

**CENTRO UNIVERSITÁRIO SÃO CAMILO**

**Curso de Biomedicina**

**Camilla Martin Amaral**

**LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA EM PACIENTES INFANTO-JUVENIS**

**São Paulo**

**2018**

**Camilla Martin Amaral**

**LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA EM PACIENTES INFANTO-JUVENIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Biomedicina do Centro Universitário São Camilo, orientado pelo Prof. Dr. Michelangelo Juvenale, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Biomedicina.

**São Paulo**

**2018**

**Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Padre Inocente Radrizzani**

Amaral, Camilla Martin

Leucemia linfoide aguda em pacientes infanto-juvenis / Camilla Martin  
Amaral. -- São Paulo: Centro Universitário São Camilo, 2018.  
75 p.

Orientação de Michelangelo Juvenale

Trabalho de Conclusão de Curso de Biomedicina (Graduação), Centro  
Universitário São Camilo, 2018.

1. Ácido fólico – metabolismo 2. Citometria de fluxo 3. Hibridização in  
situ fluorescente 4. Leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras  
5. Trombocitopenia I. Juvenale, Michelangelo II. Centro Universitário São  
Camilo III. Título

CDD: 616.994

**Camilla Martin Amaral**

**REVISÃO SOBRE LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA EM PACIENTES  
INFANTO-JUVENIS**

São Paulo, 31 de outubro de 2018

---

Professor Orientador – Prof. Dr. Michelangelo Juvenale

---

Professor Examinador – Prof. Me. Edson Umeda

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais pelo amor, apoio, incentivo e por sempre estarem presentes nos erros e acertos da minha vida.

Ao meu irmão pela paciência, amor e carinho nos momentos tensos e felizes.

À minha avó Ivone Poles que me indicou o curso de Biomedicina, que hoje eu tanto amo e me identifico, e que sempre esteve presente em minha vida e formação.

Ao meu padrinho Giovanni Godina Martin que me deu meu primeiro microscópio de brinquedo, o qual me fez pegar gosto pela área de biológicas.

À minha avó Giovanna Godina Martin e tia Giordana Godina por sempre me apoiarem e estarem presentes.

Às minhas amigas Giovanna Bonini, Larissa Akie Natsumeda, Laura Maria Freitas, Letícia Lobato Souza e Millena Mouro Miranda pelo auxílio em algumas partes do TCC e por estarem presentes na minha vida.

Ao professor Michelangelo Juvenale pelo apoio, orientação e pelas incríveis aulas que me fizeram amar ainda mais a Biomedicina.

AMARAL, Camilla M. **Leucemia Linfóide Aguda em pacientes Infanto-Juvenis**. 2018. 74 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Centro Universitário São Camilo. São Paulo. 2018.

Leucemia linfóide aguda é um dos cânceres mais comuns na infância e no sexo masculino, porém de causa desconhecida. Esta revisão teve como objetivo caracterizá-la morfológicamente, explicando testes laboratoriais e exames realizados para a detecção da mesma; relacionar sinais e sintomas em comum com outras doenças, como artrite reumatóide juvenil e leishmaniose visceral, e a possibilidade de exercer diagnósticos diferenciais; elucidar o tratamento da doença, prognóstico dos pacientes e novas tecnologias. Os primeiros exames realizados para diagnosticar esta doença são: hemograma, mielograma e imunofenotipagem. Sabe-se que condições e polimorfismos genéticos, geralmente relacionados com o metabolismo do ácido fólico, podem predispor a doença. Tais anormalidades genéticas podem ser detectadas por testes como FISH, PCR e citogenética. O tratamento é dividido em algumas fases, porém, além da tradicional quimioterapia, são necessários acompanhamentos de suporte como endocrinologistas e fisioterapeutas para cuidados de eventuais efeitos colaterais ou impactos causados devido ao tempo de hospitalização. A imunoterapia com tisagenlecleucel receptor de antígeno quimérico anti-CD19 é uma nova tecnologia no tratamento de crianças e adultos jovens com leucemia linfóide aguda de células B recidiva ou refratária que obteve altas taxas de remissão em diversos estudos, entretanto, ainda são necessários estudos para que tal tecnologia seja utilizada no Brasil.

**Palavras-chave:** Ácido fólico – metabolismo. Citometria de fluxo. Hibridização in situ fluorescente. Leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras. Trombocitopenia.

AMARAL, Camilla M. **Acute Lymphoblastic Leukemia in children and adolescents**. 2018. 74 f. (Bachelor in Biomedicine) – Centro Universitário São Camilo. São Paulo. 2018.

Acute lymphoid leukemia is one of the most common in childhood and in the male sex, but of unknown cause. This review aimed to characterize it morphologically, explaining laboratorial tests and tests performed to detect it; to relate signs and symptoms in common with other diseases, such as juvenile rheumatoid arthritis and visceral leishmaniasis, and the possibility of differential diagnosis; elucidate the treatment of the disease, prognosis of patients and new technologies. The first tests performed to diagnose this disease are: blood count, myelogram and immunophenotyping. It is known that conditions and genetic polymorphisms, usually related to folic acid metabolism, may predispose the disease. Such genetic abnormalities can be detected by tests such as FISH, PCR and cytogenetics. Treatment is divided into some phases, but in addition to traditional chemotherapy, support follow-ups such as endocrinologists and physiotherapists are needed to care for possible side effects or impacts caused due to hospitalization time. Immunotherapy with anti-CD19 chimeric antigen receptor (tisagenlecleucel) is a new technology in the treatment of children and young adults with relapsed or refractory B-cell acute lymphoid leukemia who obtained high remission rates in several studies, however studies are still needed for this technology to be used in Brazil.

**Keywords:** Ácido fólico – metabolismo. Citometria de fluxo. Hibridização in situ fluorescente. Leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras. Trombocitopenia.

## Lista de Figuras

Figura 1 – Subtipos L1, L2 e L3 de Leucemia Linfóide Aguda .....	22
Figura 2 – Linfadenopatia marcante em um menino com LLA .....	25
Figura 3 – Púrpura .....	26
Figura 4 – Edema e eritema testicular em LLA .....	26
Figura 5 – Radiografia pósterio-anterior de tórax de paciente com LLA-B comum e comprometimento ósseo .....	27
Figura 6 – Radiografia pósterio-anterior de tórax de paciente com LLA de células T evidenciando alagamento mediastinal .....	28
Figura 7 – Extensão sanguínea dos subtipos de LLA de acordo com a FAB.....	29
Figura 8 – Aspirado de medula óssea de paciente com LLA .....	30
Figura 9 – Agulha aspirativa de mielograma .....	30
Figura 10 – Padrão imunofenotípico da medula óssea de paciente com LLA pró-B.	32
Figura 11 – Esquema da diferenciação dos linfócitos T e os correspondentes malignos.....	36
Figura 12 – Esquema da diferenciação dos linfócitos B e os correspondentes malignos.....	37
Figura 13 – Dot plot CD45 x SSC com gate R1 nos blastos representado pelas células em vermelho .....	38
Figura 14 – Perfil imunofenotípico de um caso de LLA pré-B (Calla+).....	39
Figura 15 – Perfil imunofenotípico de um caso de LLA pré-B cµ .....	40
Figura 16 – Perfil imunofenotípico de um caso de LLA-T.....	41
Figura 17 – Cariótipo de LLA pré-B com t(1;19) e deleção do braço longo do cromossomo 6.....	42
Figura 18 - Hibridização in situ por fluorescência de criança com LLA .....	44
Figura 19 – Sensibilidade de detecção de células leucêmicas.....	46
Figura 20 – Subgrupos citogenéticos de LLA de acordo com a idade .....	47
Figura 21 – Coloração com ácido periódico de Schiff em caso de LLA .....	48
Figura 22 – Coloração da fosfatase ácida de paciente com LLA de linhagem T.....	49
Figura 23 – Estrutura química do ácido fólico .....	54
Figura 24 – Principais enzimas envolvidas no metabolismo do folato.....	55

Figura 25 – Construção de células T CAR e células T TCR para produção de receptores especiais em sua superfície .....65

## Lista de Quadros

Quadro 1 – Classificação e caracterização morfológica da Leucemia Linfóide Aguda de acordo com French-American-British.....	21
Quadro 2 – Comparação entre a classificação MIC e a classificação FAB da LLA...23	
Quadro 3 – Subdivisões de Leucemia Linfóide Aguda de acordo com a Organização Mundial da Saúde.....	24
Quadro 4 – Principais antígenos de diferenciação utilizados para identificar diferentes tipos celulares durante a hematopoese normal e leucêmica.....	32
Quadro 5 – Classificação imunofenotípica e características imunológicas de LLA por meio de um painel de associações lineares monoclonais.....	34
Quadro 6 – Anomalias genéticas mais frequentes em Leucemia Linfóide Aguda.....	43
Quadro 7 – Alterações genéticas investigadas pela hibridização <i>in situ</i> por fluorescência na Leucemia Linfóide Aguda.....	45
Quadro 8 – Reações citoquímicas para diferenciar Leucemia Linfóide Aguda de Leucemia Mielóide Aguda.....	48
Quadro 9 – Principais exames realizados antes, durante e após o tratamento de LLA.....	50
Quadro 10 – Doenças que necessitam de diagnóstico diferencial de LLA na infância.....	52
Quadro 11 – Grupos de risco do protocolo GBTLI-LLA-93 e seus respectivos critérios imprescindíveis (em rosa) e recomendáveis (em amarelo).....	60
Quadro 12 – Principais fatores prognósticos descritos para Leucemia Linfóide Aguda.....	61
Quadro 13 – Definições do status da LLA no SNC em fluido cerebrospinal.....	62

## Lista de Abreviaturas e Siglas

AcMo	Anticorpos Monoclonais
ALT	Alanina amino transferase
AR	Alto Risco
ARJ	Artrite Reumatóide Juvenil
AST	Aspartato amino transferase
BHMT	Betaína-homocisteína metiltransferase
CALLA	Antígeno comum de LLA
CAR	Receptor de antígeno quimérico
CBF	Fator de ligação do core
CBS	Cistationina $\beta$ sintase
CD	<i>Cluster of Differentiation</i>
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CMV	Citomegalovírus
DHF	Dihidrofolato
DHFR	Dihidrofolato redutase
DHL	Desidrogenase láctica
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
dTMP	Timidina monofosfato
dUMP	Deoxiuridina monofosfato
EBV	Vírus Epstein-Barr
FAB	French American British

FISH	<i>Fluorescence In Situ Hybridization</i>
FITC	Isotiocianato de fluoresceína
FSC	<i>Forward Scatter</i>
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
Hcy	Homocisteína
HIV	<i>Human Immunodeficiency virus</i>
HLA-DR	<i>Human leukocyte antigen</i>
HMG	Hemograma
HTLR	<i>Human T-lymphotropic virus</i>
Ig	Imunoglobulina
IL-2	Interleucina 2
IL-3	Interleucina 3
IL-6	Interleucina 6
LCR	Líquido céfalo-raquidiano
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LV	Leishmaniose Visceral
MHC	<i>Major Histocompatibility Complex</i>
MIC	Classificação Morfológica, Imunológica e Citogenética
MTHFD1	Metilenotetrahidrofolato desidrogenase 1
MTHFR	Metileno tetrahidrofolato redutase
MTR	Metionina sintase
MTRR	Metionina sintase redutase

MTX	Metotrexato
NK	<i>Natural Killer</i>
OMS	Organização Mundial da Saúde
PAS	Ácido Periódico-Schiff
PCR	Reação em Cadeia da Polimerase
Pcyp	Piridina de clorofila
PE	Ficoeritrina
RB	Risco Básico
RBV	Risco Básico Verdadeiro
RFC1	Carreador de folato reduzido 1
SAH	S-adenosilhomocisteína
SAM	S-adenosilmetionina
SHMT	Serina hidroximetiltransferase
SSC	<i>Side Scatter</i>
SNC	Sistema Nervoso Central
SNPs	Polimorfismos de nucleotídeo simples
TCR	Receptor de células T
TCTH	Transplante de células tronco hematopoiéticas
TdT	<i>Deoxinucleotidil transferase terminal</i>
THF	Tetrahydrofolato
TYS	Timidilato sintase
VCM	Volume Corpuscular Médio

## SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	15
2 OBJETIVOS.....	18
3 MATERIAIS E MÉTODOS.....	19
4 DESENVOLVIMENTO.....	20
4.1 Classificação e caracterização.....	20
4.2 Sinais e sintomas.....	24
4.3 Diagnóstico.....	28
4.3.1 Hemograma.....	29
4.3.2 Mielograma.....	29
4.3.3 Imunofenotipagem por citometria de fluxo.....	31
4.3.4 Citogenética e biologia molecular.....	41
4.3.5 Exames laboratoriais.....	47
4.3.6 Doenças que interferem no processo de diagnóstico.....	51
4.3.7 Diagnósticos diferenciais de LLA na infância.....	52
4.4 Doenças genéticas que podem predispor LLA.....	53
4.5 Polimorfismos genéticos relacionados ao metabolismo do ciclo do folato.....	53
4.5.1 Metabolismo do folato.....	53
4.5.2 Polimorfismos no gene MTHFR.....	55
4.5.3 Polimorfismos no gene RFC1 80G>A.....	56
4.6 Tratamento.....	57
4.6.1 Indução da remissão.....	57
4.6.2 Intensificação – consolidação.....	58
4.6.3 Prevenção da leucemia no Sistema Nervoso Central.....	59
4.6.4 Continuação/ Manutenção da remissão.....	59
4.6.6 Protocolo no tratamento da LLA na infância.....	59
4.7 Terapias complementares.....	61
4.8 Prognóstico e sobrevida dos pacientes.....	61
4.8.1 Novas tecnologias.....	63
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	66
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	67

## 1 INTRODUÇÃO

Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é doença que apresenta proliferação descontrolada de linfoblastos, ou seja, células da linhagem linfóide indiferenciadas, além da produção anormal de eritrócitos, leucócitos outros e plaquetas (HAMERSCHLAK, 2008).

Apresenta-se mais comumente em pacientes do sexo masculino menores de 15 anos, com pico de incidência entre 2 e 5 anos, sendo mais observado em caucasianos quando comparados a afro-americanos (LEITE et al, 2007).

Este câncer ainda hoje tem causa desconhecida, entretanto acredita-se que tenha relação com a radiação ionizante: isto devido ao aumento de casos no Japão após os bombardeios atômicos em Hiroshima e Nagasaki (POLO-CAPUÑAY, 2014).

Contudo, é improvável que a transformação leucêmica seja resultado de um único evento. Envolve, mais provavelmente, a susceptibilidade do hospedeiro, danos cromossômicos secundários à exposição a agentes físicos ou químicos e à possível incorporação de informações genéticas virais transmitidas às células progenitoras (LEITE et al, 2007).

Algumas condições genéticas podem predispor LLA como: Síndrome de Down, neurofibromatose tipo 1, ataxia-telangiectasia, anemia de Fanconi, Síndrome de Li-Fraumeni, entre outros (HOWLADER et al., 2017).

Foi visto que o efeito combinado entre os polimorfismos de enzimas do metabolismo do ácido fólico (MTHFR 677>T e RFC1 80G>A) estão associados com a susceptibilidade à LLA pediátrica. Polimorfismos em genes que codificam enzimas do metabolismo do ciclo do folato podem afetar o processo de metilação do DNA favorecendo a leucemogênese. A metilação do DNA é uma modificação epigenética necessária para a regulação normal da expressão gênica e manutenção da integridade cromossômica, e, portanto, depende do fluxo metabólico no ciclo do folato (VIEIRA, 2013).

Esta formação neoplásica pode ser classificada de acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS) ou conforme a French American British (FAB). Segundo a

OMS, LLA subdivide-se em: leucemia linfóide de células B e leucemia linfóide de células T; há ainda subdivisões da leucemia linfóide de células B. Já na classificação da FAB três são os subtipos: LLA-L1, LLA-L2 e LLA-L3 (SEITER, 2016).

Para a classificação dessa doença, o principal método utilizado é a imunofenotipagem: esta técnica permite a identificação da linhagem celular (linfócitos T ou B) e os diferentes estágios de maturação destas células. Porém, o diagnóstico também se inicia pelo hemograma e complementarmente pelo mielograma (FARIAS, 2004).

A presença de blastos leucêmicos no líquido cerebrospinal indica o comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC) (IKEUTI; BORIM; LUPORINI, 2006).

Os sinais e sintomas de LLA durante a infância variam e são derivados do comprometimento da medula óssea, são eles: anemia (palidez), trombocitopenia (Síndrome purpúrica), neutropenia (febre, na maioria das vezes devido a uma infecção intercorrente), e infiltração extramedular leucêmica como adenopatias, hepatoesplenomegalia, dores ósseas, aumento do volume testicular, comprometimento do SNC, entre outros (VIZCAÍNO et al., 2016).

A infiltração medular que ocorre na LLA tem como consequência alterações hematológicas. Níveis de hemoglobina inferiores a 10 g/ dL estão presentes em 80% dos casos, leucometria superior a 10.000 células/ mm<sup>3</sup> de sangue ocorre em 50% dos pacientes e número de plaquetas inferior a 100.000 células/ mm<sup>3</sup> de sangue verifica-se em cerca de 75% dos pacientes com a doença (IKEUTI; BORIM; LUPORINI, 2006).

Em pacientes menores de 18 anos com suspeita diagnóstica de LLA recomenda-se hemograma com contagem de plaquetas, extensão do sangue periférico, exames para detecção da função hepática, da função renal, de eletrólitos (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Cl<sup>-</sup>, Ca<sup>2+</sup>, fósforo), hemoclassificação, provas de coagulação, fenótipo de Rh, desidrogenase láctica (DHL), ácido úrico e exame de fezes. É importante descartar a possibilidade de uma doença infecciosa, seja esta bacteriana ou viral, como hepatite B/C, HIV, Vírus Epstein-Barr (EBV) e citomegalovírus (CMV) (VIZCAÍNO et al., 2016).

O tratamento desta formação neoplásica dura em média dois a três anos e é constituído por algumas fases: indução da remissão, intensificação-consolidação,

prevenção da leucemia no SNC e continuação ou manutenção da remissão (PEDROSA; LINS, 2002).

O tratamento padrão para crianças diagnosticadas com LLA é a quimioterapia intratecal, na qual fármacos são lançados diretamente no líquido cefalorraquidiano, combinada à quimioterapia sistêmica (HAZIN et al., 2015 apud INCA, 2014).

O diagnóstico e o tratamento precoce são condições que favorecem a chance de cura do paciente, que atualmente devido aos avanços da medicina tem uma perspectiva alta de aproximadamente 90% de cura. Contudo, a dificuldade de acesso à exames complexos para pacientes que dependem do sistema de saúde pública em alguns países, como é o caso do Brasil, com o Sistema Unificado de Saúde (SUS), gera um obstáculo que posterga esse diagnóstico de LLA, muitas vezes confundida com outras doenças devido a alguns sinais e sintomas em comum (NEHMY et al., 2011).

## **2 OBJETIVOS**

Realizou-se revisão bibliográfica acerca de Leucemia Linfóide Aguda durante a infância e adolescência, caracterizando manifestações clínicas, apontando exames laboratoriais, complementares e diferenciais para sua detecção, relacionando-a brevemente a polimorfismos genéticos. Abordou-se também prognóstico e tratamento dos pacientes e novas tecnologias.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram realizadas pesquisas bibliográficas em livros da Biblioteca Padre Inocente Radrizzani do Centro Universitário São Camilo e em artigos de bases de dados como PubMed, biblioteca de revistas eletrônicas Scielo e Google Acadêmico.

Foram selecionados 30 artigos no intervalo de, aproximadamente, 18 anos (2000 a 2018) a partir da análise qualitativa atendendo ao critério simples de abordagem ao tema. Para os livros utilizados foi adotado o mesmo critério qualitativo.

Palavras-chave: Ácido fólico – metabolismo. Citometria de fluxo. Hibridização in situ fluorescente. Leucemia-linfoma linfoblástico de células precursoras. Trombocitopenia.

## 4 DESENVOLVIMENTO

### 4.1 Classificação e caracterização

Leucemia é o tipo de formação neoplásica infanto-juvenil (0 a 19 anos) mais comum na maioria das populações mundiais, representando cerca de 25 a 35% dos casos de câncer nesta faixa etária. Dentre as leucemias, a LLA é responsável por 80% dos casos na primeira infância (abaixo de 5 anos) e pelo pico de incidência entre 2 e 3 anos, sendo mais frequente no sexo masculino (INCA, 2016).

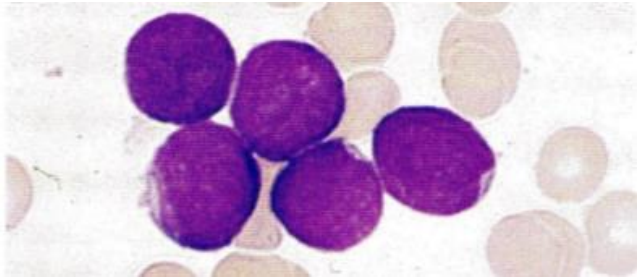
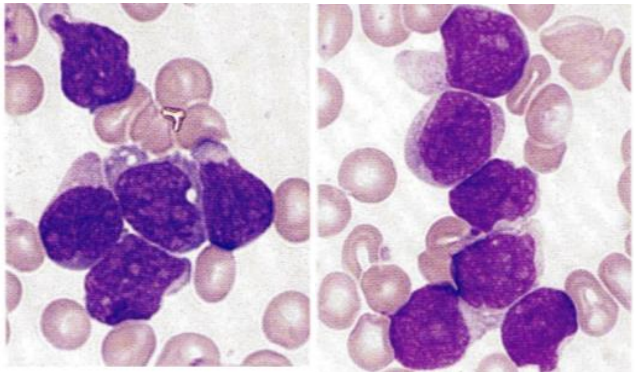
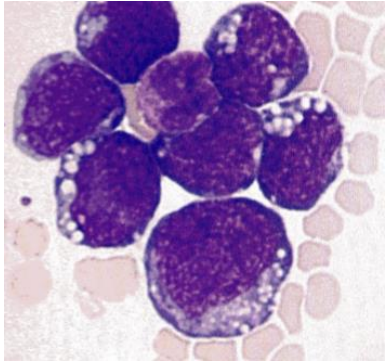
A produção exacerbada de leucócitos anormais, característica da LLA, diminui progressivamente a produção de células normais, dando origem a sintomas como anemia, infecções e hemorragias que, se não forem tratadas, em meses ou semanas levam à morte. Portanto, é necessário o reconhecimento e tratamento da doença assim que diagnosticada (DIAS; SILVA; OLIVEIRA, 2016).

No mundo, as maiores taxas de incidência de LLA para a faixa etária de 0 a 19 anos foram encontradas em regiões da Itália, com cerca de 100 casos por milhão (sexo masculino) e, entre 70 e 110 casos por milhão (sexo feminino) em registros na Espanha, Argentina, Itália e Estados Unidos. Já as menores taxas (menos de 20 casos por milhão) foram observadas em crianças do sexo masculino em registros africanos e na China, e em crianças do sexo feminino em registros da Índia e África do Sul (INCA, 2016).

A classificação segundo a FAB, proposta em 1976, separa LLA em três subtipos avaliando critérios morfológicos baseados no tamanho celular, citoplasma, presença ou não de nucléolo, cromatina e vacuolização (TERWILLIGER; ABDUL-HAY, 2017).

No quadro 1 podemos verificar as características morfológicas de cada subtipo de acordo com a FAB.

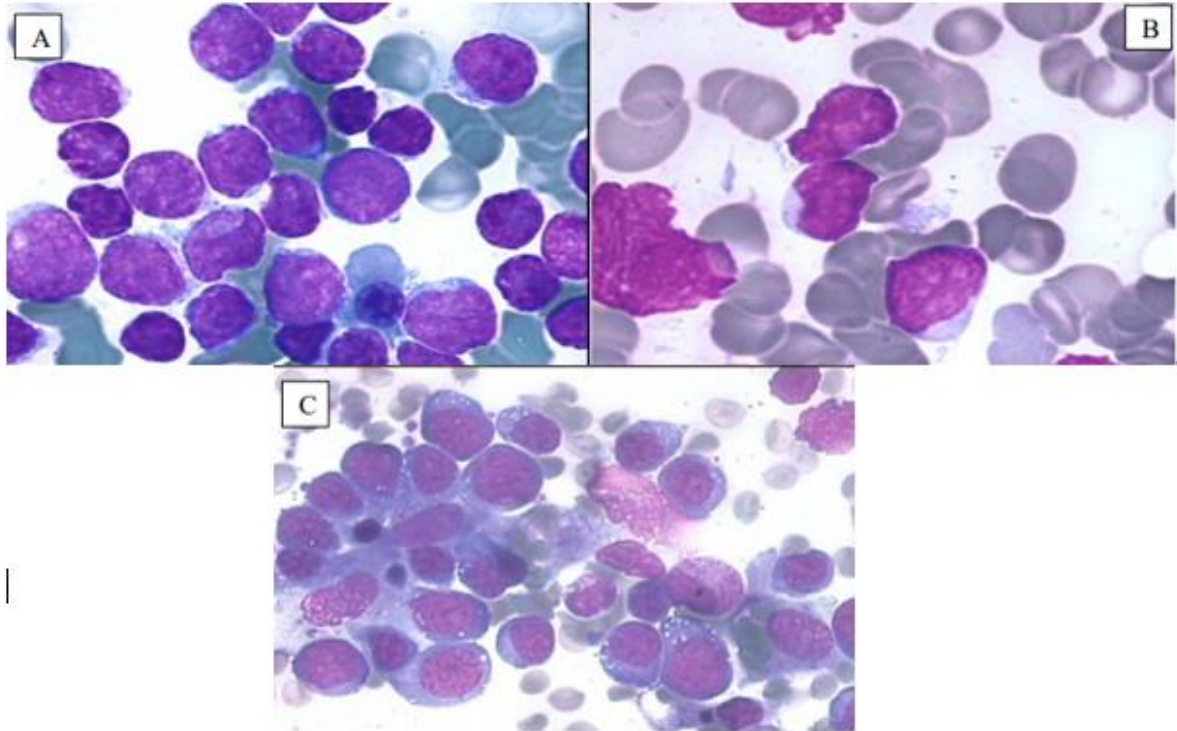
**Quadro 1 – Classificação e caracterização morfológica da Leucemia Linfóide Aguda de acordo com French-American-British**

Subtipo	Características morfológicas
<p>L1 – Leucemia linfocítica com diâmetro celular pequeno</p> 	<p>Células pequenas e homogêneas em sua maioria</p> <p>Núcleo regular</p> <p>Cromatina fina ou aglomerada</p> <p>Citoplasma escasso</p>
<p>L2 – Leucemia linfocítica com diâmetro celular grande</p> 	<p>Células grandes e heterogêneas</p> <p>Núcleo irregular</p> <p>Cromatina fina</p> <p>Citoplasma abundante</p> <p>Um ou mais nucléolos</p>
<p>L3 – Leucemia linfocítica com diâmetro celular grande</p> 	<p>Células grandes e homogêneas</p> <p>Núcleo regular (oval ou redondo)</p> <p>Cromatina fina</p> <p>Citoplasma abundante</p> <p>Vacúolos citoplasmáticos evidentes</p>

Fonte: Modificado de (SILVEIRA; ARRAES, 2008). Imagens de acordo com: (FADEL, 2014).

Outros autores descrevem algumas características, com base na classificação FAB de LLA, ligeiramente diferentes, como é o caso da figura 1 segundo Chiaretti, Zini e Bassan (2014).

**Figura 1 – Subtipos L1, L2 e L3 de Leucemia Linfóide Aguda**



A: Subtipo L1 – Apresenta, dentre outras características, cromatina parcialmente condensada, nucléolos pouco visíveis e alta relação nucleocitoplasmática; B: Subtipo L2 – Apresenta, dentre outras características, linfoblastos de tamanho variável, cromatina rendada heterogênea, citoplasma fracamente basofílico e relação nucleocitoplasmática variável; C: Subtipo L3 – Apresenta, dentre outras características, cromatina nuclear pontilhada finamente granular, nucléolos proeminentes, citoplasma azul-escuro e vacuolizado. Entretanto, a maioria desses casos é agora reconhecida como representando linfoma não-Hodgkin ao invés de LLA.

Fonte: Modificado de (CHIARETTI; ZINI; BASSAN, 2014).

Em 1988, foi introduzida a classificação morfológica, imunológica e citogenética (MIC) da LLA. Foi feita uma revisão e comparação com a classificação FAB, que podemos visualizar no quadro 2 (BEHM, 2003).

**Quadro 2 – Comparação entre a classificação MIC e a classificação FAB da LLA**

Classificação MIC	Classificação FAB	Marcadores imunológicos					Cariótipo
		CD 2	CD 7	CD 10	CD 19	TdT	
LLA de precursores de células B	L1, L2		-	+	+	+	t(4;11); t(9;22)
LLA comum	L1, L2		-	+	+	+	6q-; del (12p) ou t(9;22)
LLA pré-B	L1		-	+	+	+	t(1;19); t(9;22)
LLA-B	L3		-	+/-	+	-	t(8;14); t(2;8); t(8;22)
LLA de precursores de células T	L1, L2	+	+		-	+	t/ del (9p)
LLA-T	L1, L2	+	+		-	+	6q-

TdT: *Deoxinucleotidil transferase Terminal*; CD: *Cluster of Diferenciation*.

Fonte: Modificado de (BEHM, 2003).

Em 1997, a OMS reformulou a classificação de LLA baseando-se no perfil morfológico e citogenético dos blastos, dividindo a doença em três tipos: LLA de células B/ Linfoma, LLA de células T/ Linfoma e Linfoma de Burkitt. Após a revisão de 2008, o Linfoma de Burkitt foi eliminado da classificação e o tipo LLA de células B/ Linfoma apresentou dois subtipos: com anormalidades genéticas recorrentes e não especificado de outra forma. Posteriormente, de acordo com a revisão de 2016, subdividiu-se LLA de células B/ Linfoma com anormalidades genéticas (TERWILLIGER; ABDUL-HAY, 2017).

No quadro 3 podemos visualizar a classificação de LLA proposta pela OMS em 2016.

**Quadro 3 – Subdivisões de Leucemia Linfóide Aguda de acordo com a Organização Mundial da Saúde**

<b>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma, não especificado de outra forma</b>
<b>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com anormalidades genéticas recorrentes</b>
<p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com hipodiploidia</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com hiperdiploidia</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma t(9;22)(q34;q11.2)[BCR-ABL1]</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com t(v;11q23)[rearranjo MLL]</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com t(12;21)(p13;q22)[ETV6-RUNX1]</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com t(1;19)(q23;p13.3)[TCF3-PBX1]</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com t(5;14)(q31;q32)[IL3-IGH]</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com amplificação intracromossomal do cromossomo 21 (iAMP21)</p> <p>Leucemia Linfóide de células B/ Linfoma com translocações envolvendo tirosina cinases ou receptores para citocina ('BCR-ABL1-like ALL')</p>
<b>Leucemia Linfóide de células T/ Linfomas</b>
Leucemia Linfóide de células T precoce

Fonte: (TERWILLIGER; ABDUL-HAY, 2017 apud OMS, 2016).

#### **4.2 Sinais e sintomas**

O comprometimento da medula óssea presente na LLA resulta em alguns sinais e sintomas, tais como anemia. No estudo realizado por Sousa e colaboradores (2015), anemia foi observada em 85% dos pacientes, apresentando-se normocrômica e normocítica.

Anemia normocrômica e normocítica possui os parâmetros laboratoriais VCM, HCM e CHCM normais, e pode ser classificada em: anemia por diminuição de produção (anemia aplásica), anemia de doença crônica, anemia secundária à insuficiência renal crônica e anemia hemolítica (ALEGRE; CARVALHO, 2009).

Anemia, trombocitopenia (síndrome púrpurica) e febre são os sinais e sintomas presentes em  $\frac{2}{3}$  dos casos de leucemia, e caso sejam acompanhados de hepatoesplenomegalia, adenopatias (como por exemplo a linfadenopatia visualizada na figura 2) ou leucocitose o diagnóstico está, praticamente, fechado. Na figura 3 é possível visualizar a púrpura, sinal que aparece na síndrome purpúrica devido a trombocitopenia (GUERRA et al., 2015).

Há outros sinais e sintomas que ocorrem na leucemia aguda, como o comprometimento osteoarticular (devido à infiltração leucêmica do periósteo, infarto ósseo ou expansão da cavidade medular por células leucêmicas), comprometimento do sistema nervoso central (podendo causar vômitos, convulsões, problemas de equilíbrio e paralisia do nervo VI ou apresentar-se de forma assintomática), comprometimento genitourinário (que em alguns casos pode haver aumento do volume testicular unilateral ou bilateralmente) (GUERRA et al., 2015).

**Figura 2 – Linfadenopatia marcante em um menino com LLA**



Linfadenopatia localizada nas regiões apontadas pelas setas.

Fonte: Modificado de (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

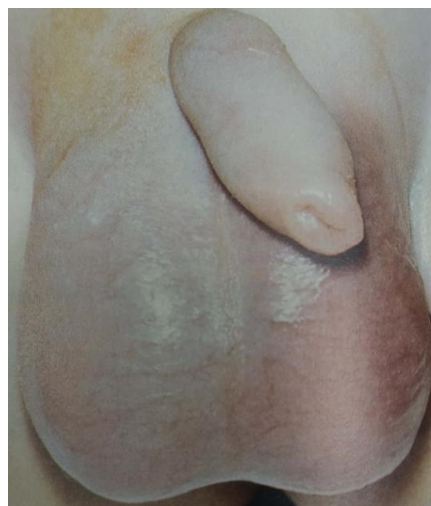
**Figura 3 – Púrpura**



Fonte: Modificado de (GUERRA et al., 2015).

Na figura 4 observamos um caso de edema e eritema testicular na LLA infantil, exemplificando o comprometimento genitourinário.

**Figura 4 – Edema e eritema testicular em LLA**



Fonte: (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Durante o diagnóstico de um paciente com suspeita de leucemia e com dor osteoarticular realizam-se radiografias. No caso da figura 5 podemos observar uma

radiografia pósterio-anterior de tórax em um paciente com LLA-B comum que apresentava osteopenia difusa do úmero esquerdo e osteosclerose na parte proximal do osso citado (GUERRA et al., 2015).

**Figura 5 – Radiografia pósterio-anterior de tórax de paciente com LLA-B comum e comprometimento ósseo**



Fonte: (GUERRA et al., 2015).

LLA é a forma de leucemia com maior frequência de sintomas reumatológicos. Essas manifestações musculoesqueléticas são frequentes em crianças com LLA no início da doença, e devido familiaridade com a artrite reumatoide juvenil (ARJ), é necessário realizar o diagnóstico diferencial (BARBOSA et al., 2002); (IKEUTI; BORIM; LUPORINI, 2006).

Em um paciente com hepatomegalia e/ ou esplenomegalia, outro sinal presente nesta leucemia, é possível observar a presença de alargamento mediastinal, que somado a alterações no hemograma é indicativo de LLA. Esse alargamento é também visível em uma radiografia pósterio-anterior de tórax, exame demonstrado na figura 6. Além da radiografia do tórax para evidenciar o alargamento mediastinal, é possível realizar o ultrassom abdominal para detectar hepatoesplenomegalia (GUERRA et al., 2015).

No caso de ossos infiltrados o exame a ser feito é a ressonância magnética, a qual mostra sinal hipointenso em sequências T1 com sequências T2 normais e com ausência de realce após administração de contraste (GUERRA et al., 2015).

**Figura 6 – Radiografia pósterio-anterior de tórax de paciente com LLA de células T evidenciando alargamento mediastinal**



Fonte: (GUERRA et al., 2015).

### **4.3 Diagnóstico**

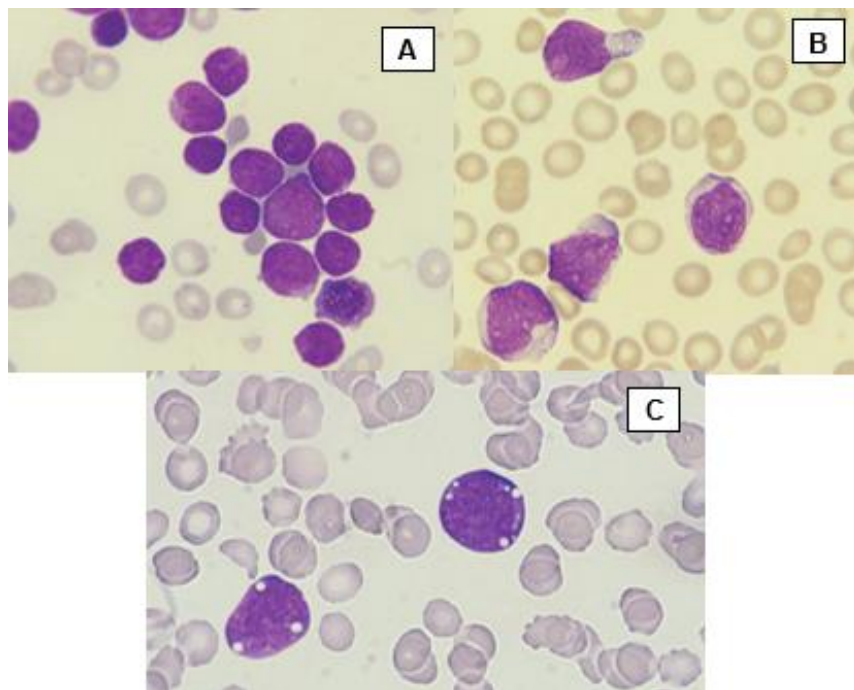
Para realizar o diagnóstico de LLA os primeiros exames solicitados são: hemograma e mielograma. Posteriormente são necessários exames confirmatórios como: imunofenotipagem, cariótipo e análise da presença de translocações (DANTAS et al., 2015).

Outros exames solicitados são: coagulograma, testes bioquímicos, sorologias, DHL e raio-X de tórax. Porém é por meio do mielograma (com a avaliação citoquímica, imunofenotipagem, citogenética e biologia molecular) que é dado o diagnóstico definitivo (OLIVEIRA, 2008).

### 4.3.1 Hemograma

O hemograma de pacientes com LLA, normalmente, apresenta anemia normocrômica e normocítica, trombocitopenia e leucocitose. Os linfoblastos são as células predominantes (FADEL, 2014). A figura 7 mostra extensões sanguíneas dos subtipos de LLA de acordo com a classificação FAB.

**Figura 7 – Extensão sanguínea dos subtipos de LLA de acordo com a FAB**



A: FAB LLA L1; B: FAB LLA L2; C: FAB LLA L3.

Fonte: Modificado de (BAIN, 2016).

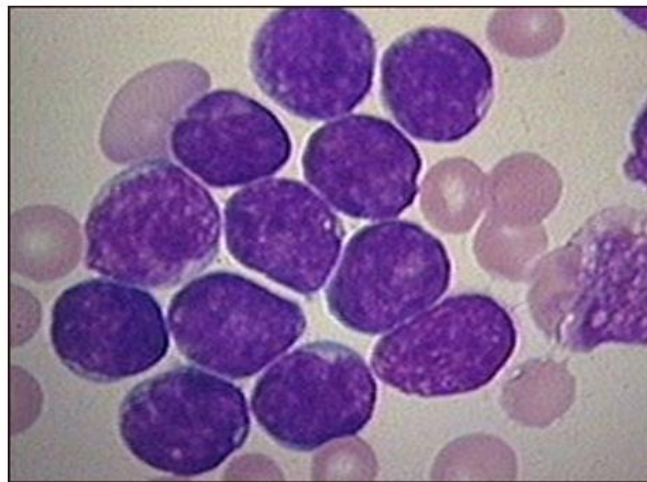
### 4.3.2 Mielograma

Segundo Alves (2012), o mielograma é realizado por meio da contagem diferencial de 300 células na distensão do fluido aspirado de medula óssea, corado com corante May-Grünwald-Giemsa.

Na LLA a medula apresenta-se hiper celular, com mais de 20% de blastos leucêmicos (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

A figura 8 é possível observar células de um paciente com LLA obtidas a partir de um aspirado de medula óssea. O local mais indicado para realizar esta punção na criança é na crista ilíaca, anterior ou posterior (OLIVEIRA, 2008).

**Figura 8 – Aspirado de medula óssea de paciente com LLA**



Fonte: (OLIVEIRA, 2008).

Na figura 9 visualizamos a agulha aspirativa para realização do aspirado de medula óssea e, a partir deste, o mielograma (OLIVEIRA, 2008).

**Figura 9 – Agulha aspirativa de mielograma**



Fonte: (OLIVEIRA, 2008).

### 4.3.3 Imunofenotipagem por citometria de fluxo

Imunofenotipagem é técnica que investiga a presença ou ausência de antígenos (na superfície ou no citoplasma celular) a partir de um painel de anticorpos monoclonais (AcMo) para a determinação das linhagens celulares (B, T, NK), e de células mielomonocíticas (DANTAS et al., 2015).

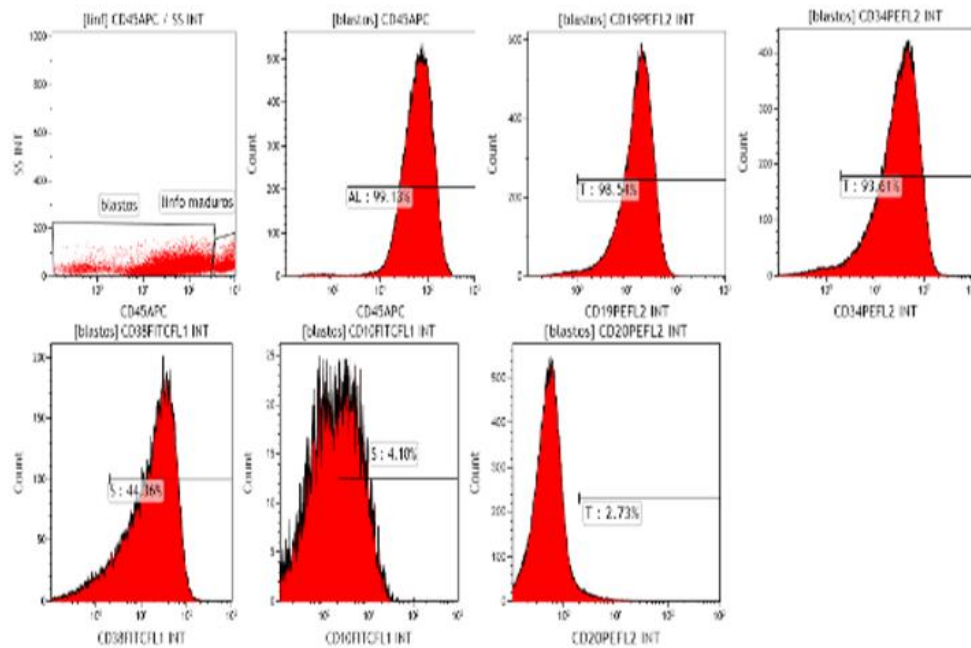
Baseia-se, portanto, na reação antígeno-anticorpo com a utilização de AcMo conjugados a fluorocromos como, por exemplo, isotiocianato de fluoresceína (FITC), que detecta a fluorescência verde, e ficoeritrina (PE), que detecta a fluorescência laranja, para identificar os marcadores monoclonais celulares (SILVEIRA; ARRAES, 2008). Dessa forma é possível analisar qualitativa e quantitativamente os padrões de expressão de antígenos em populações de interesse (BELOTO, 2010).

A partir da citometria de fluxo, esses AcMo marcados com diferentes fluorocromos reconhecem o padrão e a intensidade de expressão de diferentes antígenos na superfície de células normais e leucêmicas (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Com este exame é determinado também o grau de diferenciação celular (imatura ou madura), a presença ou não de clonalidade (restringindo-se nas células da linhagem linfóide B) e a expressão antigênica aberrante nas populações celulares malignas. Isto permite que a imunofenotipagem seja um diagnóstico com maior especificidade (DANTAS et al., 2015).

A figura 10 demonstra um padrão imunofenotípico da medula óssea de um paciente com LLA de fenótipo pró-B, em que – demonstra a ausência e + demonstra a presença da molécula na célula: CD45++ (leucócitos), CD19++ (linfócito B), CD34++ (células estaminais), CD38+ (plasmócito), CD10-, CD20-.

**Figura 10 – Padrão imunofenotípico da medula óssea de paciente com LLA pró-B**



Paciente CD45++, CD19++, CD34++, CD38+, CD10-, CD20-.

Fonte: (SUÁREZ, 2016).

O quadro 4 apresenta os principais antígenos de diferenciação utilizados para identificar diferentes tipos celulares durante a hematopoese normal e leucêmica, mostrando também a localização e função de cada anticorpo.

**Quadro 4 – Principais antígenos de diferenciação utilizados para identificar diferentes tipos celulares durante a hematopoese normal e leucêmica**

Anticorpo	Localização	Função
CD1a	Células T tímicas, subgrupo de células B, células de Langerhans	Glicoproteína 48kD que se liga a $\beta$ 2-microglobulina
CD2	Todas as células T, maioria das NK	Ligante de LFA-3
CD3	Células T tímicas e maduras	Estrutura do TCR, transdução de sinal

<b>Anticorpo</b>	<b>Localização</b>	<b>Função</b>
CD4	Células T auxiliaadoras, monócitos, macrófagos	Co-receptor de MHC classe II, receptor do HIV
CD5	Células T maduras e tímicas, subgrupo de células B (células B1)	Ativação de células T, ligante de CD72
CD7	Todas as células T, células NK	Ativação de células T e NK
CD8	Subgrupo de células T tímicas, T supressora/citotóxica, subgrupo de NK	Co-receptor do MHC de classe I
CD10	Precursor B e células B do centro germinativo, PMN	Endopeptidase neutra
CD16	Células NK, granulócitos	Receptor para cadeia pesada das imunoglobulinas
CD19	Células B precursoras e maduras	Ativação de células B
CD20	Células B precursores tardios e maduros	Canal de Ca <sup>2+</sup> , ativação de células B
CD22	Células B precursoras e maduras	Molécula de adesão celular
CD34	Células progenitoras	?
CD38	Células linfoides progenitoras, células plasmáticas, células T ativadas	Ativação leucocitária
CD45	Pan-hematopoético	Transdução de sinal: tirosina-fosfatase
CD56	Células NK e células T citotóxicas	Molécula de adesão celular

<b>Anticorpo</b>	<b>Localização</b>	<b>Função</b>
CD79a	Células B precursoras	Mb-1; transdução de sinal da Ig de superfície para o citoplasma
HLA-DR	Células B, monócitos, progenitores mieloides e células T ativadas	Antígeno de apresentação, MHC classe II
IgM*	Células pré-B, linfócito B naïve	Reconhecimento da cadeia pesada da IgM
TdT	Células linfóides imaturas	Rearranjo de Igs e TCR

IgM\*: Cadeia pesada de imunoglobulina; NK: *Natural Killer*; TCR: Receptor de células T; TdT: *Deoxinucleotidil transferase Terminal*.

Fonte: Modificado de (ALVES, 2012).

Um painel de associações lineares monoclonais, portanto, pode subdividir LLA em subgrupos de precursores de células B (divididos em BI ou LLA pró-B, BII ou LLA comum, BIII ou LLA pré-B e BIV ou LLA-B) e precursores de células T (quatro são os subtipos: pró-T, pré-T, cortical e maduro) (DANTAS et al., 2015).

Entretanto, outros autores como Farias e Castro (2004), Silveira e Arraes (2008), Alves (2012), Fadel (2014) classificam os precursores de células T em três subtipos: LLA pré-T, LLA tipo intermediário e LLA-T (T maduro).

No quadro 5 podemos verificar os principais AcMo disponíveis para a avaliação imunofenotípica da LLA associados às características imunológicas de cada subgrupo.

**Quadro 5 – Classificação imunofenotípica e características imunológicas de LLA por meio de um painel de associações lineares monoclonais**

<b>Classificação imunofenotípica</b>	<b>Marcadores monoclonais dos subgrupos imunofenotípicos de LLA</b>
<b>LLA-B (Linfócitos B)</b>	<b>BI ou LLA pró-B:</b> HLA-DR; TdT; CD34; CD19; CD21 e CD22c

<b>Classificação imunofenotípica</b>	<b>Marcadores monoclonais dos subgrupos imunofenotípicos de LLA</b>
<b>LLA-B (Linfócitos B)</b>	<b>BII ou LLA comum (CALLA):</b> HLA-DR; TdT; CD10; CD19; CD20; CD21 e CD22c
	<b>BIII ou LLA pré-B:</b> HLA-DR; TdT; CD10; CD19; CD20; CD21; CD22c e c $\mu$
	<b>BIV ou LLA-B (B maduro):</b> HLA-DR; TdT; CD10; CD19; CD20; CD22c; CD79 e Smlg (cadeias leves)
<b>LLA-T (Linfócitos T)</b>	<b>LLA pré-T:</b> HLA-DR; TdT; CD3c; CD5; CD7 e CD10
	<b>LLA tipo intermediário:</b> TdT; CD1a; CD2; CD3c; CD7; CD10 e CD4/CD8
	<b>LLA-T (T maduro):</b> TdT; CD2; CD3c; CD5; CD7; CD10 e CD4/CD8

TdT: *Deoxinucleotidil transferase Terminal*; c: intracitoplasmático; c $\mu$ : cadeia  $\mu$  citoplasmática (IgMc); Smlg: imunoglobulina de superfície (IgMs).

Fonte: Modificado de (SILVEIRA; ARRAES, 2008); (FARIAS; CASTRO, 2004); (FADEL, 2014); (ALVES, 2012).

É importante salientar que o AcMo CD10 é também conhecido por CALLA, ou seja, antígeno comum de LLA (GREER et al., 2009).

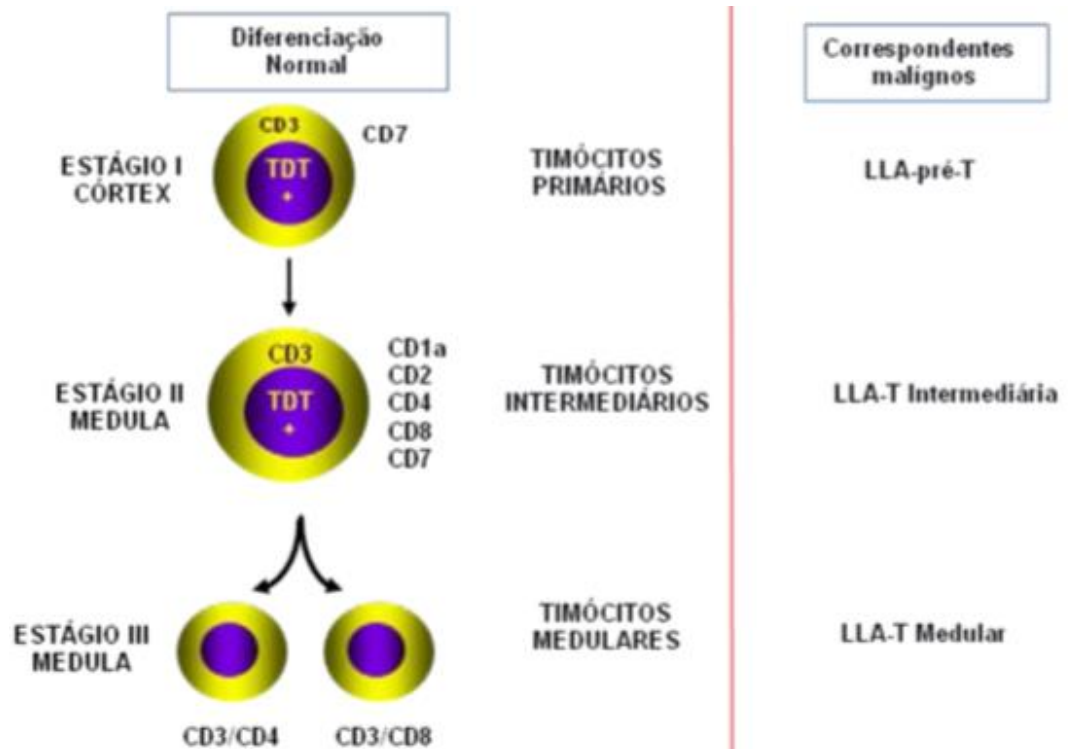
Na LLA proveniente de precursores de células B são expressos sequencialmente na superfície celular os marcadores monoclonais: CD10, CD22, imunoglobulina, CD20 e CD21 (SILVEIRA; ARRAES, 2008).

Equivalentes ao CD3 (presente em LLA de células T) os marcadores CD22 e CD79 são específicos para células B. Estes dois últimos marcadores citados são encontrados expressos tanto no citoplasma como na superfície celular (SILVEIRA; ARRAES, 2008).

Na LLA de células NK os principais AcMo utilizados para sua caracterização são: CD16, CD56 e CD57 (LORENZI, 2006).

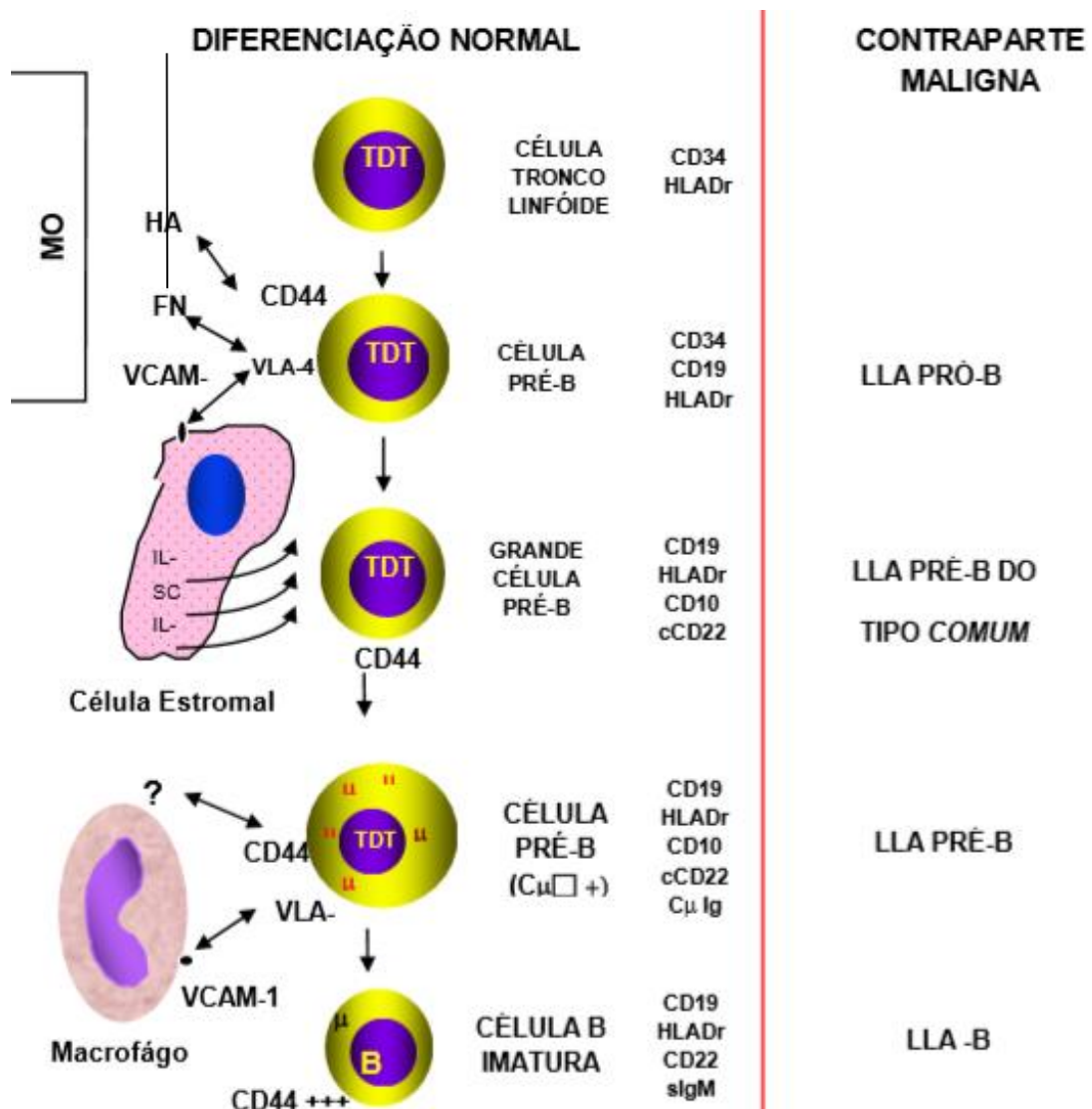
Nas figuras 11 e 12 podemos observar de modo esquemático a diferenciação dos linfócitos T e B respectivamente.

**Figura 11 – Esquema da diferenciação dos linfócitos T e os correspondentes malignos**



Fonte: Modificado de (ALVES, 2012).

Figura 12 – Esquema da diferenciação dos linfócitos B e os correspondentes malignos

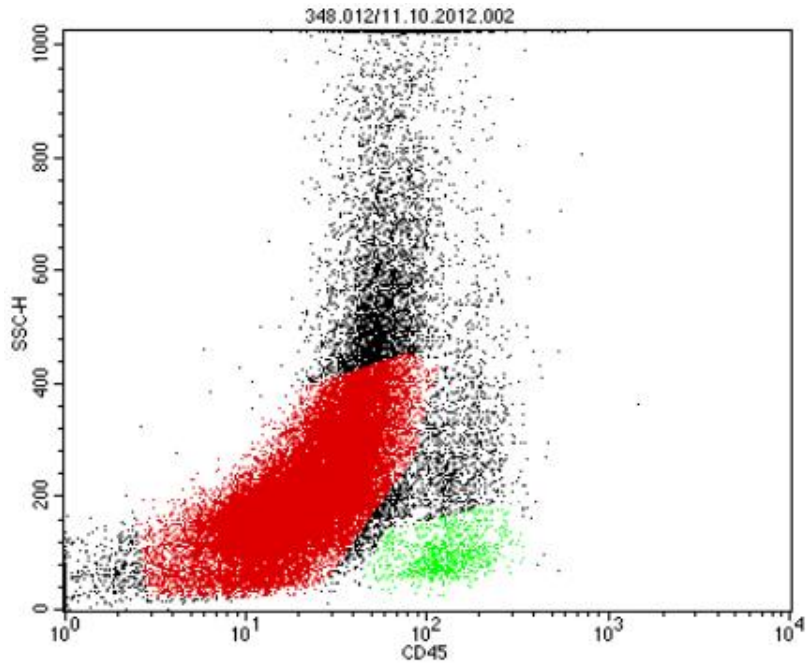


Fonte: Modificado de (ALVES, 2012).

Na imunofenotipagem por citometria de fluxo é realizado um diagrama de desvio lateral de luz (SSC) x CD45 para identificação inicial pois os blastos possuem baixa intensidade de expressão de CD45 e SSC baixo (REGO; SANTOS, 2009).

Na figura 13 podemos observar o diagrama CD45 x SSC citado anteriormente, no qual os blastos estão representados em vermelho devido ao fluorocromo Pcp (Piridina de clorofila, também abreviado como PerCP) que está conjugado devido a uma reação antígeno-anticorpo (ALVES, 2012).

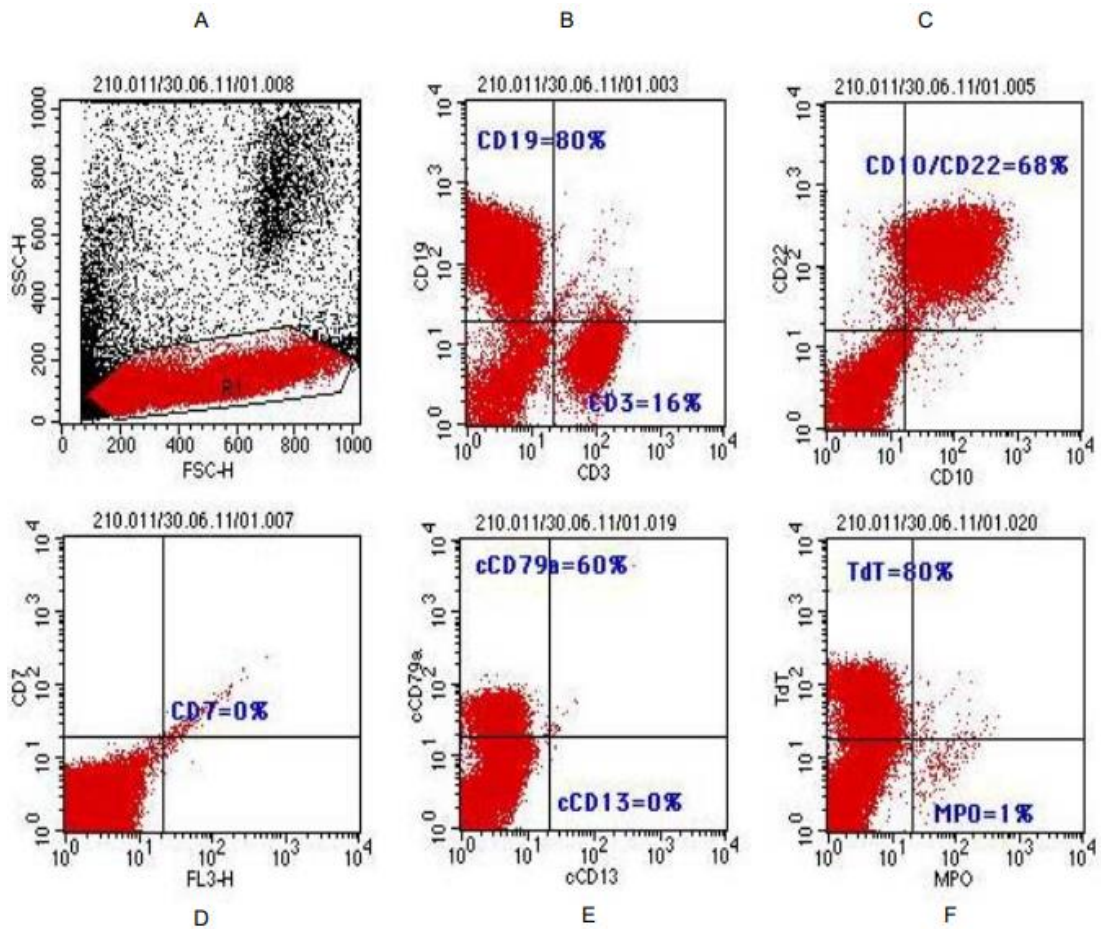
**Figura 13 – Dot plot CD45 x desvio lateral de luz (SSC) com *gate* R1 nos blastos representado pelas células em vermelho**



Fonte: (ALVES, 2012).

Nas figuras 14, 15 e 16 é possível observar o diagrama *Forward Scatter* (FSC) x *Side Scatter* (SSC), no qual o primeiro parâmetro avalia o tamanho celular e o segundo avalia a complexidade e granulosidade celular. Além de visualizar o perfil imunofenotípico de 3 casos de LLA, respectivamente são eles: LLA pré-B (Calla+), LLA pré-B cμ e LLA-T (ALVES, 2012).

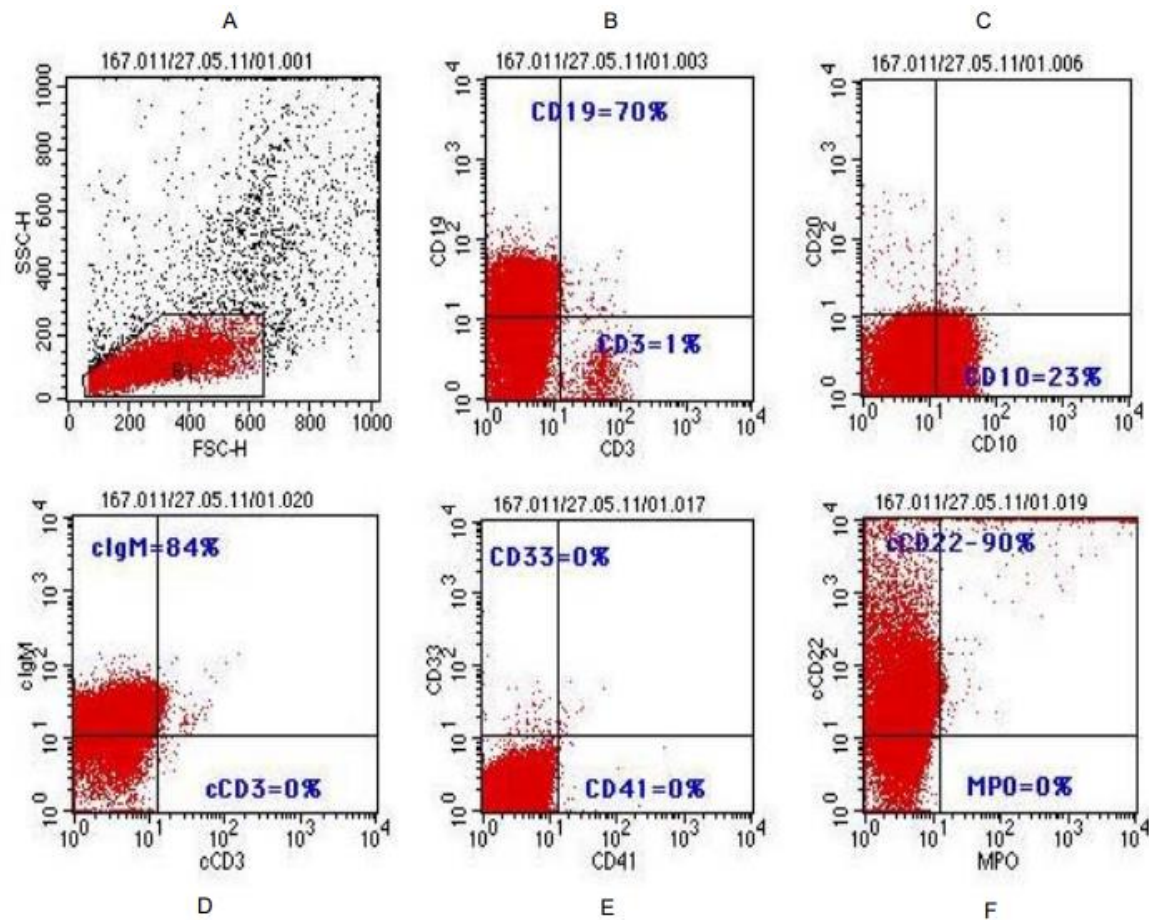
**Figura 14 – Perfil imunofenotípico de um caso de LLA pré-B (Calla+)**



**A)** Características morfológicas das células blásticas (em vermelho) determinadas pelas características FSC x SSC, especialmente na área delimitada pelo “gate”; **B)** CD19 e CD3 expressos em 80% e 16% nas células blásticas, respectivamente; **C)** Co-expressão CD10/CD22 em 68% nas células blásticas; **D)** Expressão negativa do antígeno CD7; **E)** Expressão do antígeno CD79a intracitoplasmático em 60% e negatividade para o antígeno CD13c; **F)** AcMo contra a TdT em 80% das células blásticas e expressão negativa para o AcMo anti-mieloperoxidase.

Fonte: (ALVES, 2012).

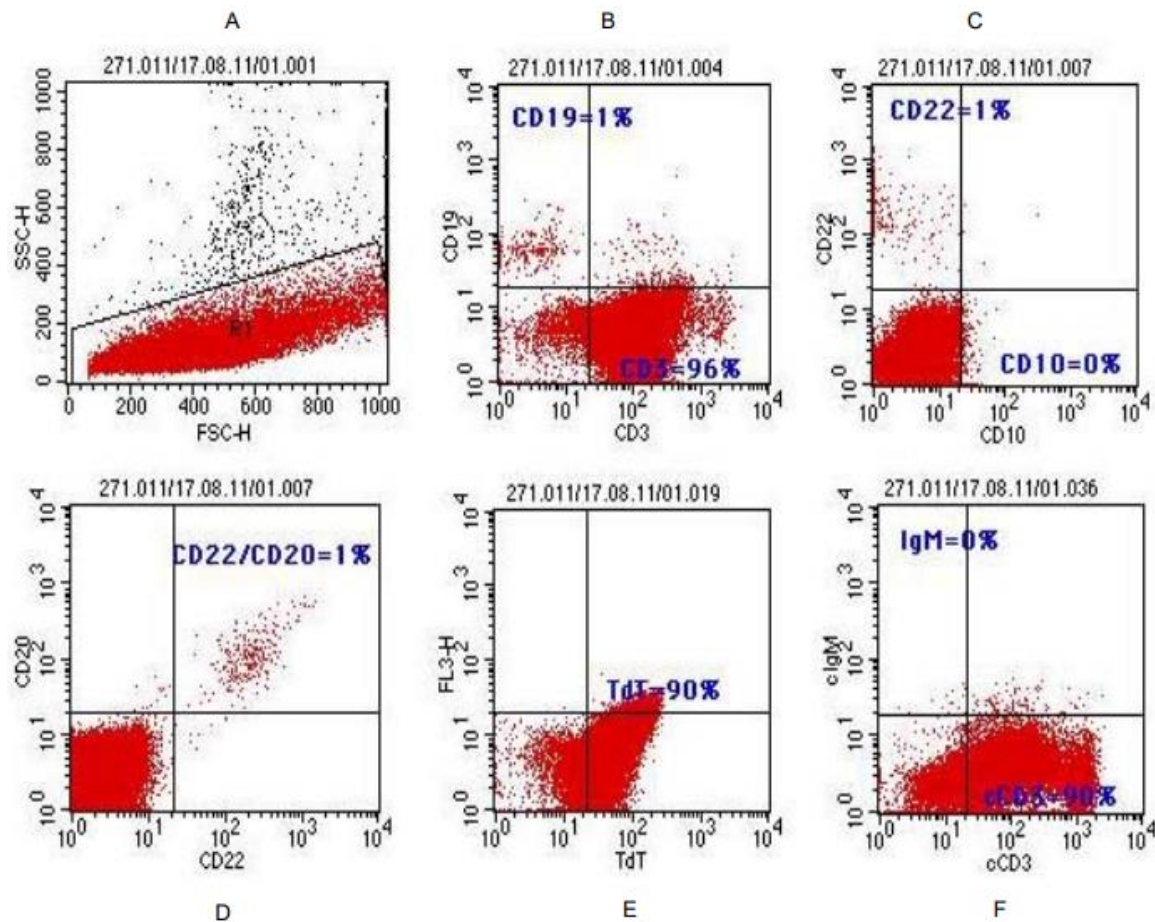
**Figura 15 – Perfil imunofenotípico de um caso de LLA pré-B c $\mu$**



**A)** Características morfológicas das células blásticas (em vermelho) determinadas pelas características FSC x SSC, especialmente na área delineada pelo “gate”; **B)** CD19 e CD3 expressos em 70% e 1% nas células blásticas, respectivamente; **C)** Expressão do CD10 em 23% nas células blásticas e negatividade para o antígeno CD20; **D)** Expressão negativa do antígeno CD3 e positividade para IgM em 84% das células blásticas; **E)** Negatividade para o antígeno CD41 e CD33; **F)** Expressão do CD22c em 90% das células blásticas e expressão negativa para o AcMo anti-mieloperoxidase.

Fonte: (ALVES, 2012).

**Figura 16 – Perfil imunofenotípico de um caso de LLA-T**



**A)** Características morfológicas das células blásticas (em vermelho) determinadas pelas características FSC x SSC, especialmente na área delineada pelo “gate”; **B)** CD19 e CD3 expressos em 1% e 96% nas células blásticas, respectivamente; **C)** Expressão negativa para os antígenos CD10 e CD20; **D)** Expressão negativa dos antígenos CD22 e CD20; **E)** Positividade para o TdT em 90% das células blásticas; **F)** Expressão do CD3c em 90% das células blásticas e expressão negativa para o AcMo anti-IgM.

Fonte: (ALVES, 2012).

#### 4.3.4 Citogenética e biologia molecular

##### 4.3.4.1 Cariótipo

O estudo do cariótipo compreende a análise morfológica, por meio do microscópio, dos cromossomos de células tumorais. Porém, para isso é necessário que as células tumorais estejam em metástase. Assim, é preciso cultivar essas células

para estimular a divisão antes da preparação cromossômica (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Na figura 17 podemos avaliar o cariótipo de um paciente com LLA pré-B com t(1;19) e deleção do braço longo do cromossomo 6.

**Figura 17 – Cariótipo de LLA pré-B com t(1;19) e deleção do braço longo do cromossomo 6**



Fonte: Modificado de (RIZZATTI; CHAUAFFAILLE, 2009).

No quadro 6 podemos observar alguns dos oncogenes envolvidos nas anomalias genéticas (translocações) mais frequentes em LLA.

**Quadro 6 – Anomalias genéticas mais frequentes em Leucemia Linfóide Aguda**

Subtipo de Leucemia Linfóide Aguda	Anomalia genética	Oncogenes envolvidos
LLA de linhagem precursora-B	t(12;21)	TEL, AML1
	t(4;11)	AF4,MLL (ALL1, HRX)
	t(9;22)	ABL, BCR
	t(1;19)	PBX-1, E2A
LLA-B	t(8;14)**	MYC para <i>locus</i> IgH
	t(2;8)	MYC para <i>locus</i> IgK
	t(8;22)	MYC para <i>locus</i> Igλ
LLA-T	t(1;14)	TAL-1 para <i>locus</i> TCRδ
	t(8;14)**	MYC
	t(11;14)	RBTN-1 ou RBTN-2
	t(7;9)	TAL-2 para <i>locus</i> TCRβ

\*\*Os pontos de quebra no cromossomo 14 estão em posições diferentes na LLA-T e LLA-B.

Fonte: Modificado de (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Na linhagem T, os cariótipos 14q11, 7q35 e 7p14-15 são as anormalidades comuns em crianças com LLA. Os genes estão envolvidos na translocação de oncogenes para o gene do receptor de células T (TCR) e a função da proteína de fusão formada é a superexpressão das respectivas proteínas (DEVITA JR.; LAWRENCE; ROSENBERG, 2015).

Já na linhagem B, alguns dos cariótipos comuns em crianças com LLA são: t(12;21), (p13;q22) ou del 12p. Os genes envolvidos nessas anormalidades são: ETV6-RUNX1 e a função da proteína de fusão formada é alterar a expressão do gene HOX (DEVITA JR.; LAWRENCE; ROSENBERG, 2015).

#### 4.3.4.2 Reação em Cadeia da Polimerase

A reação em cadeia da polimerase (PCR), é um outro exame que pode ser feito a partir do sangue ou da medula óssea, e é utilizada para detecção de inúmeras

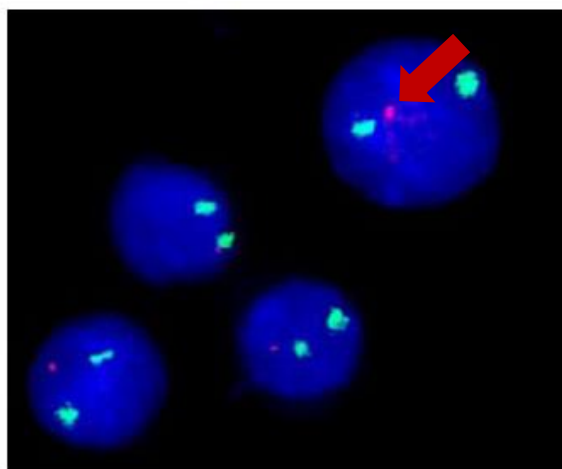
translocações específicas, tais como t(9;22) e t(15;17). Além de detectar células “clonais” de linhagem B ou T por análise de rearranjo de gene de imunoglobulina ou do TCR. É extremamente sensível, detecta uma célula anormal em  $10^5$  e  $10^6$  células normais e possui grande utilidade no diagnóstico e na monitoração de doença residual mínima (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

#### 4.3.4.3 *Fluorescence in situ Hybridization*

*Fluorescence in situ Hybridization* (FISH) é teste de citogenética molecular, mais sensível em relação a alguns usados no diagnóstico de LLA. Em casos com citogenética convencional normal é possível a presença de genes de fusão ou outras anormalidades genéticas, as quais tem implicação prognóstica independente da presença ou ausência de alteração cromossômica para a citogenética Fonte: Modificado de: (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Podemos observar na figura 18 o FISH de uma criança com LLA que possui deleção do gene P16 no braço curto do cromossomo 9 (p21). E no quadro 6 pode-se visualizar algumas alterações genéticas investigadas por esta técnica na LLA.

**Figura 18 - FISH de criança com LLA**



Deleção do gene P16 no braço curto do cromossomo 9 (p21) (em vermelho, na ponta da seta).

Fonte: Modificado de (RIZZATTI; CHAUAFFAILLE, 2009).

O quadro 7 apresenta alterações genéticas investigadas pela FISH na LLA de acordo com a faixa etária, associação clínica e evolução da doença.

**Quadro 7 – Alterações genéticas investigadas pela hibridização *in situ* por fluorescência na Leucemia Linfóide Aguda**

Faixa etária	Alteração detectada	Associação clínica	Evolução
Crianças	t(1;19) ou t(17;19) na região 19p do gene E2A	Presentes na LLA-B	Prognóstico desfavorável e alto risco de recaída
	Rearranjo TEL (ETV6)/ AML1 (RUNX1), que corresponde à t(12;21), invisível pelo cariótipo	Presente na LLA-B	Prognóstico favorável
Lactentes	Rearranjos no gene MLL, no 11q23: t(9;11), t(11;19) e t(4;11)/ MLL-AF4*	Observados em 80% dos casos	Possibilidade elevada de falha terapêutica

\*t(4;11)/ MÇÇ-AF4 é a alteração genética mais frequente em lactentes.

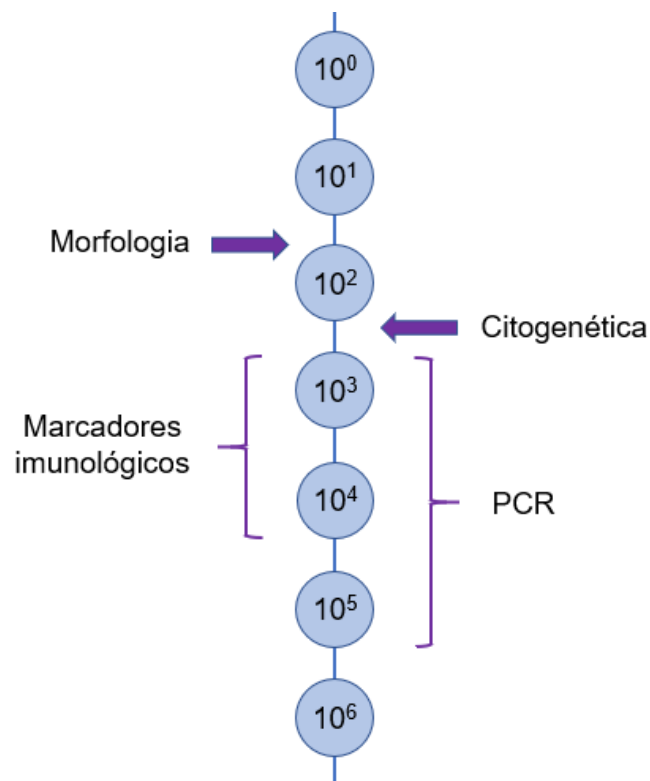
Fonte: Modificado de (RIZZATTI; CHAUAFFAILLE, 2009).

Outra translocação importante na LLA (especificamente na LLA-B, mas é possível também observar no linfoma de Burkitt) é a translocação de MYC, sendo esta uma de três translocações que levam o oncogene MYC para uma região próxima de um dos genes de imunoglobulina. A mais frequente é a t(8;14), que transloca o gene para o *locus* da cadeia pesada, que tem como consequência a desregulação da expressão do gene MYC pois este torna-se expresso em partes do ciclo celular

(durante no qual em condições normais deveria estar desligado) (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

A figura 19 demonstra a sensibilidade, em ordem crescente, de quatro técnicas utilizadas para detecção de células leucêmicas e na figura 20 podemos observar os subgrupos citogenéticos de LLA de acordo com a idade (lactentes, crianças de 1 a 15 anos e adultos).

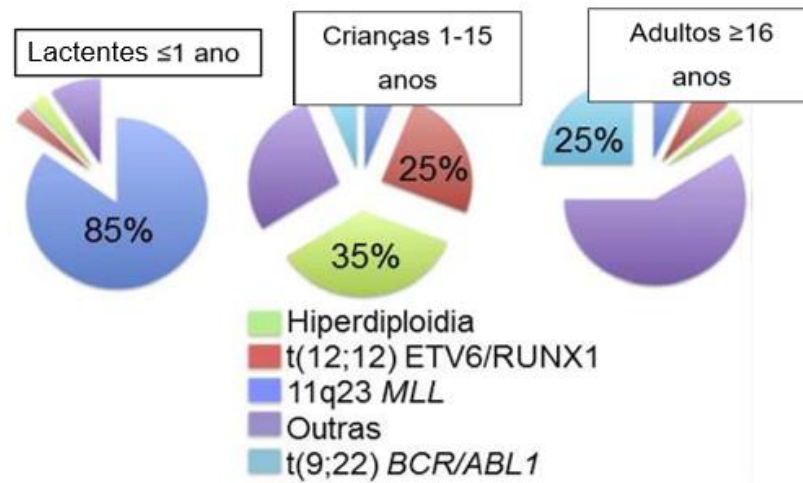
**Figura 19 – Sensibilidade de detecção de células leucêmicas**



1 célula detectada em  $10^1$  a 1 célula detectada em  $10^6$ ; PCR: Reação em Cadeia da Polimerase.

Fonte: Modificado de (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

**Figura 20 – Subgrupos citogenéticos de LLA de acordo com a idade**



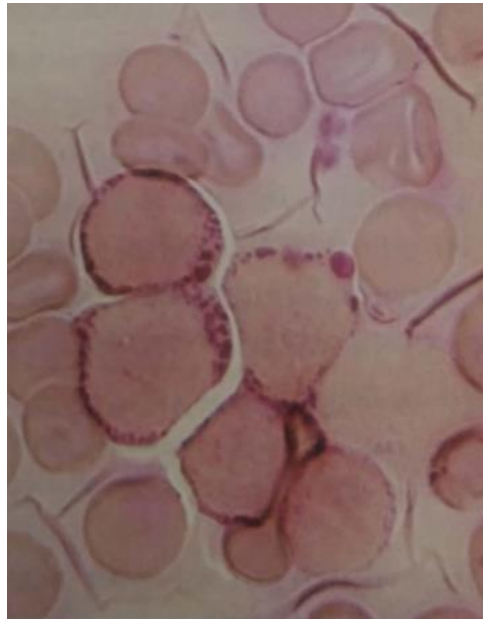
Fonte: (VIEIRA, 2013).

#### 4.3.5 Exames laboratoriais

Citoquímica é técnica de coloração utilizada para auxiliar no diagnóstico de LLA, diferenciando por meio de corantes a LLA de leucemias não linfocíticas agudas. Alguns dos principais corantes usados nesta técnica são: ácido periódico – Schiff (PAS), a peroxidase ou o *Sudan Black B* (OLIVEIRA, 2008).

O PAS cora glicogênio nas células e os linfoblastos normalmente apresentam um padrão de positividade em forma de anéis concêntricos ou em bloco grosseiro (OLIVEIRA, 2008). Na figura 21 podemos visualizar grânulos grosseiros na coloração de PAS em um caso de LLA.

**Figura 21 – Coloração com ácido periódico de Schiff em caso de LLA**



A coloração com ácido periódico de Schiff mostra grânulos grosseiros.

Fonte: (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Já as reações de mieloperoxidase e *Sudan Black B* são negativas para as leucemias linfóides, entretanto são muito utilizadas para o diagnóstico de leucemia mielóide aguda (LMA). O quadro 8 apresenta as reações citoquímicas que diferenciam LLA de LMA (OLIVEIRA, 2008).

**Quadro 8 – Reações citoquímicas para diferenciar Leucemia Linfóide Aguda de Leucemia Mielóide Aguda**

Reação/Tipo de Leucemia	M1	M2/M3	M4	M5	M6	M7	LLA
Peroxidase ou <i>Sudan Black B</i>	+	+++	++	+/-	-	-	-
Alfa-naftil-(ASD)-cloroacetato-esterase (CAE)	+	+++	+	-	-	-	- raramente +

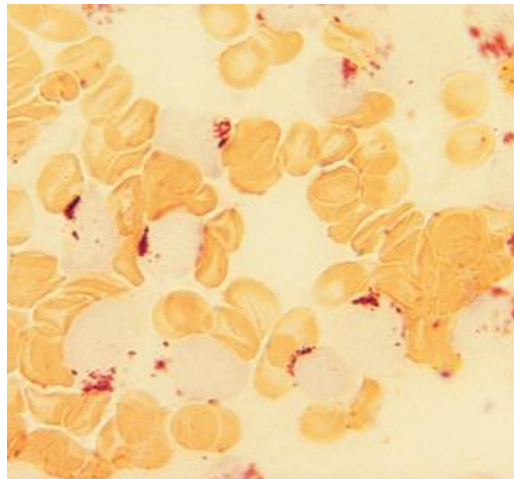
Reação/Tipo de Leucemia	M1	M2/M3	M4	M5	M6	M7	LLA
Ácido periódico/ reativo de Schiff	+/-	++ difuso	+++	+/-	+ difuso ou em blocos	- ou + em blocos	+++ em blocos
Esterase inespecífica*	-	-	+ / ++	+++	-	-	++ difuso

LLA: Leucemia Linfóide Aguda; \*Esterase inespecífica (alfa-naftil-acetato-esterase).

Fonte: Modificado de (OLIVEIRA, 2008).

A reação de fosfatase ácida é aplicada no diagnóstico de algumas doenças hematopoiéticas, dentre elas a tricoleucemia (*hairy cell leukemia*) e leucemias da linhagem T (em particular a LLA de linhagem T). Este segundo caso é possível observar na figura 22 (BAIN, 2016).

**Figura 22 – Coloração da fosfatase ácida de paciente com LLA de linhagem T**



Positividade focal nos blastos.

Fonte: (BAIN, 2016).

Exames bioquímicos podem demonstrar aumento nos exames: ácido úrico e DHL e, em alguns casos, hipercalcemia (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Anteriormente ao tratamento de LLA são realizados alguns exames como provas de funções hepática e renal para realizar uma comparação posterior (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

O quadro 9 mostra os principais exames a serem realizados em diversos períodos. É necessário lembrar que o acompanhamento da criança por endocrinologista é imprescindível para a prevenção, avaliação e tratamento de efeitos colaterais que possam surgir após o tratamento.

**Quadro 9 – Principais exames realizados antes, durante e após o tratamento de LLA**

<b>Períodos</b>	<b>Exames</b>
Antes do tratamento	HMG e plaquetometria; função da hemostasia (incluindo fibrinogênio); glicemia; uréia e creatinina <sup>1</sup> ; eletrólitos <sup>2</sup> ; transferases: AST e ALT; ácido úrico; DHL; $\beta$ 2-microglobulina; fezes <sup>3</sup> ; eletrocardiograma
Ao início do tratamento	HMG; estudo da hemostasia; glicemia; uréia e creatinina <sup>1</sup> ; eletrólitos <sup>2</sup> ; transferases: AST e ALT; ácido úrico; amilase; pesquisa sorológica para: HIV, HTLV, Hepatite B e C, Sífilis; Ecocardiograma com fração de ejeção; mielograma <sup>4</sup> ; exame citológico e bioquímico do LCR <sup>5</sup>
Durante a fase de manutenção	HMG com plaquetometria; uréia e creatinina <sup>1</sup> mensalmente; transferases: AST e ALT; ácido úrico; fezes <sup>3</sup> a cada 3 meses
Ao término do tratamento	HMG com plaquetometria; uréia e creatinina <sup>1</sup> ; ácido úrico; DHL; $\beta$ 2-microglobulina; mielograma; exame citológico do LCR

Períodos	Exames
Após o término do tratamento	Exame físico; HMG com plaquetometria; uréia e creatinina <sup>1</sup> ; ácido úrico; DHL; $\beta$ 2-microglobulina; pesquisa sorológica <sup>6</sup> para: HIV, HTLV, Hepatite B e C, Sífilis e Chagas

HMG: Hemograma; <sup>1</sup>uréia e creatinina são exames para avaliação da função renal; <sup>2</sup>eletrólitos: sódio, potássio, cloretos, cálcio e fósforo; AST: aspartato amino transferase; ALT: alanina amino transferase; DHL: desidrogenase láctica; <sup>3</sup>exame parasitológico de fezes; <sup>4</sup>exame realizado a cada mudança de fase do tratamento; LCR: líquido céfalo-raquidiano; <sup>5</sup>exame realizado a cada punção lombar; <sup>6</sup>estas pesquisas sorológicas deverão ser repetidas no 24º mês após a última transfusão de hemoderivado.

Fonte: (INCA, 2001).

Segundo INCA (2001), no período que sucede o término do tratamento o paciente deverá ser avaliado da maneira descrita no quadro 9 e segundo os intervalos de tempo:

- Primeiro semestre: a cada 2 meses;
- Segundo semestre: a cada 4 meses;
- Segundo e terceiro ano: a cada 6 meses;
- A partir do quarto ano: anualmente.

#### 4.3.6 Doenças que interferem no processo de diagnóstico

A similaridade de sinais e sintomas entre Leucemias Agudas (LLA e Leucemia Mielóide Aguda) e a Leishmaniose Visceral (LV), doença causada pelo protozoário *Leishmania chagasi*, demonstra a importância da inclusão da LV no diagnóstico diferencial em áreas endêmicas do Brasil (VASCONCELOS et al., 2014).

Esplenomegalia, anemia, neutropenia, trombocitopenia e/ ou aumento da contagem anormal de linfócitos são alguns sinais e sintomas presentes tanto na LV quanto na LLA e, portanto, podem gerar equívocos de diagnóstico em áreas endêmicas (VASCONCELOS et al., 2014).

É importante ressaltar que a infecção por *L. chagasi* promove diferenciação e proliferação linfóide, que gera desestruturação imunológica e desequilíbrio entre as células Th1 e Th2. Este desequilíbrio pode contribuir para o aumento da incidência de doenças infantis, tais como: asma, diabetes e leucemia aguda (VASCONCELOS et al., 2014).

#### 4.3.7 Diagnósticos diferenciais de LLA na infância

Devido a familiaridades, em diversos casos, entre outras doenças com LLA é necessário realizar o diagnóstico diferencial para excluí-las e assim afirmar que o paciente tem este tipo de leucemia. Além de alguns sinais e sintomas em comum com ARJ e LV, já abordados, outras doenças que também necessitam do diagnóstico diferencial estão apresentadas no quadro 10.

**Quadro 10 – Doenças que necessitam de diagnóstico diferencial de LLA na infância**

<b>Condições malignas</b>	<b>Não-</b>	<b>Condições Malignas</b>	<b>Apresentações incomuns</b>
Mononucleose infecciosa		Neuroblastoma	Síndrome hipereosinofílica
Púrpura trombocitopênica idiopática		Retinoblastoma	
Pertussis, Parapertussis		Rabdomiossarcoma	
Anemia aplásica			
Linfocitose infecciosa			
aguda			

Fonte: (DEVITA JR.; LAWRENCE; ROSENBERG, 2015).

Outras doenças como febre reumática e lúpus eritematoso sistêmico podem também ter quadros clínicos que sejam semelhantes a LLA devido os sinais e sintomas inespecíficos desta leucemia (BARBOSA et al., 2002).

#### **4.4 Doenças genéticas que podem predispor LLA**

Algumas doenças genéticas estão associadas a um risco aumentado de LLA, dentre elas podemos observar: síndrome de Down, neurofibromatose tipo 1, ataxia-telangiectasia, anemia de fanconi e síndrome de Li-Fraumeni (Howlader et al., 2017).

Destas doenças, a síndrome de Down é o fator de risco mais comum para LLA na infância. Estudos mostram que crianças que tem LLA associada a esta doença tem diminuição significativa da taxa de remissão, maior taxa de mortalidade durante a fase de indução e menor taxa de sobrevida (GREER, 2009).

#### **4.5 Polimorfismos genéticos relacionados ao metabolismo do ciclo do folato**

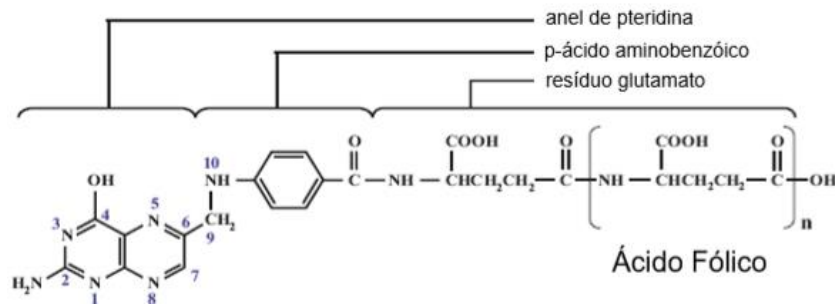
Polimorfismos genéticos envolvidos na via metabólica do folato podem promover alterações nos níveis do mesmo. Essas alterações estão associadas com mudanças na metilação, síntese e reparo do DNA, pois são necessários níveis adequados de folato para a biossíntese de purinas e pirimidinas (GALBIATTI, 2012).

Os polimorfismos em genes que codificam enzimas do ciclo do folato estão associados com susceptibilidade à LLA pediátrica (OLIVEIRA, 2013).

##### **4.5.1 Metabolismo do folato**

O termo folato refere-se ao grupo de ácido fólico e derivados. Essa família de compostos é derivada do ácido pteroilglutâmico (forma da vitamina B9 que é mais estável). A forma mais estável de folato é o ácido fólico, mas para tornar-se biologicamente ativo *in vivo* é preciso realizar uma etapa de redução, resultando em dihidrofolato (DHF) e tetrahidrofolato (THF). A figura 23 mostra a estrutura química do ácido fólico (SILVA, 2010).

**Figura 23 – Estrutura química do ácido fólico**



Fonte: (SILVA, 2010).

O folato está envolvido na formação de grupos metil durante a interconversão de um carbono no metabolismo intermediário de S-adenosilmetionina (SAM), que serve como um doador de grupos metil nas reações de metilação celular como, por exemplo, a metilação do DNA (GALBIATTI, 2012).

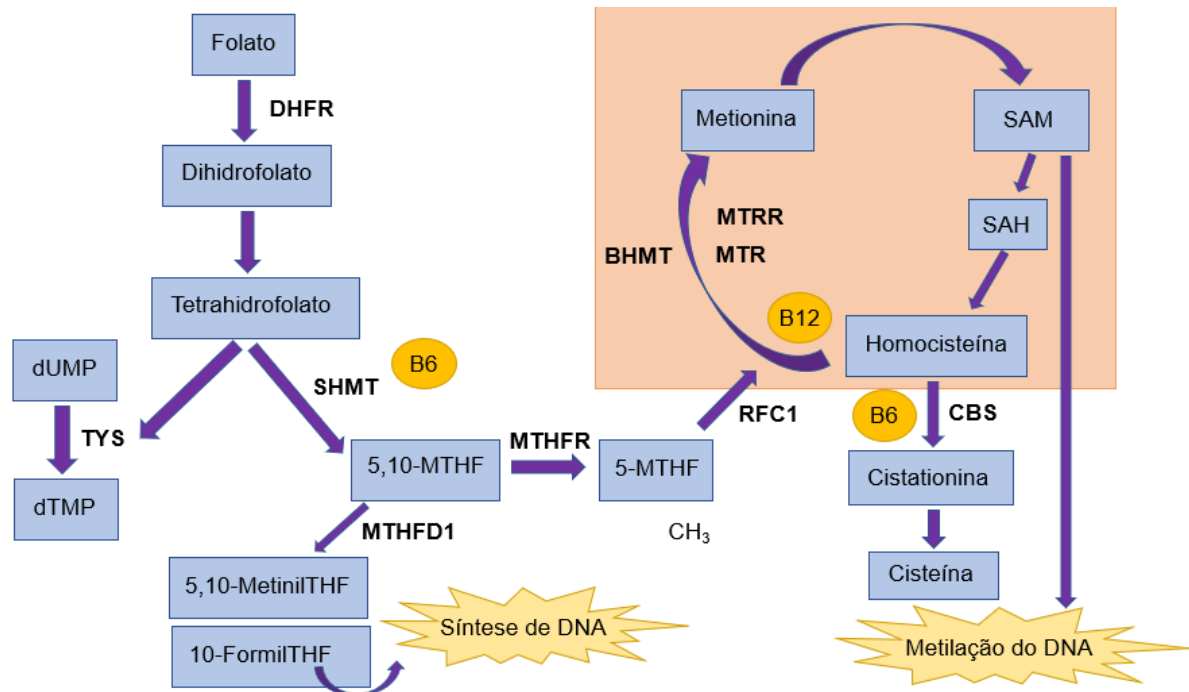
A metilação do DNA possui diversas funções: controle da expressão gênica, estabilidade da estrutura da cromatina e manutenção da estabilidade genômica (GALBIATTI, 2012).

Alterações no metabolismo do folato podem contribuir com a carcinogênese por alguns mecanismos, são eles: hipometilação de DNA (e posteriormente ativação dos proto-oncogenes), erro de incorporação da uracila durante a síntese de DNA (o que leva à instabilidade genômica) ou aumento na desaminação de citosina nos sítios de metilação de DNA (GALBIATTI, 2012).

A enzima carreadora de folato reduzido 1 (RFC1) fica localizada na membrana de células da mucosa intestinal e participa do processo de absorção do folato. Essa enzima realiza o transporte de 5-metilenotetrahidrofolato (5-MTHF) para o interior de diversas células e, portanto, é um fator determinante para que as concentrações de folato disponíveis dentro das células estejam adequadas (GALBIATTI, 2012).

Na figura 24 observamos as principais enzimas envolvidas no metabolismo do folato.

**Figura 24 – Principais enzimas envolvidas no metabolismo do folato**



DHF: Dihidrofolato (folato fisiológico); THF: Tetrahydrofolato; DHFR: Dihidrofolato redutase; TYS: Timidilato sintase; dUMP: Deoxiuridina monofosfato; dTMP: Timidina monofosfato; SHMT: Serina hidroximetiltransferase (enzima dependente de vitamina B6); 5,10-MTHF: 5,10-metilenotetrahydrofolato; MTHFR: Metileno tetrahydrofolato redutase; 5-MTHF: 5-metilenotetrahydrofolato (principal forma circulante de folato que atua como doador de grupos metil para remetilação da homocisteína para a metionina); MTR: Metionina sintase (requer vitamina B12 como cofator); SAM: S-adenosilmetionina; MTRR: Metionina sintase redutase; SAH: S-adenosilhomocisteína; BHMT: Betaína-homocisteína metiltransferase; MTHFD1: Metilenotetrahydrofolato desidrogenase 1; RFC1: Carreador de folato reduzido 1; CBS: Cistionina  $\beta$  sintase (dependente de vitamina B6).

Fonte: Modificado de (GALBIATTI, 2012).

Os polimorfismos de nucleotídeo simples (SNPs) associados ao metabolismo do folato: MTHFR 677C>T e RFC1 80G>A levam à substituição de aminoácido e, no caso do MTHFR 677C>T, leva também à diminuição na atividade de enzimas que implicam na metilação e síntese de DNA (VIEIRA, 2013)

#### 4.5.2 Polimorfismos no gene MTHFR

O gene MTHFR possui dois alelos polimórficos bem conhecidos e estudados (C677T e A1298C), entretanto, o mais comum é o polimorfismo provocado por uma

mutação na posição C677T. Neste polimorfismo há substituição de alanina por valina ocasionando numa variante termolábil in vitro. Este polimorfismo altera a distribuição de folatos intracelulares e favorece a retenção do folato destinado à síntese de purinas e pirimidinas (VIZCAÍNO, 2011).

A substituição de alanina para valina altera o sítio de ligação para um co-fator importante para MTHFR, a flavina adenina dinucleotídeo (FAD) (SILVA, 2010).

O alelo A1298C provoca diminuição da atividade enzimática de MTHFR de 60% em relação ao alelo selvagem (VIZCAÍNO, 2011).

A diminuição da atividade de MTHFR aumenta a concentração de homocisteína (Hcy) plasmática e reduz a metilação de DNA (VIZCAÍNO, 2011).

Segundo Galbiatti (2012), o polimorfismo MTHFR C677T está associado à redução da atividade enzimática, que limita a conversão de 5,10 metileno-tetrahydrofolato para 5-MTHFR (forma de folato usada nas reações de metilação do DNA).

O genótipo homozigoto do polimorfismo (677TT) foi associada a níveis baixos de folato e níveis mais altos de Hcy no plasma e, conseqüentemente, a diminuição de folato plasmático pode ocasionar hipometilação do DNA e câncer (GALBIATTI, 2012).

#### **4.5.3 Polimorfismos no gene RFC1 80G>A**

O principal transportador de ácido fólico e drogas antifolato, como o metotrexato, (MTX) no organismo é o carreador de folato reduzido (RFC), o qual está expresso em todas as células. O transporte bidirecional de ácido fólico reduzido (principalmente nas formas: 5-metil THF e 5-formil THF) ocorre por meio da membrana com a utilização de glutamato como carga negativa (SILVA, 2010).

Sabe-se que o gene RFC-1 está localizado no cromossomo 21 (21q22.2-q22.3), o que explica o grande número de casos de toxicidade por MTX em pacientes com Síndrome de Down, devido ao aumento do número de cópias do gene e, portanto, maior expressão do mesmo (SILVA, 2010).

O polimorfismo G80A deste gene trata-se da transcrição de uma guanina por uma adenina no nucleotídeo 80 do éxon 2, promovendo a troca de uma arginina (CGC) por uma histidina (CAC) na posição 27 da proteína. Este polimorfismo está associado a concentrações alteradas de compostos do metabolismo do folato (CHANGO et al., 2000); (SILVA, 2010).

## **4.6 Tratamento**

O tratamento da LLA normalmente é dividido em fases: indução da remissão, intensificação-consolidação, prevenção da leucemia no SNC e continuação/manutenção da remissão.

Estudos comprovaram que quando pacientes adolescentes e até mesmo adultos jovens são tratados conforme protocolos pediátricos com doses superiores de drogas não mielossupressoras os resultados obtidos são melhores e há taxas mais elevadas de remissão contínua (SOUSA et al., 2015).

### **4.6.1 Indução da remissão**

Na fase de indução utilizam-se basicamente quatro drogas: corticoide, vincristina, L-asparaginase e daunoblastina (PEDROSA; LINS, 2002).

Vincristina (Oncovin ou Vincasar) é alcaloide vegetal que liga-se a tubulina e previne a formação de microtubulina (proteína essencial na manutenção da forma celular e na formação do fuso mitótico) impedindo consequentemente a formação do fuso mitótico. Portanto as células tratadas com este fármaco permanecem aprisionadas na metáfase. A depuração dessa substância ocorre via hepática.

L-asparaginase é uma enzima derivada de bactéria, a qual tem como função quebrar o aminoácido asparagina, reduzindo-o a níveis não detectáveis no sangue do paciente, privando as células de asparagina. Essa enzima tem depuração por meio do metabolismo hepático (GREER, 2009).

Segundo Hoffbrand, Moss e Pettit (2008), a dexametasona também é usada nessa fase além dos fármacos já mencionados.

Dexametasona é conhecida por providenciar uma melhor penetração do SNC e foi reportada por ser 16 vezes mais ativa contra blastos na LLA *in vitro*. Os resultados favoreceram a dexametasona sobre a prednisona em termos de taxa de recaída do SNC e sobrevida livre de eventos (GREER, 2009).

#### **4.6.2 Intensificação – consolidação**

A fase de intensificação-consolidação é indicada para erradicar as células leucêmicas residuais (PEDROSA; LINS, 2002).

Os fármacos mais utilizados nesta fase são: daunorrubicina, vincristina, citosilarabina, etoposide, tioguanina ou mercaptopurina (HOFFBRAND; MOSS; PETTIT, 2008).

Daunorrubicina (ou Cerubidina) é antibiótico (antraciclina) que atua inibindo a topoisomerase (enzima nuclear que usa ATP para modular a topologia do DNA; elas são necessárias para a replicação do DNA, condensação cromossômica e separação cromossômica), promovendo intercalação de DNA e formação de radicais livres. Sua depuração ocorre por excreção biliar e metabolismo hepático (GREER, 2009).

Mercaptopurina (6-MP ou Purinetol) é antimetabólito, análogo de purina, que possui depuração através do metabolismo hepático e como maior toxicidade: mielossupressão e hepatotoxicidade. A 6-MP é convertida intracelularmente em 6-MP ribose trifosfato, que é incorporado ao DNA, comprometendo conseqüentemente a replicação (GREER, 2009).

Nesta fase de consolidação da remissão de leucemias agudas o transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) alogênico é eficaz, porém apresenta alta taxa de morbi-mortalidade. Há ainda complicações a longo prazo que podem surgir, como a doença do enxerto contra o hospedeiro crônica. Portanto esse tipo de terapia baseia-se em fatores como citogenética da medula óssea ao tratamento. Pacientes com

doença refratária à indução, por exemplo, tem como única possibilidade de cura o TCTH alogênico (LAMEGO et al., 2010).

#### **4.6.3 Prevenção da leucemia no Sistema Nervoso Central**

Esta fase é parte integral do tratamento curativo da LLA e, geralmente, é feita por meio do uso de quimioterapia intratecal e radioterapia do crânio. Doses adicionais de quimioterapia intratecal e quimioterapia sistêmica mais intensiva vem substituindo a radioterapia do crânio devido a neurotoxicidade e tumores cerebrais causados por esta terapia, especialmente em crianças mais jovens (PEDROSA; LINS, 2002).

#### **4.6.4 Continuação/ Manutenção da remissão**

A administração oral de 6-mercaptopurina (diariamente) e MTX (semanalmente) com terapia intratecal periódica prolongada consiste na condução mais comum do tratamento de LLA na fase de manutenção (GREER, 2009).

MTX (Folex ou Mexato) é antimetabólito (análogo do ácido fólico) que inibe a DHFR com diminuição da síntese de timidilato e proteína. Sua depuração acontece via excreção renal (GREER, 2009).

#### **4.6.6 Protocolo no tratamento da LLA na infância**

O protocolo de tratamento do Grupo Cooperativo Brasileiro de Tratamento da Leucemia Linfóide Aguda na Infância (GBTLI-LLA-80) surgiu na década de 80 (LEE; PETRILLI, 2004 apud OLIVEIRA, 2008).

Já o protocolo GBTLI-LLA-93 prevê a divisão dos pacientes em três grupos de risco: Risco Básico Verdadeiro (RBV), Risco Básico (RB), Alto Risco (AR). São utilizados como critérios: idade, contagem de leucócitos ao diagnóstico, presença de

massa mediastinal, envolvimento do SNC, hepatoesplenomegalia, imunofenotipagem e a citogenética quando realizada (OLIVEIRA, 2008).

O quadro 11 demonstra esses três grupos de risco e seus critérios imprescindíveis e recomendáveis.

**Quadro 11 – Grupos de risco do protocolo GBTLI-LLA-93 e seus respectivos critérios imprescindíveis (em rosa) e recomendáveis (em amarelo)**

<b>Critérios</b>	<b>RBV</b>	<b>RB</b>	<b>AR</b>
Idade	> ou = 1 ano e < ou = 10 anos	> ou = 1 ano e < ou = 10 anos	< 12 meses e > 10 anos
Leucometria	< 10.000 células/mm <sup>3</sup> de sangue	> 10.000 e até 50.000 células/mm <sup>3</sup> de sangue	e/ ou > 50.000 células/mm <sup>3</sup> de sangue
Massa Mediastinal	Ausência	e/ ou presença	
Envolvimento do SNC	Ausência		e/ou presença
Hepatoesplenomegalia	< 5cm do rebordo costal medida de LHC	e/ ou fígado e baço > ou = 5cm LHC	
Imunofenotipagem	Não T e não B com <i>Cluster Designation</i> 10 > 20%	Não T ou não B	T derivada
Ploidia	Hiperdiploidia > 50	Hiperdiploidia de 47 a 50	e/ ou achados desfavoráveis da citogenética hipodiplóide 46 Pseudoploidia
Cromossomo Ph.	Ausência	e/ ou ausência	Presença

RBV: Risco Básico Verdadeiro; RB: Risco Básico; AR: Alto Risco; SNC: Sistema Nervoso Central; LHC: Linha Hemiclavicular; Cromossomo Ph: cromossomo Filadélfia.

Fonte: (OLIVEIRA, 2008).

#### 4.7 Terapias complementares

Dor associada a doenças oncohematológicas é um dos fatores presentes durante o período de tratamento. Ela pode ocorrer devido a invasão tumoral nos ossos, vísceras e sistema nervoso, provocada pelo próprio tratamento, complicações pós-quimioterápicas e pós-radioterapia, entre outros fatores (SOUZA et al., 2017).

Um estudo de intervenção investigou os impactos da fisioterapia em crianças com LLA por meio de dois instrumentos de avaliação (goniômetro e dinamômetro portátil palmar – avaliação da amplitude de movimento e força muscular, respectivamente). Foi utilizado um protocolo (com exercícios aeróbios, fortalecimento de membros inferiores e alongamentos) devido ao tempo de internação hospitalar. Obteve-se como melhora a dorsiflexão dos tornozelos e extensão dos joelhos, fatores importantes na prevenção de quedas (MARCHESE et al., 2004 apud SOUZA, 2017).

A conclusão obtida pelo estudo foi que a atividade física tem influência sobre a marcha do paciente infantil com LLA, reduzindo os efeitos causados pelo desuso e diminuindo possíveis quadros dolorosos (SOUZA et al., 2017).

#### 4.8 Prognóstico e sobrevida dos pacientes

Após a adesão de modificações na terapia baseando-se na farmacodinâmica e farmacogenômica individual do paciente foi visto aumento da taxa de sobrevida para aproximadamente 90% em pacientes pediátricos com LLA (SOUSA et al., 2015).

O prognóstico dos pacientes com LLA depende de vários fatores, com os quais é possível realizar a classificação em: baixo, intermediário e alto risco. As principais variáveis envolvidas podem ser visualizadas no quadro 12 (ALVES, 2012).

**Quadro 12 – Principais fatores prognósticos descritos para Leucemia Linfóide Aguda**

<b>Variáveis</b>	<b>Favorável</b>	<b>Desfavorável</b>
Idade	3 a 7 anos	< 1 e > 10 anos

Variáveis	Favorável	Desfavorável
Sexo	Feminino	Masculino
Leucometria	< 25.000 células/ mm <sup>3</sup>	> ou = 100.000 células/ mm <sup>3</sup>
Envolvimento no SNC	Ausente	Presente
Organomegalias (hepatoesplenomegalia)	Ausente	Presente
Massa mediastinal	Ausente	Presente
Hemoglobina	> ou = 10 g/ dL	< 10 g/ dL
Imunofenotipagem	CALLA+	T; B; Fenótipo aberrante
Classificação FAB	L1	L2; L3
LDH	< 480 UL	> ou = 480 UL
Fase	Diagnóstico	Recaída; Refratária
Translocações cromossômicas	t(12;21) ou ETV6-RUNX1 CNS-1	t(9;22) ou BCR-ABL1 iAMP21

SNC: Sistema Nervoso Central; FAB: French-American-British; CNS-1: sem linfoblastos no fluido cerebroespinal; iAMP21: amplificação intracromossômica do cromossomo 21.

Fonte: Modificado de (ALVES, 2012); (DEVITA JR.; LAWRENCE; ROSENBERG, 2015).

De acordo com Devita Jr., Lawrence e Rosenberg (2015), a leucometria favorável seria inferior a 50.000 células/ µL. Por outro lado, tornar-se-ia desfavorável uma contagem igual ou superior a 50.000 células/ µL.

O quadro 13 mostra as definições do status da doença no SNC na LLA em achados de fluido cerebroespinal.

**Quadro 13 – Definições do status da LLA no SNC em fluido cerebroespinal**

Status da doença	Definições
CNS-1	Sem linfoblastos
CNS-2	< 5 leucócitos/ µL com blastos definíveis no exame de citocentrífuga

Status da doença	Definições
CNS-3	> ou = 5 leucócitos/ $\mu$ L com células blásticas ou paralisia do nervo craniano

CNS: Sistema Nervoso Central.

Fonte: (DEVITA JR.; LAWRENCE; ROSENBERG, 2015).

Segundo Sousa e colaboradores (2015), a resposta precoce à terapia determinada pelo nível de doença residual mínima no fim da fase de indução é o fator prognóstico de maior importância na LLA.

Outros fatores de prognóstico desfavorável são: imunofenótipo pró-B, negatividade de CD10 e má resposta ao tratamento de indução (SOUSA et al., 2015).

#### 4.8.1 Novas tecnologias

Foi realizado um estudo sobre terapia com tisagenlecleucel (Kymriah<sup>®</sup>) receptor de antígeno quimérico (CAR) anti-CD19 e obteve-se altas taxas de remissão completa em crianças e adultos jovens com LLA de células B recidiva ou refratária (MAUDE et al., 2018).

Essas taxas de remissão mostraram-se duráveis e sem uso de terapia adicional nesses pacientes. A terapia foi associada a eventos tóxicos sérios, porém reversíveis, levando a cuidados em nível de UTI em alguns casos. Na maioria dos pacientes os eventos foram abrandados com medidas de suporte e bloqueio de citocinas (MAUDE et al., 2018).

A terapia gênica baseada em células com uso de Kymriah<sup>®</sup> foi aprovada nos Estados Unidos pela *U. S. Food and Drug Administration* para o tratamento de pacientes com até 25 anos de idade e LLA de células B refratária ou recidiva (FDA, 2017).

Um efeito adverso comum associado a terapias de células T CAR é a síndrome de liberação de citocinas, a qual foi observada em 88% dos pacientes segundo Maude

e colaboradores (2018), e administrada com medidas de suporte e terapia com anti-citocina, incluindo o antagonista do receptor de IL-6 (tocilizumabe).

Segundo KYMRIAH®/ Tisagenlecleucel (2018), os estudos com tisagenlecleucel demonstram eventos tóxicos sérios como síndrome de liberação de citocinas (relatada em 77% dos pacientes dentro de 8 semanas de infusão com o medicamento citado) e efeitos neurológicos, sendo que os mais observados em casos de LLA incluem: cefaleia (37%), encefalopatias (34%), delirium (21%), ansiedade (13%), distúrbios do sono (10%), tremor (9%), tontura (6%) e neuropatia periférica (4%). Os eventos neurológicos mais graves ocorrem com maior frequência em pacientes com síndrome de liberação de citocinas de alto grau. Essa síndrome apareceu em 79% dos pacientes com LLA recidiva ou refratária considerando todos os graus e em 49% de grau 3 ou mais (KYMRIAH®/ Tisagenlecleucel, 2018).

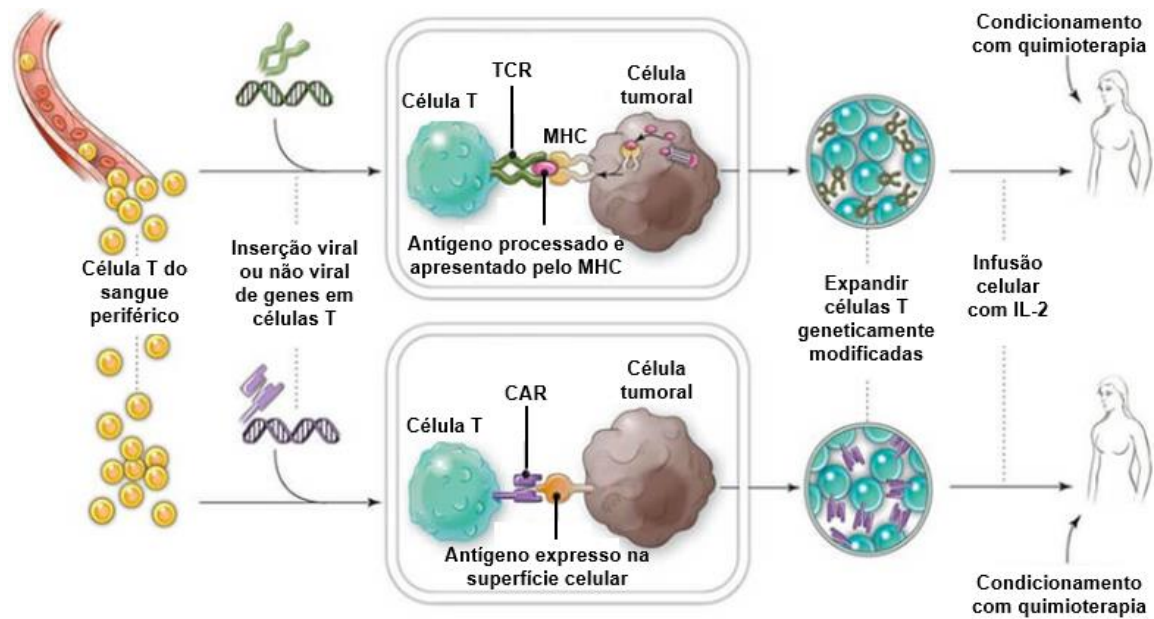
A primeira instituição a tratar com o uso de tisagenlecleucel crianças com LLA foi o Children's Hospital of Philadelphia em 2012 (NCI, 2017).

Para a realização do tratamento, primeiramente as células T do sangue do paciente são isoladas e enviadas para o processamento das mesmas, pois sofrerão modificações genéticas para produzirem a proteína CAR. Essa proteína permite que as células se liguem a CD19 (proteína presente em células tumorais) (NCI, 2017).

As células modificadas são cultivadas (ou expandidas) e enviadas de volta ao médico do paciente. O paciente então recebe a infusão das células imunes projetadas. Se o tratamento funcionar como esperado, as células T do CAR continuarão a se multiplicar, aumentando o potencial da terapia para erradicar o câncer (NCI, 2017).

A figura 25 mostra as etapas para este tratamento em comparação ao tratamento com TCR.

**Figura 25 – Construção de células T CAR e células T TCR para produção de receptores especiais em sua superfície**



TCR: receptor de células T; MHC: *Major Histocompatibility Complex*; CAR: receptor de antígeno quimérico; IL-2: interleucina 2.

Fonte: Modificado de (NCI, 2017).

## 5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma ferramenta importante no diagnóstico e subdivisão da LLA, na infância e adolescência, a partir de um painel de AcMo, entretanto, outros testes como hemograma e mielograma são fundamentais para a classificação morfológica de cada subgrupo. Já testes como cariótipo, PCR e FISH são utilizados para detecção de anormalidades genéticas.

É importante verificar, por meio de testes citogenéticos, se há polimorfismos relacionados ao metabolismo do ácido fólico atrelado ao aparecimento da LLA no paciente, pois tais polimorfismos promovem mudanças na metilação, síntese e reparo do DNA.

Devido à similaridade de manifestações osteoarticulares (sintomas reumatológicos que aparecem em crianças no início da LLA) com ARJ e familiaridade de sinais e sintomas (como anemia, trombocitopenia e/ou aumento da contagem de linfócitos) com LV é preciso realizar o diagnóstico diferencial dessas doenças com a LLA. No caso da LV esse diagnóstico deve ser realizado principalmente em áreas endêmicas.

Outras doenças que também possuem manifestações semelhantes e sinais e sintomas inespecíficos como febre reumática e lúpus eritematoso sistêmico devem ser consideradas para realização do diagnóstico diferencial.

A parte integral no tratamento de LLA é a prevenção no SNC, que ocorre por meio de quimioterapia intratecal e quimioterapia sistêmica mais intensiva (a qual somada a doses adicionais da quimioterapia intratecal vem substituindo a radioterapia de crânio).

É imprescindível o acompanhamento com endocrinologista, para prevenção, avaliação e tratamento de efeitos colaterais que possam aparecer após o tratamento, e acompanhamento com fisioterapeuta para diminuir impactos causados devido, principalmente, ao tempo de hospitalização.

O uso de tisagenlecleucel CAR mostra-se efetivo no tratamento de crianças e adultos jovens com LLA de células B recidiva ou refratária, apesar de seus efeitos tóxicos observados, os quais podem ser administrados.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALEGRE, Sarah Monte; CARVALHO, Olga Maria Fernandes de. Como Diagnosticar e Tratar Anemias: Anemia. **Revista Brasileira de Medicina**, São Paulo, v.66, n. 8, p. 229 – 237, ago. 2009. Disponível em: <[http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id\\_materia=4075](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=4075)>. Acesso em: 18 mar. 2018.

ALVES, Gabriela Vasconcelos de Andrade. **Caracterização Hematológica e Imunofenotípica em Pacientes com Leucemia Linfoblástica Aguda**. 2012. 214 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia da Saúde pelo programa de pós-graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012. Disponível em: <[https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/12648/1/GabrielaVAA\\_TESE.pdf](https://repositorio.ufrn.br/jspui/bitstream/123456789/12648/1/GabrielaVAA_TESE.pdf)>. Acesso em: 24 jul. 2018.

BAIN, Barbara J. **Células sanguíneas: Um guia prático**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2016. 491 p.

BARBOSA, Cássia Maria Passarelli Lupoli et al. Manifestações músculo-esqueléticas como apresentação inicial das leucemias agudas na infância. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 78, n. 6, p. 481 – 484, nov. / dez. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0021-75572002000600007&script=sci\\_arttext](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0021-75572002000600007&script=sci_arttext)>. Acesso em: 02 out. 2018.

BEHM, Frederick G. Classification of Acute Leukemias. PUI, Ching-Hon (ed.). In: **Treatment of Acute Leukemias: New Directions for Clinical Research**. 1 ed. Nova York: Springer, 2003. cap. 2, p. 43 – 58.

BELOTO, Nayara Carvalho Polido. **Leucemia Linfóide Aguda em crianças: Revisão Histórica, Diagnóstico e Alternativas de Tratamento**. 2010. 42 f. Monografia (Especialização em Biologia Celular e Tecidual) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010. Disponível em: <<https://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/52157/R%20-%20E%20-%20NAYARA%20CARVALHO%20POLIDO%20BELOTO.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 08 ago. 2018.

CHANGO, A. et al. A polymorphism (80G->A) in the reduced folate carrier gene and its associations with folate status and homocysteinemia. **Molecular Genetics and Metabolism**, v.70, n. 4, p. 310 – 315, ago. 2000. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10993718>>. Acesso em: 30 out. 2018.

CHIARETTI, Sabina; ZINI, Gina; BASSAN, Renato. Diagnosis and Subclassification of Acute Lymphoblastic Leukemia. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, p. 1 – 14, nov. 2014. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4235437/>>. Acesso em: 16 ago. 2018.

DANTAS, Giselly Karitta Santana et al. **Diagnóstico Diferencial da Leucemia Linfóide Aguda em Pacientes Infanto-Juvenis**. Revista da Universidade Vale do Rio Verde, Três Corações, v. 13, n. 2, p. 3 – 18. 2015. Disponível em: <<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5298238>>. Acesso em: 16 maio 2018.

DEVITA JR., Vincent T. (Ed.); LAWRENCE, Theodore S.; ROSENBERG, Steven A. **Cancer: principles & practice of oncology**. 10 ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2015. 2234 p.

DIAS, Priscila Pinheiros; SILVA, Antonio Danilo de Souza; OLIVEIRA, Jonas Sâmi de Albuquerque de. **Mortalidade Infantil por Leucemia Linfóide nas Regiões do Brasil**. Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde, v. 6, n. 1, p. 11 – 21. 2016. Disponível em: <<https://periodicos.ufrn.br/reb/article/view/9693/7091>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

FADEL, Ana Paula. Investigação Laboratorial de Leucemia Linfóide Aguda. **Academia de Ciência e Tecnologia**. 2014. Disponível em: <[http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista\\_virtual/hematologia/artapfadel.pdf](http://www.ciencianews.com.br/arquivos/ACET/IMAGENS/revista_virtual/hematologia/artapfadel.pdf)>. Acesso em: 24 jul. 2018.

FARIAS, Mariela Granero; CASTRO, Simone Martins de. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Porto Alegre, v. 40, n. 2, p. 91 – 98, abr. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbpm/v40n2/a08v40n2.pdf>>. Acesso em: 22 fev. 2017.

FDA, **U. S. Food & Drug Administration**. FDA approval brings first gene therapy to the United States, ago. 2017. Disponível em: <<https://www.fda.gov/NewsEvents/Newsroom/PressAnnouncements/ucm574058.htm>>. Acesso em: 30 out. 2018.

GALBIATTI, Ana Livia Silvia et al. **Head and neck cancer: genetic polymorphisms and folate metabolism**. Brazilian Journal of Otorhinolaryngology, São Paulo, v. 78, n. 1, p. 132 – 139, jan./ fev. 2012. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-86942012000100021&script=sci\\_arttext&tlng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1808-86942012000100021&script=sci_arttext&tlng=en)>. Acesso em: 02 jul. 2018.

GREER, John P. (Ed.) et al. **Wintrobe's clinical hematology**. 12 ed. Philadelphia: Wolters Kluwer, 2009. 2653 p.

GUERRA, Raúl David Onostre et al. Diagnóstico temprano de leucemia aguda em niños y adolescentes. **Revista de la Sociedad Boliviana de Pediatría**, La Paz, v. 54, n. 2, p. 110 – 115. 2015. Disponível em: <[http://www.scielo.org.bo/pdf/rbp/v54n2/v54n2\\_a10.pdf](http://www.scielo.org.bo/pdf/rbp/v54n2/v54n2_a10.pdf)>. Acesso em: 21 ago. 2018.

HAMERSCHLAK, Nelson. Leukemia: genetics and prognostic factors. **Jornal de Pediatría**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 4, p. 52 – 57, ago. 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0021-75572008000500008](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0021-75572008000500008)>. Acesso em: 22 fev. 2017.

HAZIN, Izabel et al. Desempenho Intelectual Pós Tratamento de Câncer: Um Estudo com Crianças. **Psicologia: Reflexão e Crítica**, Porto Alegre, v. 28, n. 3, p. 565 – 573, jul./ set. 2015. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0102-79722015000300565&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0102-79722015000300565&lang=pt)>. Acesso em: 25 jul. 2017.

HOFFBRAND, A. Victor.; MOSS, Paul. A. H.; PETTIT, J. E. **Fundamentos em hematologia**. 5. ed. Porto Alegre: Artmed, 2008. 400 p.

HOWLADER, N. et al. **Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Treatment (PDQ®) – Health Professional Version**. National Cancer Institute. 14 abr. 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/types/leukemia/hp/child-all-treatment-pdq>>. Acesso em: 04 ago. 2017.

IKEUTI, Patrícia S.; BORIM, Leila N. B.; LUPORINI, Rafael L. Dor óssea e sua relação na apresentação inicial da leucemia linfóide aguda. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São José do Rio Preto, v. 28, n. 1, p. 45 – 48, jan./ mar.

2006. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1516-84842006000100011&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1516-84842006000100011&lang=pt)>. Acesso em: 25 jul. 2017.

INCA, Instituto Nacional de Câncer. Leucemias Agudas na Infância e Adolescência. **Revista Brasileira de Cancerologia**, Mato Grosso do Sul, v. 47, n. 3, p. 245 – 257. 2001. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_47/v03/pdf/normas.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_47/v03/pdf/normas.pdf)>. Acesso em: 18 set. 2018.

INCA, Instituto Nacional de Câncer José de Alencar Gomes da Silva. **Incidência, mortalidade e morbidade hospitalar por câncer em crianças, adolescentes e adultos jovens no Brasil**: informações dos registros de câncer e do sistema de mortalidade. Rio de Janeiro: Inca, 2016. 412 p. Disponível em: <<http://www1.inca.gov.br/wcm/incidencia/2017/pdf/versao-completa.pdf>>. Acesso em: 12 nov. 2017.

KYMRIAH®/ Tisagenlecleucel: suspensão – infusão intravenosa. New Jersey: Novartis Pharmaceuticals Corporation; 2018. 1 bula de remédio. Disponível em: <<https://www.pharma.us.novartis.com/sites/www.pharma.us.novartis.com/files/kymriah.pdf>>. Acesso em: 30 out. 2018.

LAMEGO, Rosana M. et al. 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**, São Paulo, v. 32, n. 2, p. 108 – 115, maio. 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v32n2/aop40010.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2018.

LEITE, Edinalva Pereira et al. Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 7, n. 4, p. 413 – 421, out./ dez. 2007. Disponível em:

<[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-05822017000100078&lang=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-05822017000100078&lang=pt)>. Acesso em: 25 jul. 2017.

LORENZI, Therezinha Ferreira (Coord.). **Atlas de Hematologia**: clínica hematológica ilustrada. 1. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. 659 p.

MAUDE, Shannon L. et al. Tisagenlecleucel in children and Young adults with B-cell lymphoblastic leukemia. **The New England Journal of Medicine**, v. 378, n. 5, p. 439 – 448, fev. 2018. Disponível em: <<https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa1709866>>. Acesso em: 21 set. 2018.

NCI, **National Cancer Institute**. CAR T-Cell Therapy Approved for Some Children and Young Adults with Leukemia, set. 2017. Disponível em: <<https://www.cancer.gov/news-events/cancer-currents-blog/2017/tisagenlecleucel-fda-childhood-leukemia>>. Acesso em: 22 set. 2018.

NEHMY, Rosa Maria Quadros et al. A perspectiva dos pais sobre a obtenção do diagnóstico de leucemia linfóide aguda em crianças e adolescentes: uma experiência no Brasil. **Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil**, Recife, v. 11, n. 3, p. 293 – 299, jul./ set. 2011. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-38292011000300010](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-38292011000300010)>. Acesso em: 26 jul. 2017.

OLIVEIRA, Solange Uchoa de. **Perfil clínico-epidemiológico das crianças e adolescentes com leucemia linfóide aguda (LLA) em um hospital pediátrico de Fortaleza-CE**. 2008. 80 f. Dissertação (Mestrado em Saúde da Criança e do Adolescente) – Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, 2008. Acesso em: 07 set. 2018.

OLIVEIRA, Maria do Socorro Pombo de. **Estudos de polimorfismos de genes do metabolismo de folato e metilação global em leucemias pediátricas**. 2013. 11 f. Tese (Doutorado no Programa de Hematologia-Oncologia Pediátrico) – Centro de Pesquisa-INCA, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/1cda4d004775bf56bae8bf7c4f0415f8/Projeto\\_Ciclo\\_do\\_Folato\\_18-02-2014.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=1cda4d004775bf56bae8bf7c4f0415f8](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/1cda4d004775bf56bae8bf7c4f0415f8/Projeto_Ciclo_do_Folato_18-02-2014.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=1cda4d004775bf56bae8bf7c4f0415f8)>. Acesso em: 08 set. 2018.

PEDROSA, Francisco; LINS, Mecneide. Leucemia linfoide aguda: uma doença curável. **Revista Brasileira de Saúde Materno infantil**, Recife, v. 2, n. 1, p. 63 – 68, jan./ abr. 2002. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-38292002000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-38292002000100010&lng=pt&nrm=iso&tlng=pt)>. Acesso em: 25 fev.2017.

POLO-CAPUÑAY, Ana María et al. Características clínico epidemiológicas de los pacientes com Leucemia Aguda del Servicio de Hematología del Hospital Almanzor Aguinaga Asenjo. **Horizonte Medicina**, Perú, v. 14, n. 1, p. 18 – 23, jan./ mar. 2014. Disponível em: <[http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2014\\_I/Art3\\_Vol14\\_N1.pdf](http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2014_I/Art3_Vol14_N1.pdf)>. Acesso em: 22 fev. 2017.

REGO, Eduardo M.; SANTOS, Guilherme A. S. Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnostico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Ribeirão Preto, v. 31, n. 5, p. 367 – 374, out. 2009. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842009000500016&script=sci\\_abstract&tlng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842009000500016&script=sci_abstract&tlng=pt)>. Acesso em: 15 ago. 2018.

RIZZATTI, Edgar Gil; CHAUAFFAILLE, Maria de Lourdes. **Fleury**. 2009. Disponível em: <<http://www.fleury.com.br/medicos/educacao-medica/revista-medica/materias/Pages/inovacoes-na-abordagem-da-leucemia-linfoide-aguda.aspx>>. Acesso em: 28 ago. 2018.

SEITER, Karen. Acute Lymphoblastic Leukemia Staging. **Medscape**. abr. 2016. Disponível em: <<http://emedicine.medscape.com/article/2006661-overview>>. Acesso em: 26 jul. 2017.

SILVA, Rafaela Maria Seabra. **Polimorfismos em genes envolvidos no metabolismo do ácido fólico e o risco de desenvolvimento da leucemia infantil**. 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular no Programa de Pós-graduação) – Departamento de Genética do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2010. Disponível em: <<https://repositorio.ufpe.br/bitstream/123456789/19894/1/DISSERTAÇÃO%20Rafaela%20Maria%20Seabra%20Silva.pdf>>. Acesso em: 10 set. 2018.

SILVEIRA, Neiva Albertina da; ARRAES, Sandra Mara Alessi Aristides. A Imunofenotipagem no Diagnóstico Diferencial das Leucemias Agudas: Uma Revisão. **Arquivos do Museu Dinâmico Interdisciplinar**, Paraná, v.12, n. 1, p. 5 – 14. 2008. Disponível em: <<http://eduem.uem.br/laboratorio/ojs/index.php/ArqMudi/article/view/19208/9995>>. Acesso em: 20 mar. 2018.

SOUSA, Daniel Willian Lustosa de et al. Acute lymphoblastic leucemia in children and adolescents: prognostic factors and analysis of survival. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, São Paulo, v. 37, n. 4, p. 223 – 229, jul./ ago. 2015. Disponível em: <<http://www.rbhh.org/pt/acute-lymphoblastic-leukemia-in-children/articulo/S1516848415000547/>>.

SOUZA, Jaqueline Augusto Ferreira de et al. Atuação da fisioterapia no controle da dor no câncer infantil: uma revisão de literatura. **Revista Pesquisa e Ação**, Mogi das Cruzes, v. 3, n. 2, p. 73 – 83, dez. 2017. Disponível em: <<https://revistas.brazcubas.br/index.php/pesquisa/article/view/319/457>>. Acesso em: 21 set. 2018.

SUÁREZ, Vianed Marsán et al. Correlación entre morfología y citometría de flujo en la Leucemia Linfóide Aguda Infantil. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, Ciudad de la Habana, v. 32, n. 4, out./ dez. 2016. Disponível em: <[http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892016000400007](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892016000400007)>. Acesso em: 08 set. 2018.

TERWILLIGER, Toby Dylan.; ABDUL-HAY, Mohammad Maher. Acute lymphoblastic leukemia: a comprehensive review and 2017 update. **Blood Cancer Journal**, Nova York, v. 7, n.6, p. e577, jun. 2017. Disponível em: <<http://www.nature.com/articles/bcj201753>>. Acesso em: 09 mar. 2018.

VASCONCELOS, Gisele Moledo de et al. The concurrent occurrence of *Leishmania chagasi* infection and childhood acute leukemia in Brazil. **Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 5, p. 356 – 362, set. 2014. Disponível em: <<http://www.rbhh.org/pt/the-concurrent-occurrence-leishmania-chagasi/articulo/S1516848414000863/>>. Acesso em: 14 jul. 2018.

VIEIRA, Tállita Meciany Farias. **RFC1 RS1051266 (80G>A0, SHMT1 RS1979277 (1420C>T) e MTHFR RS1801133 (677C>T) aumentam o risco para LLA da primeira infância**. 2013. 89 f. Dissertação (Mestrado em Oncologia do Programa de Pós-Graduação em Oncologia) – Instituto Nacional de Câncer José Gomes da Silva, Rio de Janeiro, 2013. Disponível em: <

<http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/62151000463069ffae46ee2d43a04cdb/Disertacao+Tallita+Meciany.pdf?MOD=AJPERES&CACHEID=62151000463069ffae46ee2d43a04cdb>>. Acesso em: 10 ago. 2017.

VIZCAÍNO, Yalena Prado et al. Farmacogenética aplicada al tratamiento de la leucemia linfocítica aguda. **Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia**, Ciudad de la Habana, v. 27, n. 3, p. 283 – 290, jul./set. 2011. Disponível em: [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-02892011000300003](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892011000300003)>. Acesso em: 08 set. 2018.

VIZCAÍNO, Martha et al. Guía de atención integral para la detección oportuna, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de leucemia linfocítica aguda em niños, niñas y adolescentes. **Revista Colombiana de Cancerología**, Bogotá, v. 20, n. 1, p. 17 – 27, jan./jun. 2016. Disponível em: [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-90152016000100004&lang=pt](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-90152016000100004&lang=pt)>. Acesso em: 22 fev. 2017.