythroid lineage in mammals. **Developmental And Comparative Immunology**, New York, p.1-49, dez. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4775370/>. Acesso em: 05 set. 2019.
- BENÍCIO, Mariana T. L.; REGO, Eduardo M. Leucemia Mieloide Aguda no Adulto. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.343-350.
- BEZERRA, Lucas S., SANTOS-VELOSO, Marcelo A. O., ANTUNES, Adriana A. Fase acelerada da síndrome de Chediak-Higashi: revisão de literatura. **Revista de Medicina**, Recife, v.98, n.3, p.222-225, maio. 2019. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br/revistadc/article/view/142243>. Acesso em: 07 fev. 2020.
- BHAN, **Bhavna D.**; GOEL, Garima; JAIN, Rubal; KAPOOR, Neelkamal; KHURANA, Uijawal. Mucopolysaccharidosis: A case report highlighting hematological aspects of the disease. **Journal of Laboratory Physicians**. India, p. 97-99. jan. 2018. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6437814/?report=classic>. Acesso em: 6 fev. 2020.
- BOLLMANN, Patricia W., GIGLIO, Auro. Leucemia mieloide crônica: passado, presente, futuro. **Einstein**, São Paulo, v. 9, n. 2, p. 236-243, maio 2011. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/eins/v9n2/pt\\_1679-4508-eins-9-2-0236.pdf](http://www.scielo.br/pdf/eins/v9n2/pt_1679-4508-eins-9-2-0236.pdf). Acesso em: 16 mar. 2020.
- BORTOLHEIRO, Teresa C.; CHIATTONE, Carlos S. Leucemia Mielóide Crônica: história natural e classificação. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, p.3-7, mar. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v30s1/a03v30s1.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.
- BOROVNIK, Lior et al. Pelger–Huet Anomaly and a Mild Skeletal Phenotype Secondary to Mutations in LBR. **American Journal Of Medical Genetics**. Wisconsin, v.161, n.8, p. 2066-2073. abr. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>. Acesso em: 30 mar. 2020.



CALADO, Rodrigo T.; FALCÃO, Roberto P. Heterogeneidade das Células do Sangue. Órgãos Hematopoéticos e Linfopoéticos In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.3-10.

CALDERAN, Patricia. H. O. *et. al.* Estudo da anomalia de Pelger-Huët em núcleo familiar. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**. v.30, n.1, p.61-69, 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v30n1/a18v30n1.pdf>. Acesso em: 28 set. 2019.

CAMPREGHER, Paulo V.; MATTOS, Vinicius R. P.; SALVINO, Marco A.; SANTOS, Fabio P. S.; HAMERSCHLAK, Nelson. Tratamento bem-sucedido de leucemia mieloide aguda recorrente após transplante com duplicação interna em tandem FLT3 usando combinação de indução por quimioterapia, infusão de linfócitos de doador, soferanib e azacitidina. Relato de três casos. **Einstein**, São Paulo, v. 3, n. 15, p.355-358, jan. 2017. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/eins/v15n3/pt\\_1679-4508-eins-S1679-45082017RC3784.pdf](http://www.scielo.br/pdf/eins/v15n3/pt_1679-4508-eins-S1679-45082017RC3784.pdf). Acesso em: 17 mar. 2020.

CHAUFFAILLE, Maria de L., YAMAMOTO, Mihoko. Classificação das Leucemias Agudas. Citologia, Citoquímica, Imunofenotipagem, Citogenética e Genética Molecular. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.335-342.

COMAR, Samuel R.; MALVEZZI, Mariester.; PASQUINI, Ricardo. Evaluation of criteria of manual blood smear review following automated complete blood counts in a large university hospital. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Curitiba, p.306-317, jun. 2017. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v39n4/1516-8484-rbhh-39-04-0306.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.

COSTA, Vivaldo Gomes da; MORELI, Marcos Lázaro. Principais parâmetros biológicos avaliados em erros na fase pré-analítica de laboratórios clínicos: revisão sistemática. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. São Paulo, p. 163-168. jun. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v48n3/a03v48n3.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2020.

DORFMAN, Luiza E. et al. The role of cytogenetics and molecular biology in the diagnosis, treatment and monitoring of patients with chronic myeloid leukemia. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. Rio Grande do Sul, p. 83-91. abr. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v54n2/1676-2444-jbpml-54-02-0083.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2020.

FAILACE, Renato; FERNANDES, Flavo. **Hemograma: Manual de interpretação**. 6 ed. Porto Alegre: Artmed, 2015. 463p.

FALCÃO, Roberto P. Leucemia Linfocítica Crônica e Linfocitose B Monoclonal. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.451-458.

FLEURY. **Manual de Exames**. São Paulo: Laboratório Fleury. 1999. 567p.

FUNKE, Vaneuza A. M.; PASQUINI, Ricardo. Leucemia Mieloide Crônica. Variantes da Leucemia Mieloide Crônica In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.419-429.

GIL, Antonio Carlos. **COMO ELABORAR PROJETOS DE PESQUISA**. 6 ed. São Paulo: Atlas, 2017. 173p.

GROARKE, Emma M.; YOUNG, Neal S.. Aging and Hematopoiesis. **Clinics In Geriatric Medicine**, Bethesda, v. 3, n. 35, p.285-293, maio. 2019. Disponível em: [https://www.geriatric.theclinics.com/article/S0749-0690\(19\)30024-2/pdf](https://www.geriatric.theclinics.com/article/S0749-0690(19)30024-2/pdf). Acesso em: 05 set. 2019.

GUALANDRO, Sandra F. M. Análise do Exame Hematológico. Alterações dos Eritrócitos. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.833-840.

HAMERSCHLAK, Nelson. Leukemia: genetics and prognostic factors. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 4, p.52-57, maio. 2008. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jped/v84n4s0/v84n4s0a08.pdf>. Acesso em: 15 set. 2019.

HELMAN, Ricardo et al. Leucemia mieloide aguda: atualidade brasileira de diagnóstico e tratamento. **Einstein**, São Paulo, v. 2, n. 9, p.179-183, abr. 2011. Disponível em: [https://journal.einstein.br/wp-content/uploads/articles\\_xml/1679-4508-eins-9-2-0179/1679-4508-eins-9-2-0179-pt.x26000.pdf](https://journal.einstein.br/wp-content/uploads/articles_xml/1679-4508-eins-9-2-0179/1679-4508-eins-9-2-0179-pt.x26000.pdf). Acesso em: 17 mar. 2020.

HUSSEIN, Brwa A.; GOMEZ, Keith; KADIR, Rezan A. May–Hegglin anomaly and pregnancy: a systematic review. **Blood Coagulation and Fibrinolysis**, Londres, p.554-561, jan. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23811802>. Acesso em: 07 fev. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). **Leucemia**. 2020. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer/leucemia>. Acesso em: 16 mar. 2020.

INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (Brasil). Leucemia mielóide crônica. **Revista Brasileira de Cancerologia**. n. 49, p.5-8. 2003. Disponível em: [http://www1.inca.gov.br/rbc/n\\_49/v01/pdf/conduas.pdf](http://www1.inca.gov.br/rbc/n_49/v01/pdf/conduas.pdf). Acesso em: 21 set. 2019.

JUNQUEIRA, Luiz C.; CARNEIRO, José. **Histologia básica: Texto & atlas**. 12.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013. 556 p.

JUSTINO, Marinice Natal. **Pesquisa e recursos didáticos na formação e prática docente**. Curitiba: Ibpex, 2011.

KAWAHARA, R.; SHIOZAWA, Y. Hematopoiesis. **Biomedical Sciences**, Omaha, Ann Arbor, p. 1-5, mar. 2015. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383050546>. Acesso em: 19 ago. 2019.

KENT, David G.; DYKSTRA, Brad J.; EAVES, Connie J. Isolation and Assessment of Single Long-Term Reconstituting Hematopoietic Stem Cells from Adult Mouse Bone Marrow. **Current Protocols in Stem Cell Biology**. p.1-24, Aug 2016. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27532815>. Acesso em: 31 ago. 2019.

LAMEGO, Rosana M.; CLEMENTINO, Nelma C. D.; COSTA, Ângela L. B.; OLIVEIRA, Marçal J. M.; BITTENCOURT, Henrique. Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do Hospital das Clínicas da UFMG. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Minas Gerais, v. 2, n. 32, p.108-115, ago. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v32n2/aop40010.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2020

LANE, Steven.W.; GILLILAND, D. G. Leukemia stem cells. **Seminars in Cancer Biology**, Philadelphia, v. 20, n.2, p. 71-76, 2010. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20026405>. Acesso em: 16 mar. 2020.

LEE, G Richard. *et al.* **Wintrobe: HEMATOLOGIA CLÍNICA**. 9. ed. São Paulo: Manole, 1998. 1 v.

LIMA, Mariana C. de. Acute Myeloid Leukemia: analysis of epidemiological profile and survival rate. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, p. 283-289. ago. 2016. Disponível em: [http://www.scielo.br/pdf/jped/v92n3/pt\\_0021-7557-jped-92-03-0283.pdf](http://www.scielo.br/pdf/jped/v92n3/pt_0021-7557-jped-92-03-0283.pdf). Acesso em: 17 mar. 2020.

LORENZI, Therezinha F. **Manual de HEMATOLOGIA: Propedêutica e Clínica**. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. 710 p.

LOURENÇO; Dayse Maria. Trombocitopenias. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.597-603.

LOVATO, Pedro E. Leucemia mieloide aguda en adultos: Estudio comparativo sobre tratamiento y pronóstico por grupos etarios. **Revista Médica Herediana**, Peru, v. 1, n. 26, p.160-166, jun. 2015. Disponível em: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rmh/v26n3/a04v26n3.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2020.

MARQUES, Ester A. L. V. **Aplicação de marcadores imunofenotípicos por citometria de fluxo na detecção de doença residual mínima e determinação do prognóstico em crianças com Leucemia Linfóide Aguda B**. 2017. 109 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biociências e Biotecnologia em Saúde, Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz, Recife, 2017. Disponível em: <https://www.arca.fiocruz.br/bitstream/icict/23096/2/2017marques-ealv.pdf>. Acesso em: 17 mar. 2020.

MELO, Márcio. **Leucemias e Linfomas: Atlas do sangue periférico**. São Paulo: Livraria Média Paulista Editora, 2008. 166 p.

MELO, Márcio; SILVEIRA, Cristina M. da. **LABORATÓRIO DE HEMATOLOGIA: TEORIAS, TÉCNICAS E ATLAS**. 1 ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2015. 258 p.

MENDES, Aline; CARTAXO, Constantino G. B. Síndrome de Chediak-Higashi em fase acelerada: um relato de caso. **Arquivos de Asma, Alergia e Imunologia**, João Pessoa, v.2, n.2, p.275-278, mar. 2018. Disponível em: [http://aaai-asbai.org.br/detalhe\\_artigo.asp?id=878](http://aaai-asbai.org.br/detalhe_artigo.asp?id=878). Acesso em: 07 fev. 2020.

MESQUITA JÚNIOR, Danilo. *et al.* Sistema Imunitário – Parte II Fundamentos da resposta imunológica mediada por linfócitos T e B. **Revista Brasileira de Reumatologia**, São Paulo, p.552-580, set. 2010. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbr/v50n5/v50n5a08.pdf>. Acesso em: 07 set. 2019.

MONROY, Rafael Hurtado et al. Mesilato de imatinib como tratamento de primera línea en pacientes con leucemia mieloide crónica Filadelfia + (LMC-Ph+) en fase acelerada (FA), en comparación con fase crónica (FC). **Acta Médica Grupo Ángeles**, Cidade do México, v. 16, n. 3, p.204-208, jul. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.org.mx/pdf/amga/v16n3/1870-7203-amga-16-03-204.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2020.

NAOUM, Pualo C. Interferentes eritrocitários e ambientais na anemia falciforme. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v.22, n.1, p.5-22, 2000. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v22n1/13434.pdf>. Acesso em: 11 mar. 2020.

NAOUM, Paulo C. Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, p.15-23, jun. 2001. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v23n2/13304.pdf>. Acesso em: 31 ago. 2019.

NAOUM, Paulo C., NAOUM, Flávio A. **HEMATOLOGIA LABORATORIAL ERITRÓCITOS**. São José do Rio Preto, p. 102, 2008. Disponível em: [http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/livros/aceso\\_gratuito/Livro\\_completo%20-%20Hematologia%20Eritrocitos.pdf](http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/livros/aceso_gratuito/Livro_completo%20-%20Hematologia%20Eritrocitos.pdf). Acesso em: 31 ago. 2019

NG, Ashley P; ALEXANDER, Warren S. Haematopoietic stem cells: past, present and future. **Nature**, Parkville, v. 3, p.1-4, fev. 2017. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/cddiscovery20172>. Acesso em: 24 mar. 2020.

NIERO-MELO, Lígia; RESENDE, Lucilene S. R.; GAIOLLA, Rafael D. Leucocitoses e Leucopenias. Alterações Sanguíneas em Doenças não hematológicas. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.841-848.

OLIVERA, Éveny C. L. *et al.* Alterações hematológicas em pacientes com dengue. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**. v.42. n.6. p.682-685, dez. 2009. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rsbmt/v42n6/14.pdf>. Acesso em: 28 set. 2019.

ONCIU, M. Acute lymphoblastic leukemia. **Hematologia e Oncologia Clínica**, North. Am., Philadelphia, v.23, n.4, p. 655-674, 2009. Disponível em: <https://ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19577163>. Acesso em: 21 set. 2019.

PALMER, Lynn et al. ICSH recommendations for the standardization of nomenclature and grading of peripheral blood cell morphological features. **International Journal Of Laboratory Hematology**. Nova Zelândia, p. 287-303. fev. 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25728865>. Acesso em: 25 mar. 2020.

PASQUINI, Ricardo; BITTENCOURT, Marco A.; MEDEIROS, Larissa A. Anemia Aplástica. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.95-102.

PELLOSO, L.A. *et al.* Cariótipo em leucemia mieloide aguda: importância e tipo de alteração em 30 pacientes ao diagnóstico. **Revista Associação Médica Brasileira**, São Paulo, v. 49, p. 150-455, 2003. Disponível em <http://www.scielo.br/pdf/ramb/v49n2/16208.pdf>. Acesso em: 21 set. 2019.

RIEGER, Michael A.; SCHROEDER, Tim. Hematopoiesis. **Cold Spring Harbor Perspectives In Biology**, Frankfurt, p.1-17, abr. 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3504436/>. Acesso em: 05 set. 2019.

RODRIGUES, Celso Arrais. *et al.* Diagnosis and treatment of chronic lymphocytic leukemia: recommendations from the Brazilian Group of Chronic Lymphocytic Leukemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 4, n. 38, p.346-357, ago. 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v38n4/1516-8484-rbhh-38-04-0346.pdf>. Acesso em: 18 mar. 2020.

ROSENFELD, Ricardo. Hemograma. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. São Paulo, p. 244-245. ago. 2012. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v48n4/v48n4a01.pdf>. Acesso em: 24 mar. 2020.

SALGADO, Danielle N. S. *et al.* Importância da presença de granulações tóxicas para o diagnóstico hematológico de septicemia. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Belém, v.29, n.4, p.737-377, 2007. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v29n4/a10v29n4.pdf>. Acesso em: 28 set. 2019.

SILVA, Grazielle C. *et al.* Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio Grande do Sul, v. 42, n. 2, p.77-84, 20 abr. 2006. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v42n2/a04v42n2.pdf>. Acesso em: 26 out. 2019.

SOUZA, Anna Karla N. *et al.* Review of peripheral blood smear slides: assessment of the compliance with criteria used by analysts in a laboratory of a public hospital in Bahia, Brazil. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Bahia, v. 4, n. 54, p.220-226, 20 ago. 2018. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/jbpml/v54n4/1676-2444-jbpml-54-04-0220.pdf>. Acesso em: 23 mar. 2020.

WERTHEIM, G; A BAGG. Normal Hematopoiesis. **Pathobiology Of Human Disease: A Dynamic Encyclopedia Of Disease Mechanisms**, Philadelphia, p. 1628-1643, ago. 2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780123864567041010>. Acesso em: 19 ago. 2019.

ZAGO, Marco A. Granulócitos. Produção, Dinâmica e Função. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.23-32.

ZAGO, Marco A. Monócitos e Macrófagos. Sistema de Fagócitos Mononucleares. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.33-35.

ZAGO, Marco A.; CALADO, Rodrigo T. Eritropoese e Eritropoetina. Produção e Destruição de Hemácias. In: ZAGO, Marco A.; FALCÃO, Roberto P.; PASQUINI, Ricardo. **TRATADO DE HEMATOLOGIA**. 1 ed. São Paulo: Atheneu, 2013. p.15-22.

## APÊNDICE A – Contagem global de eritrócitos na câmara de Neubauer

Princípio: O sangue é diluído em um líquido que preserva os elementos figurados. O número de partículas contadas microscopicamente em determinado volume, é multiplicado por um fator, obtendo-se o número de eritrócitos por milímetros cúbicos ( $\text{mm}^3$ ) de sangue.

Técnica: Método hemocitômetro.

- Diluir o sangue após homogeneização em 1/200 com líquido de Dacie em tubo de hemólise (0,02 mL de sangue para 4,0 mL de diluente) ou em pipeta de Thoma (preencher até a marca 0,5 com sangue total, limpa-se a ponta da pipeta e completa com o diluidor até a marca 101).
- Homogeneizar.
- Com pipeta automática ou pipeta de Thoma após desprezar as gotas iniciais preencher o retículo central da câmara de Neubauer, evitando excesso de líquido e formação de bolhas de ar.
- Levar a câmara de Neubauer ao microscópio para efetuar a contagem com o aumento de 400 vezes usando o retículo central da câmara.
- Os elementos são contados nos conjuntos de quadrados 1, 2, 3, 4 e 5 do retículo central da câmara de Neubauer, seleciona-se dois lados sobre os quais se conta e dois opostos sobre os quais não se conta (Método do “L”). Cada conjunto constitui-se de 16 quadrados, com  $1/400 \text{ mm}^2$  de área cada um.

Após a diluição (seja por pipeta de Thoma ou tubo de diluição) deverão sempre ser homogeneizados antes do preenchimento da câmara. Além disso, não deverá haver demora na contagem, evitando-se assim a secagem do líquido contido na câmara. Quando necessário a câmara preenchida deverá ser mantida em câmara úmida.

O princípio geral da contagem para qualquer tipo de câmara diz: “o número de partículas por  $\text{mm}^3$  está nas razões inversas da diluição e do volume onde foi contado e na razão direta dos elementos encontrados nesse volume”.

Adendo:

Líquido diluidor: Líquido de DACIE

Citrato de sódio ..... 31,3 g

Formol a 40% ..... 10,0 mL

H<sub>2</sub>O destilada q.s.p. ....1.000,0 mL

Cálculos:

Área do retículo central = 1 mm<sup>2</sup>

Área usado para contagem 1/5 mm<sup>2</sup> ou 0,2 mm<sup>2</sup>

Como o retículo é dividido em 25 quadrados e apenas 5 destes são contados, ou seja, usamos apenas 1/5 da área de 1mm<sup>2</sup>.

Altura entre a câmara e a lamínula = 0,1 mm

Diluição do sangue = 1/200 (20 µl de sangue + 4 mL de diluente)

Volume de contagem = 0,02 mm<sup>3</sup>

Fator volume (FV) = 1/0,02 ou 50

Fator diluição (FD) = 1/200

Assim temos:

Número de Hemácias por mm<sup>3</sup> = y x FV x FD

Número de Hemácias por mm<sup>3</sup> = y x 50 x 200

Número de Hemácias por mm<sup>3</sup> = y x 10.000

y = número de hemácias encontradas em 1/5 da área do retículo central da câmara de Neubauer.



## APÊNDICE B – Determinação do hematócrito ou microhematócrito

Definição: É o volume ocupado pelas hemácias em relação ao sangue total.

Princípio: O sangue total é centrifugado; os eritrócitos são compactados na parte inferior do tubo e o volume por eles ocupado é expresso percentualmente em relação ao sangue total.

Técnica: Microhematócrito

- Encher tubo capilar (1,2 x 75 mm) com sangue total por capilaridade, até cerca de 2/3 de seu comprimento e limpar a parede do capilar.
- Vedar a extremidade vazia na chama ou massa de modelar (tampão especial).
- Colocar o tubo capilar na centrífuga de microhematócrito com a parte vedada para fora.
- Tampar convenientemente a centrífuga de microhematócrito, colocando-a para funcionar durante 5 minutos a 12.000 rpm.
- Após este tempo, retirar o capilar e ler em tabela própria.

Leitura: Limitam-se as marcas de 0 a 100, o menisco inferior deve coincidir com a linha 100 e a leitura na escala é feita onde ocorre a separação entre o plasma e as hemácias sedimentadas, desprezando-se a fina camada de leucócitos. O resultado é expresso em porcentagem de eritrócitos em relação ao sangue total.

Valores de referência: Mulheres (37 a 45%) e Homens (40 a 50%)

Técnica: Wintrobe

O sangue é homogeneizado e colocado em um tubo especial (tubo de Wintrobe), dividido em cem milímetros lineares com duas escalas de leitura: uma ascendente e outra descendente.

- Preencher o tubo até a marca de 100 da escala ascendente com uma pipeta do tipo Pasteur, acertando-se o menisco.
- Centrifugar o tubo a 3.000 rpm por 30 minutos.
- Ler na escala ascendente onde se diferencia o limite do volume ocupado pelos eritrócitos.

## APÊNDICE C – Hemoglobinometria

Definição: É a determinação da concentração do pigmento hemoglobínico no sangue total.

Princípio: O resultado é expresso em g % de sangue. Existem vários métodos de dosagem, devendo-se preferir os colorimétricos. Nos diferentes métodos de dosagem, a hemoglobina é transformada em um composto estável (oxihemoglobina, cianometahemoglobina, hematina ácida e etc). Os aparelhos fotocolorímetro e espectrofotômetro, devem ser calibrados.

Exemplo: Fundamento: O ferrocianeto transforma o ferro da hemoglobina do estado ferroso (bivalente) ao estado férrico (trivalente), formando metahemoglobina que combina com o cianeto de potássio para produzir um pigmento estável, a cianometahemoglobina, que é lida em 540 mm ou em filtro verde.

Técnica:

- Pipetar 5 mL de líquido diluidor em 3 tubos de ensaio: branco (B); padrão (P) e teste (T).
- Pipetar 0,02 mL do sangue do paciente (homogeneizado) no tubo T. No tubo P pipetar 0,02 mL do padrão de hemoglobina.
- Agitar.
- Esperar 10 minutos.
- Realizar a leitura no espectrofotômetro em 540 mm .

Cálculo:

$$\text{Hb (g/dL)} = \frac{\text{Concetração do Padrão} \times \text{Densidade ótica do teste}}{\text{Densidade ótica do Padrão}}$$

## APÊNDICE D – Índices hematimétricos

Das relações estabelecidas entre os valores hematimétricos fundamentais (contagem de hemácias, hematócrito e hemoglobina expressa em g %) obtemos os índices hematimétricos, que expressarão as medidas referentes a um eritrócito, em média.

**a) VCM:** Volume Corpuscular Médio ou Volume Globular Médio, representa o volume de um eritrócito. O resultado é expresso em fenolitro (fl) ou  $\mu^3$

$$\text{VCM (fl)} = \frac{\text{Hematócrito} \times 10}{n^{\circ} \text{ de eritrócitos em milhões}}$$

**b) HCM:** Hemoglobina Corpuscular Média, representa a quantidade (peso) de hemoglobina por eritrócito. O resultado é expresso em pictogramas (pg)

$$\text{HCM (pg)} = \frac{\text{Hemoglobina} \times 10}{n^{\circ} \text{ de eritrócitos em milhões}}$$

**c) CHCM:** Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média, representa a concentração média de Hb no eritrócito. O resultado é expresso em porcentagem (%).

$$\text{CHCM (\%)} = \frac{\text{Hemoglobina} \times 100}{\text{Hematócrito}}$$

**d) RDW:** Red Cell distribution width, indica a variação da distribuição do tamanho dos eritrócitos. É um índice de anisocitose, representa o desvio padrão e/ou coeficiente de variação do VCM. O resultado é expresso em porcentagem (%).

## APÊNDICE E – Contagem total dos leucócitos em câmara de Neubauer

Princípio: O sangue é diluído em um líquido que lisa praticamente todos os eritrócitos, preservando as células nucleadas (por exemplo: leucócitos e eritroblastos). O número de partículas contadas microscopicamente em determinado volume, é multiplicado por um fator, obtendo-se o número de leucócitos por milímetros cúbicos ( $\text{mm}^3$ ) de sangue.

Técnica: Hemocitômetro

- Diluir o sangue após homogeneização em 1/20 com líquido de Türk em tubo de hemólise (0,02 mL de sangue para 0,4 mL de diluente de Türk) ou com pipeta de Thoma (preencher com sangue até a marca 0,5, limpar a ponta da pipeta, completar o preenchimento até a marca 11 com o líquido diluente apropriado).
- Homogeneizar.
- Esperar 5 minutos.
- Com pipeta automática preencher os retículos da câmara de Neubauer, com o cuidado de não haver falta ou excesso de líquido ou presença de bolhas.
- Esperar 2 minutos.
- Ler no microscópio em aumento de 100x e 400x, este último caso haja necessidade. Os elementos são contados nos conjuntos de quadrados A, B, C e D (quatro retículos laterais) da câmara de Neubauer. Seleciona-se dois lados sobre os quais se conta e dois opostos sobre os quais não se conta (Método do “L”). Cada conjunto é constituído por 16 quadrados de  $1/16 \text{ mm}^2$  de área, com área total é de  $64/16 \text{ mm}^2$ . A altura entre o retículo e aparte inferior da lamínula é de  $1/10$  de mm. O volume será a  $64/16 \text{ mm}^2 \times 1/10 \text{ mm} = 64/160 \text{ mm}^3$ .

Após a diluição (seja por pipeta de Thoma ou tubo de diluição) deverão sempre ser homogeneizados antes do preenchimento da câmara. Além disso, não deverá haver demora na contagem, evitando-se assim a secagem do líquido contido na câmara. Quando necessário a câmara preenchida deverá ser mantida em câmara úmida.

O princípio geral da contagem para qualquer tipo de câmara diz: “o número de partículas por  $\text{mm}^3$  está nas razões inversas da diluição e do volume onde foi contado e na razão direta dos elementos encontrados nesse volume.

Adendo:

1. Líquido diluidor: líquido de Türk

H<sub>2</sub>O destilada .....96 mL

Ácido acético Glacial .....4 mL

Giemsa .....2 gotas

2. Líquido diluidor: líquido de Türk

Ácido acético glacial ..... 1 mL

Azul de metileno 1% ..... 1 mL

H<sub>2</sub>O destilada q.s.p. .... 100 ml

Cálculos:

Área do retículo lateral =  $1 \text{ mm}^2$

Área usada para contagem =  $1 \text{ mm}^2 \times 4 = 4 \text{ mm}^2$

Altura entre a câmara e lamínula = 0,1 mm.

Diluição do sangue 1/20.

Volume de contagem =  $0,4 \text{ mm}^3$

Fator volume (FV) =  $1/0,4$  ou 2,5

Fator diluição (FD) = 1/20

Número de leucócitos/  $\text{mm}^3 = y \times \text{FV} \times \text{FD}$

Número de leucócitos/  $\text{mm}^3 = y \times 2,5 \times 20$

Número de leucócitos/  $\text{mm}^3 = y \times 50$

$y$  = número de leucócitos encontrados nos quatro retículos laterais da câmara de Neubauer.

## APÊNDICE F – Preparo da distensão sanguínea

Para a confecção da distensão sanguínea é necessário coletar uma amostra de sangue total em tubos com anticoagulante, o ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA). Após homogeneização da amostra de sangue, com o auxílio de uma pipeta automática ou um capilar de vidro, colocar uma pequena gota, cerca de 20 µl, de amostra um ou dois centímetros de distância da extremidade da lâmina de vidro, que deve estar limpa e desengordurada, proceder esta etapa o mais breve possível, em até quatro horas.

Após colocar a amostra na lâmina, posicionar a distensora na frente da gota de amostra a um ângulo de 30° com a face superior da lâmina, recuar a distensora até encostar na gota, permitindo que se difunda por capilaridade de forma uniforme ao longo de toda extremidade posterior da distensora. Deslizar suavemente e uniformemente a distensora para frente, sem atingir a extremidade da lâmina, para que ela carregue a gota da amostra, que se estenderá numa camada delgada e uniforme. Secar imediatamente a distensão, agitando a lâmina no ar ou com ventilação e proceder a identificação do material.

Para melhor visualização da distensão sanguínea é necessário proceder a coloração do material. A técnica de coloração utilizada é a coloração de Giemsa, corante derivado do Romanowski. Após a secagem da distensão, recobrir a lâmina com 20 gotas da solução diluída de Giemsa, preparada no momento da coloração, que consiste em uma gota de Giemsa para cada mililitro de água destilada. Esperar de 12 a 15 minutos. Desprezar o corante e lavar a lâmina em água corrente. Deixar secar em posição vertical.

## APÊNDICE G – Contagem diferencial dos leucócitos

A análise microscópica das distensões sanguíneas para contagem diferencial de leucócitos começa pelo uso de objetivas 10x e 40x, que permite obter uma rápida visão de conjunto, no que se refere à quantidade e qualidade do material celular. É aconselhável utilizar uma lamínula fina com o objetivo de reduzir a dispersão dos raios luminosos na superfície da distensão.

A contagem diferencial dos leucócitos é realizada com a objetiva de 100x sob imersão em óleo. Para tanto percorremos o terço final da distensão sanguínea, desprezando os seus prolongamentos finais, visto que neles costumam acumular-se artificialmente os elementos da série branca parcialmente lesados, prejudicando os resultados da contagem. Lembre-se que a contagem ideal deve proceder 50 células no centro (probabilidade de encontrar linfócitos) e 25 células em ambas as margens (maior probabilidade de encontrar neutrófilos, eosinófilos e monócitos) devido a distribuição de acordo com o tamanho celular.

Realiza-se a diferenciação dos leucócitos em neutrófilo segmentado, neutrófilo bastonete, eosinófilo, basófilo, linfócito e monócito, avaliando:

- Tamanho da célula
- Relação núcleo/citoplasma
- Aspecto do núcleo:
  - Cromatina (frouxa condensada, homogênea, heterogênea)
  - Nucléolo evidente
  - Mononucleares, binucleares ou multinucleares
- Citoplasma:
  - Basófilo (azul) ou acidófilo (rosa)
  - Granulações (eosinófilo, basófilo ou neutrófilo)

Durante a diferenciação dos leucócitos é importante analisar a frequência de leucócito no campo comparando com a contagem total de leucócitos, a morfologia dos leucócitos, o resultado do hematócrito com morfologia das hemácias, número e morfologia de plaquetas.

Existe a forma leucocitária absoluta e a relativa, onde:

**FORMA LEUCOCITÁRIA RELATIVA (FLR):** É a porcentagem de cada célula nas 100 células contadas. Consiste em reconhecer microscopicamente e contar os diferentes tipos de





## APÊNDICE H – Leucocitose e leucopenia

Leucocitose e leucopenia são termos empregados para quando há aumento e redução no número de leucócitos, respectivamente, ou seja, são alterações quantitativas. Onde na leucocitose o número de leucócitos excede  $11000/\text{mm}^3$  e na leucopenia é inferior a  $4500/\text{mm}^3$ . Além da leucocitose e leucopenia, há a reação leucemoide, onde o número de leucócitos é superior a  $30000/\text{mm}^3$ .

Quadro 2: Valores de referência absoluto e relativo de leucócitos

	<b>Absoluto (<math>\text{mm}^3</math>)</b>	<b>Relativo (%)</b>
Leucócitos	5000 – 8000	
Mielócitos	0	0
Metamielócitos	0 – 80	0 – 1
Bastão	150 – 400	3 – 5
Segmentados	2800 – 5200	55 – 65
Eosinófilos	60 – 320	2 – 4
Basófilos	0 – 80	0 – 1
Linfócitos	1300 – 3400	20 – 35
Monócitos	160 -640	4 – 8

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020

As alterações quantitativas de leucócitos englobam neutrofilia, eosinofilia, basofilia, monocitose e linfocitose, aumento de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monócitos e linfócitos, respectivamente. Também há neutropenia, eosinopenia, monocitopenia e linfopenia, diminuição de neutrófilos, eosinófilos, monócitos e linfócitos, respectivamente. O termo basopenia não é comumente utilizado, visto que em muitas análises de distensão sanguínea não é possível evidenciar a presença do basófilo, portanto torna-se difícil dizer que está com uma contagem diminuída.

Quadro 3: Causas de alterações quantitativas de leucócitos

<b>Alteração</b>	<b>Causa</b>
Leucocitose	Infecções bacterianas e virais Leucemias
Leucopenia	Aplasia medular Infecções por bactérias GRAM negativas
Neutrofilia	Infecções bacterianas Inflamação Doenças mieloproliferativas Uso de corticoide Estresse
Neutropenia	Aplasia medular Deficiência de vitamina B12 e ácido fólico Hipersplenismo
Linfocitose	Doenças linfoproliferativas Infecções virais
Linfopenia	Uso de corticoides Inflamação
Eosinofilia	Doenças alérgicas Parasitoses Leucemias
Eosinopenia	Estresse Uso de corticoide
Basofilia	Leucemias
Monocitose	Doenças mieloproliferativas Infecções bacterianas Inflamação
Monocitopenia	Uso de corticoide Leucemia de células pilosas

Fonte: Elaborado pelo autor, 2020