



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**GABRIEL VIANA DE ANDRADE**

**PERFIL IMUNOFENOTÍPICO E CORRELAÇÃO CLÍNICA  
NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA DA CRIANÇA E  
ADOLESCENTE**

**ARACAJU-SE**

**2013**

**GABRIEL VIANA DE ANDRADE**

**PERFIL IMUNOFENOTÍPICO E CORRELAÇÃO  
CLÍNICA NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA  
DA CRIANÇA E ADOLESCENTE**

Monografia apresentada ao Departamento de Medicina da Universidade Federal de Sergipe como pré-requisito obrigatório para obtenção de título de bacharel em Medicina.

**Orientadora:** Prof. Dra. Rosana Cipolotti

**ARACAJU-SE**

**2013**

**GABRIEL VIANA DE ANDRADE**

**PERFIL IMUNOFENOTÍPICO E CORRELAÇÃO  
CLÍNICA NA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA  
DA CRIANÇA E ADOLESCENTE**

Monografia apresentada ao Departamento de Medicina da  
Universidade Federal de Sergipe como pré-requisito  
obrigatório para obtenção de título de bacharel em  
Medicina.

---

Gabriel Viana de Andrade  
Graduando

---

Prof. Dra. Rosana Cipolotti  
Orientadora

Aprovada em: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

---

Prof. Osvaldo Alves de Menezes Neto  
Examinador

Dedico este trabalho a meu pai, Cellini Marcos, pelo exemplo de integridade, ética e determinação, por sempre me incentivar a perseverar para alcançar meus objetivos, e pelo apoio financeiro que me permitiu chegar até aqui.

“E, aquele

Que não morou nunca em seus próprios abismos

Nem andou em promiscuidade com os seus fantasmas

Não foi marcado. Não será exposto

Às fraquezas, ao desalento, ao amor, ao poema.”

Manoel de Barros

“Aqueles que passam por nós, não vão sós, não nos deixam sós. Deixam um pouco de si, levam um pouco de nós.”

O Pequeno Príncipe

“Medicina é a arte da incerteza e a ciência da probabilidade.”

Sir William Osler

## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, pelos valores morais repassados e pelo suporte essencial durante todo o meu percurso até aqui.

À querida orientadora, Dra. Rosana Cipolotti, pela sensatez, paciência e dignidade, sem as quais este trabalho não poderia ter se concretizado.

À Leyla Manoella de Lima, pelo grande apoio, fundamental para a execução deste trabalho.

À Dra. Simone Viana, pelo importante auxílio durante a realização deste trabalho.

A Artur de Souza Araújo, pela parceria nos momentos bons e ruins e pela força que me deu até este momento.

Aos amigos, pelos conselhos, risadas e apoio durante todo o curso. Agradeço por terem sempre estado ao meu lado, suavizando a difícil trajetória que me trouxe até aqui.

## LISTA DE TABELAS

### ARTIGO CIENTÍFICO

Tabela 1 – Variáveis categóricas epidemiológicas, laboratoriais e prognósticas dos pacientes com LLA .....	53
Tabela 2 – Variáveis numéricas epidemiológicas, laboratoriais e prognósticas dos pacientes com LLA .....	54
Tabela 3 – Comparação entre grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável quanto às variáveis categóricas .....	54
Tabela 4 – Comparação entre grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável quanto às variáveis numéricas .....	55
Tabela 5 – Comparação entre grupos de imunofenótipo T e B quanto às variáveis categóricas .....	55
Tabela 6 – Comparação entre grupos de imunofenótipo T e B quanto às variáveis numéricas .....	56

## **LISTA DE QUADROS**

### **REVISÃO DA LITERATURA**

Quadro 1 – Esquema terapêutico do protocolo GBTLI-99 para pacientes com baixo risco de recaída ..... 25

Quadro 2 – Esquema terapêutico do protocolo GBTLI-99 para pacientes com alto risco de recaída ..... 26

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>BFM</b>	Berlim-Frankfurt-Munique
<b>CALLA</b>	<i>Common acute lymphoblastic leukemia antigen</i>
<b>CD</b>	<i>Cluster of designation</i>
<b>CIOMS</b>	<i>Council for international organizations of medical sciences</i>
<b>CMF</b>	Citometria de fluxo
<b>COBEA</b>	Colégio brasileiro de experimentação animal
<b>CONEP</b>	Comissão nacional de ética em pesquisa
<b>DCOG</b>	<i>Dutch child oncology group</i>
<b>DeCS</b>	Descritores em ciências da saúde
<b>EGIL</b>	<i>European group for the immunological classification of leukemia</i>
<b>FITC</b>	Isocianato de fluoresceína
<b>FAB</b>	<i>French-American-British</i>
<b>GBTLI</b>	Grupo brasileiro de tratamento das leucemias na infância
<b>HLA</b>	<i>Human leukocyte antigen</i>
<b>ICMJE</b>	<i>International Committee of Medical Journal Editors</i>
<b>ICTRP</b>	<i>International Clinical Trials Registry Platform</i>
<b>LDH</b>	Lactato desidrogenase
<b>MeSH</b>	<i>Medical Subject Headings</i>
<b>LLA</b>	Leucemia linfóide aguda
<b>MADIT</b>	Metotrexato, citarabina e dexametazona intratecais
<b>OMS</b>	Organização Mundial de Saúde
<b>PAS</b>	Ácido periódico-Schiff
<b>RX</b>	Raios X
<b>SmIg</b>	Imunoglobulina de superfície
<b>SNC</b>	Sistema nervoso central
<b>TdT</b>	Deoxinucleotidil-transferase terminal
<b>WHO</b>	<i>World Health Organization</i>

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	<b>11</b>
<b>2. REVISÃO DA LITERATURA</b> .....	<b>15</b>
<b>2.1 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.2 EPIDEMIOLOGIA DA LLA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.3 ETIOLOGIA DA LLA</b> .....	<b>16</b>
<b>2.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS</b> .....	<b>17</b>
<b>2.5 DIAGNÓSTICO DA LLA</b> .....	<b>17</b>
<b>2.6 CLASSIFICAÇÃO DA LLA</b> .....	<b>18</b>
<b>2.6.1 MORFOLOGIA</b> .....	<b>19</b>
<b>2.6.2 IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO</b> .....	<b>19</b>
<b>2.6.3 CITOGENÉTICA</b> .....	<b>21</b>
<b>2.7 TRATAMENTO DA LLA</b> .....	<b>22</b>
<b>2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....	<b>27</b>
<b>3. REGRAS PARA PUBLICAÇÃO</b> .....	<b>33</b>
<b>3.1 REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2 PREPARAÇÃO DOS MANUSCRITOS</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2.1 INFORMAÇÕES GERAIS</b> .....	<b>34</b>
<b>3.2.2 REQUISITOS TÉCNICOS</b> .....	<b>35</b>
<b>3.2.2.1 IDENTIFICAÇÃO DO ARTIGO</b> .....	<b>35</b>
<b>3.2.2.2 RESUMO E ABSTRACT</b> .....	<b>36</b>
<b>3.2.2.3 TEXTO</b> .....	<b>36</b>
<b>3.2.2.4 AGRADECIMENTOS</b> .....	<b>37</b>
<b>3.2.2.5 REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>
<b>3.2.3 EXEMPLOS DE REFERÊNCIAS</b> .....	<b>37</b>
<b>3.2.3.1 DOCUMENTOS IMPRESSOS</b> .....	<b>37</b>
<b>3.2.3.2 DOCUMENTOS ELETRÔNICOS</b> .....	<b>38</b>
<b>3.3 SUBMISSÃO</b> .....	<b>38</b>
<b>4. ARTIGO CIENTÍFICO</b> .....	<b>40</b>
<b>4.1 RESUMO</b> .....	<b>42</b>
<b>4.2 ABSTRACT</b> .....	<b>42</b>
<b>4.3 INTRODUÇÃO</b> .....	<b>43</b>

<b>4.4 MÉTODOS .....</b>	<b>45</b>
<b>4.5 RESULTADOS .....</b>	<b>46</b>
<b>4.6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
<b>4.7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>49</b>
<b>4.8 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>50</b>
<b>4.9 TABELAS .....</b>	<b>53</b>

## **1. INTRODUÇÃO**

---

As leucemias linfoblásticas agudas (LLA) originam-se de células precursoras de linfócitos T ou B, encontradas principalmente na medula óssea, timo e gânglios linfáticos (LORENZI, 1999; UCKUN *et al*, 1998) e apresentam características imunofenóticas e morfológicas comuns a tais linhagens (SWERDLOW *et al*, 2008). É mais prevalente na infância, no sexo masculino e tem pico de incidência entre 2 a 5 anos de idade (GURNEY *et al*, 1995). A LLA de células precursoras da linhagem B é o tipo mais comum. Quando administrados os esquemas terapêuticos adequados a taxa de sobrevida geral é de aproximadamente 80% em crianças (PUI *et al*, 2004).

A LLA manifesta-se através do acúmulo e invasão da medula óssea e do acometimento do sangue periférico por células neoplásicas em diferentes etapas de maturação (SWERDLOW *et al*, 2008). A invasão medular leva à substituição das células hematopoiéticas normais por blastos neoplásicos disfuncionantes, com comprometimento da hematopoese normal (FARIAS; CASTRO, 2004). Isso causa alguns dos principais sintomas da doença, como a hemorragia por plaquetopenia, fadiga por anemia, e infecções por leucopenia (PUI *et al*, 2004).

O diagnóstico da LLA se dá pela combinação de história clínica, exame físico e exames laboratoriais, como hemograma, coagulograma, bioquímica, sorologias, punção líquórica, LDH e RX de tórax (LEE; PETRILLI, 2004). O diagnóstico definitivo se fundamenta no achado de mais de 25% de linfoblastos no aspirado de medula óssea (INSTITUTO NACIONAL DO CANCER – INCA, 2001). As leucemias agudas podem ser diagnosticadas e classificadas por análises morfológicas, imunológicas, citogenéticas e citoquímicas (AMARE *et al*, 1999).

A imunofenotipagem é uma técnica que identifica antígenos celulares de células leucêmicas. Assim, blastos neoplásicos identificados pela morfologia podem ser classificados de acordo com a sua linhagem e com o nível de diferenciação clonal, tornando possível o diagnóstico e a classificação das leucemias agudas em 99% dos casos (CARROLL *et al*, 2003).

A técnica modificou drasticamente o prognóstico de alguns subtipos de LLA, pois auxilia na identificação de pacientes que se beneficiariam com um tratamento mais ou menos tóxico (CARROLL *et al*, 2003) e possibilita a implantação de protocolos terapêuticos específicos (THALHAMMER-SCHERRER *et al*, 2002). Associada à citogenética, a imunofenotipagem também permite que se estime o prognóstico, a taxa de remissão completa da doença durante o tratamento e a sobrevida do paciente (WARD, 1993; DE ZEN *et al*, 2000).

Os muitos estudos anteriores apresentam resultados obtidos em serviços altamente especializados, e frequentemente com perfil genético mais definido. Por essa razão, o presente estudo avaliou o impacto clínico das variantes imunofenóticas no prognóstico de pacientes

com LLA do setor de oncologia pediátrica de um hospital geral, referência para o Sistema Único de Saúde em um estado da região nordeste do Brasil.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARE, P. et al. Clinical significance of cytogenetic findings at diagnosis and in remission in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia; experience from India. **Cancer Genetic Cytogenetic**, v. 110, n. 1, p. 44-53, 1999.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer facts and figures**. Cancer. 2008. Disponível em: <<http://www.cancer.org>>. Acesso em: 14 out. 2012.

CARROLL, W. L. et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology**, v. 2003, n. 1, p.102-131, 2003.

DE ZEN, L. et al. Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia: Correlation with specific genotype. I. ETV6/AML1 ALLs identification. **Leukemia**, v. 14, n. 7, p. 1225-31, 2000.

FARIAS, M. G; CASTRO, S. M. Diagnóstico Laboratorial das Leucemias Linfóides. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 91-98, abr. 2004.

GURNEY, J. G. et al. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. **Cancer**, v. 75, n. 8, p. 2186-95, 1995.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Leucemias agudas na infância e adolescência: condutas do INCA/MS. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 3, p. 245-257, 2001.

LEE, M. L. M.; PETRILLI, A. S.; O tratamento da criança com câncer no Brasil: debate da migração. **Pediatria, São Paulo**, v. 26, n. 1, p. 11-12, 2004.

LORENZI, T. F. **Manual de Hematologia**: propedêutica clínica. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.

PUI, C. H.; RELLING, M. V.; DOWNING, J. R. Acute lymphoblastic leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 15, p. 1535-48, 2004.

SWERDLOW, S. H. et al. **WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. 4. ed. Lyon: IARC Press, 2008.

THALHAMMER-SCHERRER, R. et al. The immunophenotype of 325 adult acute leukemias: Relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 117, n. 3, p. 380-9, 2002.

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

WARD, M. S. The use of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of malignant hematological disorders. **Pathology**, v. 31, n. 4, p. 382-92, 1999.

## **2. REVISÃO DA LITERATURA**

---

## 2.1 LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA

As leucemias agudas são um conjunto de neoplasias que surgem em decorrência de um defeito na maturação de células precursoras hematopoiéticas, com proliferação clonal das células neoplásicas (AMARE *et al*, 1999).

As leucemias linfoblásticas agudas (LLA) originam-se de células precursoras de linfócitos T ou B, encontradas principalmente na medula óssea, timo e gânglios linfáticos (LORENZI, 1999; UCKUN *et al*, 1998), e apresentam características imunofenotípicas e morfológicas comuns a tais linhagens (SWERDLOW *et al*, 2008).

## 2.2 EPIDEMIOLOGIA DA LLA

A LLA é mais prevalente na infância, correspondendo a 75% das leucemias agudas e a 34% do total de neoplasias nessa faixa etária, e tem pico de incidência entre 2 a 5 anos de idade (GURNEY *et al*, 1995). Nos adultos e idosos, a LLA é menos frequente, com incidência aproximada de 20%, sendo as leucemias mielóide aguda e linfóide crônica mais prevalentes (LORENZI, 1999; UCKUN *et al*, 1998).

Nos primeiros 10 anos de vida, uma criança possui risco de desenvolver leucemia de 1:2.880. A LLA incide em uma frequência de 1:25.000 na faixa etária de 0 a 14 anos (LOPES, 2000).

Em crianças, existe um predomínio de LLA de células precursoras da linhagem B (80-85%) e, em 15% dos casos, encontra-se LLA de células precursoras da linhagem T (PUI *et al*, 2004). Muito raramente, observa-se a presença de antígenos de ambas as linhagens mielóide e linfóide em um mesmo blasto, caracterizando a leucemia híbrida, mista ou bifenotípica (KILLICK *et al*, 1999; LEE *et al*, 2003).

Observa-se uma leve predominância da LLA em crianças do sexo masculino e na raça branca (GURNEY *et al*, 1995; AMERICAN CANCER SOCIETY, 2009).

Quando administrados os esquemas terapêuticos adequados a taxa de sobrevivência geral é de aproximadamente 80% em crianças (PUI *et al*, 2004). Em adultos o prognóstico é pior e a taxa de sobrevivência geral é de 40 a 50% (GOKBUGET; HOELZER, 2009).

## 2.3 ETIOLOGIA DA LLA

A etiologia da LLA ainda não foi precisamente determinada. Alguns estudos sugerem que a neoplasia seja decorrente de agressões advindas do meio ambiente, como radiações ionizantes, quimioterápicos e o benzeno. Existe também a hipótese de que a origem da LLA decorre de modificações genéticas nas células precursoras da linhagem linfóide causada por

vírus. É bastante evidente a associação da leucemia linfóide aguda com algumas anormalidades genéticas, como a síndrome de Down, a síndrome de Bloom e a anemia de Fanconi (CRANS; SAKAMOTO, 2001).

## **2.4 MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS DA LLA**

A LLA manifesta-se através do acúmulo e invasão da medula óssea e do acometimento do sangue periférico por células neoplásicas em diferentes etapas de maturação (SWERDLOW *et al*, 2008). A invasão medular leva à substituição das células hematopoiéticas normais por blastos neoplásicos disfuncionantes, com comprometimento da hematopoese normal (FARIAS; CASTRO, 2004). Isso causa alguns dos principais sintomas da doença, como a hemorragia por plaquetopenia, fadiga por anemia, e infecções por leucopenia (PUI *et al*, 2004).

O quadro clínico normalmente se instala agudamente e pode vir acompanhado de outros sintomas. Pode haver febre, decorrente da própria neoplasia ou de infecções, petéquias e equimoses, dor óssea, artralgia e comprometimento do sistema nervoso central. Também é frequente a infiltração em outros tecidos, como linfonodos, testículos, fígado, baço, meninges e órbita ocular (PUI *et al*, 2004; QUADE, 2002).

A dor óssea pode ser o primeiro sintoma da doença em 25% dos casos e ocorre devido à infiltração do periósteo principalmente de ossos longos, ou por hemorragia óssea (MARGOLIN; POPLACK, 1997).

Nas neoplasias da linhagem T, é comum a presença de massa mediastinal, que eventualmente pode levar à compressão da veia cava superior, derrame pleural e sintomas respiratórios. Laboratorialmente, encontra-se elevação do LDH e ácido úrico, anemia, plaquetopenia, leucocitose ou leucopenia e neutropenia (PUI *et al*, 2004).

## **2.5 DIAGNÓSTICO DA LLA**

O diagnóstico da LLA se dá pela combinação de história clínica, exame físico e exames laboratoriais, como hemograma, coagulograma, bioquímica, sorologias, punção líquórica, LDH e RX de tórax (LEE; PETRILLI, 2004). O diagnóstico definitivo se fundamenta no achado de mais de 25% de linfoblastos no aspirado de medula óssea (INSTITUTO NACIONAL DO CANCER - INCA, 2001). As leucemias agudas podem ser diagnosticadas e classificadas por análises morfológicas, imunológicas, citogenéticas e citoquímicas (AMARE *et al*, 1999).

O diagnóstico e a classificação de grande parte dessas neoplasias podem ser feitos apenas com base na análise morfológica e citoquímica. Entretanto, devido à dificuldade em reproduzir tais critérios e em classificar alguns pacientes, tem-se utilizado atualmente a

imunofenotipagem por citometria de fluxo na caracterização de subgrupos que não podem ser classificados pela morfologia e/ou citoquímica (OKUDA *et al*, 1995; CZUCZMAN *et al*, 1999).

Ao hemograma, pode-se observar trombocitopenia e anemia normocítica e normocrômica. Os pacientes podem apresentar leucopenia, leucometria normal, ou, mais raramente, leucocitose (HEISTERKAMP *et al*, 2000). Nos pacientes com leucometria elevada, pode-se encontrar grande quantidade de blastos (RIZZATTI; ZAGO, 2002).

Ao mielograma, observa-se hiperplasia, com contagem de linfoblastos superior a 25% (FALCÃO; REGO, 2002; LEE *et al*, 1998).

Levando em consideração os aspectos morfológicos, pode-se classificar as leucemias com base no diâmetro celular, protuberância e número dos nucléolos, forma do núcleo e quantidade e aspecto relativos do citoplasma (FALCÃO; REGO, 2002).

A avaliação citoquímica utiliza reações de *Sudan black* e de mieloperoxidase. Ao contrário dos mieloblastos, os linfoblastos apresentam-se negativos à tais reações (LEE *et al*, 1998). O ácido periódico de Schiff (PAS) também é útil para identificação de células da linhagem linfóide, já que elas apresentam seu glicogênio corado em forma de grânulos grosseiros, anéis concêntricos ou blocos maciços (LORENZI, 1999).

## 2.6 CLASSIFICAÇÃO DA LLA

Idade, índice de massa tumoral, contagem de leucócitos, acometimento do SNC (PUI *et al*, 2004), hepatoesplenomegalia e a presença de massa mediastinal anterior são variáveis clínicas clássicas que interferem no prognóstico do paciente (PUI *et al*, 1988; OKUDA *et al*, 1995). Entretanto, dentro desses reconhecidos grupos de risco, existem subgrupos determinados pelo cariótipo, imunofenótipo e anormalidades genéticas, que exibem comportamento clínico e prognóstico distintos (AMARE *et al*, 1999).

Foram propostas diversas formas para classificação da LLA. O *European Group for the Immunological Classification of Leukemias* (EGIL) propõe a classificação com base somente na técnica de imunofenotipagem.

Em 2001, a Organização Mundial da Saúde (OMS) propôs uma classificação baseada em critérios morfológicos, imunológicos, citogenéticos e moleculares (JAFFE *et al*, 2001). A LLA do tipo B classifica-se em: pró-B, comum, pré-B e B maduro (LUDWING *et al*, 1998). As leucemias da linhagem T são subdivididas em: pré-T, T-intermediário e T-maduro (RODAK, 1995).

### 2.6.1 MORFOLOGIA

O grupo *French-American-British* (FAB), defende a análise morfológica e citoquímica, complementada com a imunofenotipagem (QADIR *et al*, 2006). As leucemias linfoblásticas foram classificadas em subtipos L1, L2 e L3 (FALCÃO; REGO, 2002).

O tipo L1 apresenta predomínio de linfoblastos pequenos e homogêneos, com cromatina fina ou aglomerada, núcleo regular e citoplasma escasso. (LEE *et al*, 1998). É o subtipo mais comum em crianças, representando 85% dos casos (MEADOWS *et al*, 1995). O subtipo L2 caracteriza-se pela presença de linfoblastos grandes e heterogêneos, com cromatina fina, núcleo irregular, nucléolos grandes e citoplasma abundante. O subtipo L3 apresenta predomínio de linfoblastos grandes e homogêneos, com cromatina fina, núcleo regular, nucléolos grandes e citoplasma abundante (LEE *et al*, 1998).

### 2.6.2 IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO

A imunofenotipagem é uma técnica que identifica antígenos celulares de células leucêmicas. Através da imunofenotipagem por citometria de fluxo (CMF), blastos neoplásicos identificados pela morfologia podem ser classificados de acordo com a sua linhagem e com o nível de diferenciação clonal. Assim, é possível diagnosticar e classificar as leucemias agudas em 99% dos casos. A técnica modificou drasticamente o prognóstico de alguns subtipos de LLA, pois auxilia na identificação de pacientes que se beneficiariam com um tratamento mais ou menos tóxico (CARROLL *et al*, 2003) e possibilita a implantação de protocolos terapêuticos específicos (THALHAMMER-SCHERRER *et al*, 2002). Associada à citogenética, a imunofenotipagem também permite que se estime o prognóstico, a taxa de remissão completa da doença durante o tratamento e a sobrevida do paciente (WARD, 1993; DE ZEN *et al*, 2000).

Os antígenos de superfície CD19, CD10, CD22 e CD79a são específicos à linhagem B, enquanto que os antígenos CD2, CD3, CD5 e CD7 são específicos à linhagem T (LORENZI, 2006).

A LLA da linhagem B é subdividida em pró-B, comum, pré-B e B maduro (FALCÃO; REGO, 2002). O tipo comum, ou CALLA, é o mais encontrado na infância. Corresponde a 75% dos casos em crianças e adolescentes e a 50% dos casos em adultos. É o subtipo relacionado com o melhor prognóstico na LLA em crianças e adolescentes. Apresenta os antígenos CD10, CD22 (c), CD19 e/ou CD20 (CRIST *et al*, 1985).

O tipo pré-B está presente em 15% das crianças e em 10% dos adultos com LLA (FALCÃO; REGO, 2002) e associa-se a mau prognóstico (GARAND; BÉNÉ, 1993). Apresenta cadeia  $\mu$  citoplasmática juntamente com os antígenos CD10, CD19, CD20 (KOTILO, 1995).

O tipo pró-B acomete 5% das crianças e 10% dos adultos com LLA, e apresentam os antígenos HLA-DR, *Terminal Desoxinucleotidil Transferase* (TdT), CD19, CD22 e CD34 (FALCÃO; REGO, 2002).

O tipo maduro acomete 2% das crianças e 5% dos adultos com LLA, apresenta cadeias leves de imunoglobulina (SmIg) em sua superfície de membrana (FALCÃO; REGO, 2002) e tem prognóstico desfavorável, justificado por uma resposta terapêutica pobre, baixa sobrevida e acometimento freqüente do sistema nervoso central. Esse último tipo assemelha-se ao linfoma de Burkitt por apresentar as mesmas translocações cromossômicas e características morfológicas (LEE, 1998).

As neoplasias da linhagem T são menos comuns e associam-se a pior prognóstico em crianças em relação às da linhagem B. Necessitam, portanto, de um esquema terapêutico mais agressivo (GARAND; BÉNÉ, 1993) e têm forte associação com massa mediastinal, leucócitos elevados, e acometimento do SNC (LEE *et al*, 1998; CAVALCANTI JUNIOR *et al*, 1997). Subdividem-se em: pré-T, T-intermediário e T-maduro.

O tipo pré-T apresenta os antígenos CD7, CD2, CD5 e TdT na superfície celular e o antígeno CD3 no citoplasma. O tipo T-intermediário apresenta os antígenos CD3c, CD2, CD1a, e pode haver co-expressão dos antígenos CD4 e CD8. O tipo T-maduro apresenta os antígenos CD2, CD5, CD7, CD3, e tem positividade dupla para os antígenos CD4 e CD8. (KOTILO, 1995).

O citômetro de fluxo é um equipamento composto por suspensões de células sanguíneas marcadas com anticorpos fluorescentes, um laser, fotodetectores e um computador para processamento de dados. O computador elabora de gráficos e histogramas que possibilitam a avaliação de diferentes populações celulares dentro de uma mesma amostra (HARMENING, 1997; ORFAO *et al*, 1995).

As amostras de células hematopoiéticas podem ser obtidas da medula óssea ou do sangue periférico. Posteriormente, deve ser adicionada à amostra uma solução hipotônica que destrói os eritrócitos, já que glóbulos vermelhos intactos alteram a dispersão da luz e modificam os resultados (ORFAO *et al*, 1999; REILLY; BARNETT, 2001).

As células sanguíneas movem-se em fila por um canal de fluxo a aproximadamente  $10^5$  a  $10^6$  células por minuto. O fluxo celular percorre detectores de fluorescência, enquanto o desvio da luz incidente sobre as células é analisado (HARMENING, 1997). Essa análise é multiparamétrica, e são observados parâmetros qualitativos e quantitativos após uso de anticorpos monoclonais marcados com substâncias fluorescentes (o isotiocianeto de fluoresceína (FITC) e a ficoeritrina) (HARRIS *et al*, 1999). A utilização de substâncias fluorescentes

(fluorocromos) diferentes, com comprimentos de onda distintos, permite que se avalie, em uma mesma amostra, mais de uma população celular (REILLY; BARNETT, 2001).

A CMF permite a obtenção de informações precisas sobre conteúdo de DNA e RNA, susceptibilidade a drogas, conteúdo citoplasmático e antígenos celulares. Divide-se os parâmetros celulares em dois grupos: informações obtidas através de anticorpos monoclonais fluorescentes, como linhagem celular, grau de diferenciação, expressão de proteínas apoptóticas e ploidia; e dados obtidos através da dispersão da luz, como complexidade interna e tamanho celular (ORFAO *et al*, 1995).

A CMF é uma técnica bastante rápida, precisa, sensível, e não-operador dependente, o que elimina possíveis inconsistências relacionadas à interpretação dos achados por um microscopista (ORFAO *et al*, 1999). Além das leucemias linfoblásticas agudas, a CMF também pode ser utilizada para o diagnóstico primário de leucemias agudas, crises blásticas, desordens mieloproliferativas crônicas, síndromes mielodisplásicas, desordens linfoproliferativas crônicas e linfomas não-Hodgkin (ORFAO *et al*, 1999; RUIZ-ARGÜELLES *et al*, 2006).

Os padrões fenotípicos diferenciam células hematopoéticas normais e patológicas (ORFAO *et al*, 1999). As células leucêmicas apresentam um bloqueio em algum estágio de seu processo de maturação, e seu imunofenótipo corresponde ao de células normais imaturas (JORDAN, 2002; MCKENNA, 2000). Os imunofenótipos aberrantes correspondem às alterações genéticas presentes. As aberrações incluem: antígenos mielóides e linfóides numa mesma célula, fenótipos ectópicos, assincronia de expressão gênica e diferenciação anormal (ORFAO *et al*, 1999).

A padronização da CMF é necessária para que se evite alterações nos resultados provocadas por diferentes protocolos de preparação de amostras e reagentes, tipo e qualidade da amostra e subjetividade na interpretação dos resultados (ORFAO *et al*, 1999; REILLY; BARNETT, 2001).

### **2.6.3 CITOGENÉTICA**

As anormalidades cromossômicas influenciam no prognóstico do paciente com LLA de forma independente (PUI *et al*, 1988). As alterações que mais se associam a um prognóstico ruim são as translocações cromossômicas, que aumentam em até seis vezes as chances de falha terapêutica precoce (WILLIAMS, 1986).

A translocação t(9;22), que origina o cromossomo Philadelphia, está quase sempre associada à LLA de linfócitos pré-B (FALCÃO; REGO, 2002). Associa-se à expressão do marcador CD25. Corresponde a 30% dos casos em adultos e 3 a 5% das crianças com LLA

(BRUMPT *et al*, 2000) e associa-se a mau prognóstico (SOUZA *et al*, 2008). É a translocação mais freqüente em adultos com LLA (NAKASE *et al*, 1997).

A alteração t(4;11) (q21;q23), responsável pelo rearranjo MLL/AF4, confere prognóstico desfavorável. Está presente em 60% das LLAs em crianças com idade inferior a um ano (FADERL *et al*, 1998). Ocorre em aproximadamente 25% dos casos de LLA do tipo pró-B que co-expressa marcadores da linhagem mielóide, mais frequentemente o CD15 (HRUSAK; PORWIT-MACDONALD, 2002; LENORMAND, 1998).

A translocação t(12;21) (p13;q22), que resulta no gene de fusão TEL-AML1 e associa-se a bom prognóstico, está presente na LLA do tipo comum e na LLA pré-B que expressa os antígenos CD33 e/ou CD13 (HRUSAK; PORWIT-MACDONALD, 2002).

O antígeno CD9 é encontrado com frequência nos casos que contêm o rearranjo MLL/AF4 e está tipicamente ausente na translocação t(12;21). A não-expressão deste marcador é sinal de um prognóstico favorável (HRUSAK; PORWIT-MACDONALD, 2002).

Alterações e mutações no p53, bem como a existência de superexposição do oncogene HDM2, associam-se a péssimo prognóstico em LLA dos tipos B e T (RAMAKERS-VAN WOERDEN *et al*, 2000).

## 2.7 TRATAMENTO DA LLA

O primeiro protocolo quimioterápico brasileiro multicêntrico surgiu na década de 1980, juntamente com o Grupo Cooperativo Brasileiro de Tratamento de Leucemia Linfóide Aguda na Infância (GBTLI-LLA-80). Posteriormente, mais três estudos multicêntricos foram realizados (GBTLI-82, 85 e 93), e a sobrevida livre de eventos aumentou de 50% para 70% (LEE; PETRILLI, 2004). Recentemente, baseando-se nos estudos anteriores, surgiu o protocolo GBTLI-LLA-99, que atingiu índice de sobrevida livre de eventos em cinco anos de 80,2% (BRANDALISE, 2007).

O protocolo quimioterápico do Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia na Infância (GBTLI – LLA99) foi atualizado em 2011, e divide os pacientes em dois grupos: alto risco e baixo risco (LEE; PETRILLI, 2004).

Alto risco: pacientes com mais que 50.000/mm<sup>3</sup> leucócitos ao diagnóstico, idade maior que 9 anos e menor que 1 ano, resposta lenta ao tratamento (número de leucócitos maior ou igual a 5000/mm<sup>3</sup> no dia 7), acometimento extramedular ao final da indução, blastos no sangue periférico no dia 14, comprometimento medular intenso no dia 14 (CAZÉ *et al*, 2010).

Baixo risco: pacientes com idade entre 1 e 9 anos, menos que 50000/mm<sup>3</sup> leucócitos ao diagnóstico; menos que 5000/mm<sup>3</sup> leucócitos no dia 7; ausência de blastos no sangue periférico

no dia 14; comprometimento medular intenso no dia 14; se houver acometimento do SNC ao diagnóstico, ausência de blastos no líquido ao dia 14 (CAZÉ *et al*, 2010).

Os protocolos quimioterápicos mais recentes utilizados no tratamento da LLA possuem 5 fases: indução de remissão, intensificação-consolidação, reindução, prevenção da leucemia no sistema nervoso central e continuação ou manutenção de remissão. O tratamento dura cerca de dois a três anos (CAZÉ *et al*, 2010). Na teoria, o tratamento precoce da LLA, com erradicação das células leucêmicas antes que ocorra resistência às drogas utilizadas, leva à cura (CAMITTA *et al*, 1994).

Ambos os protocolos de alto e baixo risco, utilizam para a indução da remissão uma combinação de prednisona, vincristina, L-asparaginase, daunorrubicina e infusão intratecal de metotrexato, citarabina e dexametasona (MADIT). Segundo o grupo holandês *Dutch Child Oncology Group* (DCOG), o uso da dexametasona como o único corticosteróide levou a uma alta taxa de sobrevida livre de eventos, devido à sua maior fração livre no plasma e melhor penetração na barreira hematoencefálica. Entretanto, também se observou uma maior taxa de complicações relacionadas ao tratamento, geralmente de causa infecciosa (VEERMAN *et al*, 2009).

A L-asparaginase é uma droga amplamente utilizada na fase de indução da quimioterapia. Tem como vantagens o baixo efeito mielossupressor, baixos índices de distúrbios gastrintestinais e alto índice de remissão (PIATKOWSKA-JAKUBAS *et al*, 2008). Entretanto, possui um alto potencial alergênico (NARTA *et al*, 2007).

A administração intratecal de MADIT nos pacientes com LLA é utilizada para profilaxia e tratamento da leucemia no SNC. A via intratecal é a escolhida por promover uma melhor penetração dos quimioterápicos no líquido (PIETERS; CARROLL, 2008). Como a citarabina e o metotrexato possuem meia vida longa no líquido, é importante ter cuidado nos pacientes que fazem uso também sistêmico dessas drogas, para que se evite possíveis efeitos colaterais. Algumas complicações foram relacionadas ao MADIT intratecal, como lesões na coluna espinhal, encefalopatia e convulsões (KWONG *et al*, 2009). Atualmente, tem-se substituído a radioterapia cranial pelo MADIT, inclusive em pacientes de alto risco (LIN *et al*, 2008).

Observa-se que a prednisona, em associação com a L-asparaginase, aumenta o risco de eventos trombóticos em crianças predispostas. Essa combinação provoca uma diminuição de fatores anticoagulantes (plasminogênio, antitrombina). Como a LLA já induz a um aumento na produção de trombina, tem-se um estado de hipercoagulabilidade. Para evitar esta complicação, propõe-se a administração dissociada dos dois medicamentos e a utilização de dexametasona, que confere menor risco de trombose (ATHALE; CHAN, 2003; NOWAK-GÖTTL, 2009).

A daunorrubicina tem como efeito colateral a cardiotoxicidade. Portanto, é necessário cautela durante seu uso, com monitorização da duração de infusão e das doses cumulativas (SIMUNEK *et al*, 2009). A administração de vincristina pode diminuir esse efeito colateral, porém aumenta o risco de neurotoxicidade (polineuropatia) (CHATTERJEE *et al*, 2008).

O objetivo da fase de indução-consolidação é erradicar células leucêmicas residuais. Durante a fase de consolidação, são administrados citarabina, ciclofosfamida e etopósido, com aumento da eficácia da quimioterapia na LLA (CHESSELLS *et al*, 1995). A infusão de etopósido deve ser feita por menos de 30 min, para que se evite o risco de bradicardia e hipotensão. É importante lembrar que o etopósido pode provocar o surgimento de leucemia secundária nos pacientes tratados (BRUNTON *et al*, 2007).

A ciclofosfamida deve ser administrada a cada 12 horas, para evitar saturação enzimática e diminuição da eficácia da droga (ESTLIN *et al*, 2001).

A administração de metotrexato e 6-mercaptopurina também é feita durante a consolidação, o que aumentou consideravelmente a taxa de sobrevivência em um ano. Alguns estudos realizados evidenciaram que a combinação de 6-mercaptopurina e metotrexato é superior à combinação de mais quimioterápicos (SCHIEGELOW *et al*, 2009).

Durante a etapa de manutenção, pulsos de dexametasona e vincristina são administrados. A utilização de prednisona ou prednisolona em associação ao esquema aumentou sobrevida livre de eventos. Entretanto, estudos multicêntricos revelaram que só houve significativo aumento na sobrevida geral, com a associação desses corticoides, em pacientes de alto risco na ausência de fase de reindução no protocolo (CONTER *et al*, 2007).

Um protocolo bastante utilizado para tratamento da leucemia linfoblástica aguda é o proposto pelo grupo BFM (Berlim-Frankfurt-Munique), que classifica os pacientes ao diagnóstico conforme o risco de recidiva. A depender do risco do paciente, são administrados protocolos de maior ou menor intensidade. É composto por quatro etapas: indução da remissão, consolidação, manutenção e profilaxia do sistema nervoso central (SNC) (LAKS *et al*, 2003).

O uso da imunofenotipagem para subcategorizar a LLA possibilita a estimativa do prognóstico e da presença de doença residual mínima nos pacientes, a estratificação com base no risco e a adaptação da quimioterapia com base nesses diferentes grupos (SILVA *et al*, 2004).

São achados que indicam prognóstico favorável e que requerem terapia menos agressiva (quadro 1) a LLA não T e não B e a expressão do marcador CD10 maior que 20%. Os subtipos de imunofenótipo T e a presença de marcadores aberrantes determinam prognóstico desfavorável e a necessidade de um protocolo quimioterápico de alto risco (quadro 2), mais agressivo (SILVA *et al*, 2004).

ETAPA (DURAÇÃO)	MEDICAMENTOS (DOSES)	
Indução da remissão (4 semanas)	Prednisona (40 mg/m <sup>2</sup> /dia) Vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /sem) L-asparaginase (5000 UI/m <sup>2</sup> /dia) Daunorrubicina (25 mg/m <sup>2</sup> /semana) MADIT	
Consolidação da remissão (2 semanas)	Ciclofosfamida (1 g/m <sup>2</sup> /dose) Citarabina (75 mg/m <sup>2</sup> /dose) 6-Mercaptopurina (50 mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	
Intensificação (8 semanas)	Metotrexato (2 g/m <sup>2</sup> /dose) 6-Mercaptopurina (50 mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	
Consolidação tardia (8 semanas)	Dexametasona (6 mg/m <sup>2</sup> /dia) Vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /dose) Doxorrubicina (30 mg/m <sup>2</sup> /dose) L-asparaginase (5000 UI/m <sup>2</sup> /dose) Ciclofosfamida (1 g/m <sup>2</sup> /dose) Tioguanina (60 mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	
Manutenção (1 ano e meio - pacientes são aleatoriamente colocados em um dos grupos)	GRUPO 1 6-Mercaptopurina (50 mg/m <sup>2</sup> /dia) + metotrexato (25 mg/m <sup>2</sup> /dose) contínuos  Pulsos de vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /dia) + dexametasona (4mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	GRUPO 2 6-Mercaptopurina (100 mg/m <sup>2</sup> /dia) + metotrexato (200 mg/m <sup>2</sup> ) intermitentes  Pulsos de vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /dia) + dexametasona (4mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT

Quadro 1 – Esquema terapêutico do protocolo GBTLI-99 para pacientes com baixo risco de recaída (CAZÉ *et al*, 2010)

ETAPA (DURAÇÃO)	MEDICAMENTOS (DOSES)	
Indução da remissão (4 semanas – pacientes são aleatoriamente colocados em um dos grupos)	GRUPO A Prednisona (40mg/m <sup>2</sup> /dia) Vincristina (1,5mg/m <sup>2</sup> /sem) L-asparaginase (5000 UI/m <sup>2</sup> /dia) Daunorrubicina (25 mg/m <sup>2</sup> /dose) MADIT	GRUPO B Prednisona (40 mg/m <sup>2</sup> /dia) Vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /sem) L-asparaginase (5000 UI/m <sup>2</sup> /dia) Daunorrubicina (35 mg/m <sup>2</sup> /dose) Metotrexato (1 g/m <sup>2</sup> /dose) MADIT
Consolidação – Bloco A (1 semana)	Metotrexato (2 g/m <sup>2</sup> /dose) Tioguanina (100 mg/m <sup>2</sup> /dia) Citarabina (2 g/m <sup>2</sup> /dose) Ciclofosfamida (200 mg/m <sup>2</sup> ) MADIT	
Consolidação – Bloco B (1 semana)	Vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /dose) Metotrexato (2 g/m <sup>2</sup> /dose) 6-Mercaptopurina (150 mg/m <sup>2</sup> /dia) Citarabina (2 g/m <sup>2</sup> /dose) MADIT	
Intensificação (8 semanas)	Dexametasona (6 mg/m <sup>2</sup> /dia) Vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /dose) Doxorrubicina (30 mg/m <sup>2</sup> /dose) L-asparaginase (5000 UI/m <sup>2</sup> /dose) Ciclofosfamida (1 g/m <sup>2</sup> /dose) Citarabina (75 mg/m <sup>2</sup> /dose) Tioguanina (60 mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	
Consolidação – Bloco C (1 semana)	Metotrexato (2 g/m <sup>2</sup> /dose) 6-Mercaptopurina (150 mg/m <sup>2</sup> /dia) Etopósido (150 mg/m <sup>2</sup> /dia) Citarabina (2 g/m <sup>2</sup> /dose)	
Consolidação – Bloco D (1 semana)	Ifosfamida (1,8 g/m <sup>2</sup> /dia) Etopósido (150 mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	
Consolidação tardia (8 semanas)	Dexametasona (6 mg/m <sup>2</sup> /dia) Vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /dose) Doxorrubicina (30 mg/m <sup>2</sup> /dose) L-asparaginase (5000 UI/m <sup>2</sup> /dose) Ciclofosfamida (1 g/m <sup>2</sup> /dose) Citarabina (75 mg/m <sup>2</sup> /dose) Tioguanina (60 mg/m <sup>2</sup> /dia) MADIT	
Manutenção (1 ano e meio)	6-Mercaptopurina (50 mg/m <sup>2</sup> /dia) + metotrexato (25 mg/m <sup>2</sup> /dose) contínuos  Pulsos de vincristina (1,5 mg/m <sup>2</sup> /sem) + dexametasona (4 mg/m <sup>2</sup> /dia)  MADIT	

Quadro 2 – Esquema terapêutico do protocolo GBTLI-99 para pacientes com alto risco de recaída (CAZÉ *et al*, 2010)

## 2.8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMARE, P. et al. Clinical significance of cytogenetic findings at diagnosis and in remission in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia; experience from India. **Cancer Genetic Cytogenetic**, v. 110, n. 1, p. 44-53, 1999.

AMERICAN CANCER SOCIETY. **Cancer facts and figures**. Cancer. 2008. Disponível em: <<http://www.cancer.org>>. Acesso em: 14 out. 2012.

ATHALE, U. H.; CHAN, A. K. C. Thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia. Part II. Pathogenesis of thrombosis in children with acute lymphoblastic leukemia: effects of the disease and therapy. **Thrombosis Research**, v.111, n. 4-5, p. 199-212, 2003.

BRANDALISE, S. R. Comparison of intermittent versus continuous methotrexate plus 6-MP in maintenance regimen for standard risk acute lymphoblastic leukemia in children (GBTLI ALL-99). **Journal of Clinical Oncology**, v. 25, n. 18S, p. 9512, 2007.

BRUMPT, C. et al. The incidence of clonal T-cell receptor rearrangements in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia varies with age and genotype. **Blood**, v. 6, n. 96, p. 2254-61, 2000.

BRUNTON, L. L. et al. **Goodman and Gilman's Manual of Pharmacology and Therapeutics**. 1 ed. New York: McGraw-Hill Professional, 2007.

CAMITTA, B. et al. Intensive intravenous methotrexate and mercaptopurine treatment of higher-risk non-T, non-B acute lymphocytic leukemia: A Pediatric Oncology Group study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 12, n. 7, p. 1383-1389, 1994.

CARROLL, W. L. et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Hematology / the Education Program of the American Society of Hematology**, v. 2003, n. 1, p.102-131, 2003.

CAVALCANTI JUNIOR, G. B. et al. Importância da aplicação de anticorpos monoclonais no diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 29, n. 3, p. 159-167, 1997.

CAZÉ, M. O.; BUENO, D.; SANTOS, M. E. F. Estudo referencial de um protocolo quimioterápico para leucemia linfocítica aguda infantil. **Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre**, v. 30, n. 1, p. 5-12, 2010.

CHATTERJEE, K. et al. Vincristine attenuates doxorubicin cardiotoxicity. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 373, n. 4, p. 555-60, 2008.

CHESELLS, J. M.; BAILEY, C.; RICHARDS, S. M. Intensification of treatment and survival in all children with lymphoblastic leukemia: results of UK Medical Research Council trial UKALL X. Medical Research Council Working Party on Childhood Leukemia. **Lancet**, v. 345, n. 8943, p. 143-148, 1995.

CONTER, V. et al. Intensive BFM chemotherapy for childhood ALL: interim analysis of the AIEOP-ALL 91 study. *Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica. Haematologica*, v. 83, n. 9, p. 791-9, 1998.

CRANS, H. N.; SAKAMOTO, K. M. Transcription factors and translocation in lymphoid and myeloid leukemia. *Leukemia*, v. 15, n. 3, p. 313-331, 2001.

CRIST, W. M. et al. Immunologic markers in childhood acute lymphocytic leukaemia. *Seminars in Oncology*, v. 12, n. 2, p. 105-21, 1985.

CZUCZMAN, M. S. et al. Value of immunophenotype in intensively treated adult acute lymphoblastic leukemia: cancer and leukemia Group B study 8364. *Blood*, v. 93, n. 11, p. 3931-3939, 1999.

DE ZEN, L. et al. Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia: Correlation with specific genotype. I. ETV6/AML1 ALLs identification. *Leukemia*, v. 14, n. 7, p. 1225-31, 2000.

ESTLIN, E. J.; YULE, S. M.; LOWIS, S. P. Consolidation therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: clinical and cellular pharmacology of cytosine arabinoside, epipodophyllotoxins and cyclophosphamide. *Cancer Treatment Reviews*. v. 27, n. 6, p. 339-50, 2001.

FADERL, S. et al. Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 111, n. 91, p. 3995-4019, 1998.

FALCÃO, R. P.; REGO, E. M. Leucemia linfóide aguda em adultos e crianças: características morfológicas e imunofenotípicas. *Série de Monografias da Escola Brasileira de Hematologia*, v. 9, p. 25-35, 2002.

FARIAS, M. G; CASTRO, S. M. Diagnóstico Laboratorial das Leucemias Linfóides. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, Rio de Janeiro, v. 40, n. 2, p. 91-98, abr. 2004.

GARAND, R.; BÉNÉ, M. C. Incidence, clinical and laboratory features, and prognostic significance of immunophenotypic subgroups in acute lymphoblastic leukaemia: the GEIL experience. *Recent Results in Cancer Research*, v. 131 1993; 131: 283-95.

GOKBUGET, N.; HOELZER, D. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Seminars in Hematology*, v. 46, n. 1, p. 64-75, 2009.

GURNEY, J. G. et al. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer*, v. 75, n. 8, p. 2186-95, 1995.

HARMENING, D.M. **Clinical hematology and fundamentals of hemostasis**. 3. ed. Philadelphia: FA Davis Company, 1997.

HARRIS, N. L. et al. World Health Organization Classification of Neoplastic Diseases of Hematopoietic and Lymphoid Tissues: Report of the Clinical Advisory Committee Meeting. *Journal of Clinical Oncology*, v. 17, n. 12, p. 3835-3849, 1999.

HEISTERKAMP, N. et al. Reduced oncogenicity of p 190 Bcr/Abl F-actin-binding domain mutants. **Blood**, v. 6, n. 96, p. 2226-32, 2000.

HRUSAK, O.; PORWIT-MACDONALD, A. Antigen expression patterns reflecting genotype of acute leukemias. **Leukemia**, v. 16, n. 7, p. 1233-58, 2002.

INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. Leucemias agudas na infancia e adolescencia: condutas do INCA/MS. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 47, n. 3, p. 245-257, 2001.

JAFFE, E. S. et al. Pathology & genetics tumors of hematopoietic and lymphoid tissues. **World Health Organization Classification of Tumors: pathology & genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. 3. ed. Lyon: IARC Press, 2001.

JORDAN, C. T. Unique molecular and cellular features of acute myelogenous leukemia stem cells. **Leukemia**, v. 16, n. 4, p. 559-562, 2002.

KILLICK, S. et al. Outcome of biphenotypic acute leukemia. **Haematologica**, v. 84, n. 8, p. 699-706, 1999.

KOTILO, P. N. Flow cytometric analysis in diagnostic hematology. In: RODAK, B. F. **Diagnostic Hematology**. Philadelphia: Saunders Company, 1995.

KWONG, Y. L.; YEUNG, D. Y. M.; CHAN, J. C. W. Intrathecal chemotherapy for hematologic malignancies: drugs and toxicities. **Annals of Hematology**, v. 88, n. 3, p. 193-201, 2009.

LAKS, D. et al. Avaliação da sobrevida de crianças com leucemia linfocítica aguda tratadas com o protocolo Berlim-Frankfurt-Munique. **Jornal de Pediatria**, v. 79, n. 2, 2003.

LEE, P. S. et al. Acute leukemia with myeloid, B-, and natural killer cell differentiation. **Archives of Pathology & Laboratory Medicine**, v. 127, n. 2, p. 93-5, 2003.

LEE, M. L. M.; PETRILLI, A. S.; O tratamento da criança com câncer no Brasil: debate da migração. **Pediatria, São Paulo**, v. 26, n. 1, p. 11-12, 2004.

LEE, R. G. et al. **Wintrobe Hematologia Clínica**. 1. ed. São Paulo: Manole, 1998.

LENORMAND, B. et al. PreB1 (CD10-) acute lymphoblastic leukaemia: immunophenotypic and genomic characteristics, clinical features and outcome in 38 adults and 26 children. The Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies. **Leukemia & Lymphoma**, v. 28, n. 3, p. 329-42, 1998.

LIN, W. Y. et al. Triple Intrathecal Therapy Without Cranial Irradiation for Central Nervous System Preventive Therapy in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Pediatric Blood & Cancer**, v. 50, n. 3, p. 523-7, 2008.

LOPES, L. F.; MENDES, W. L. Leucemias na infância. In: CAMARGO, B.; LOPES, L.F. **Pediatria oncológica: noções fundamentais para pediatria**. São Paulo: Lemar, 2000. p. 109-18.

LORENZI, T. F. **Manual de Hematologia**: propedêutica clínica. 2. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.

LORENZI, T. F. **Manual de Hematologia**. 6 .ed. Rio de Janeiro: MEDSI, 2006.

LUDWING, W. D. et al. Immunophenotypic and genotypic features, clinical characteristics, and treatment outcome of adult pro-B acute lymphoblastic leukemia: results of the German Multicenter Trials GMALL 03/87 and 04/89. **Blood**, v. 6, n. 92, p. 1898-909, 1998.

MARGOLIN, J. F.; POPLACK, D. G. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: PIZZO, P.A.; POPLACK, D.G. **Principles and Practice of Pediatric Oncology**. 3.ed. Philadelphia: JB Lippincott Company, 1997. p. 409-462.

MCKENNA, R. W. Multifaceted Approach to the Diagnosis and Classification of Acute Leukemias. **Clinical Chemistry**, v. 46, n. 8 pt 2, 2000.

MEADOWS, A. T; BELASCO, J. B.; SINNIH, D. Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) In: D'ANGIO, G.J. et al. **Pediatria Oncológica Prática**. Rio de Janeiro:Revinter, 1995. p. 295-305.

NAKASE, K. et al. Clinical importance of interleukin-2 receptor alpha-chain expression in acute leukemia. The Japan Cooperative Group of Leukemia/Lymphoma. **Cancer Detection and Prevention**, v. 21, n. 3, p. 273-9, 1997.

NARTA, U. K.; KANWAR, S. S.; AZMI, W. Pharmacological and clinical evaluation of L-asparaginase in the treatment of leukemia. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 61, n. 3, p. 208-21, 2007.

NOWAK-GÖTTL, U.; KENET, G.; MITCHELL, L. G. Thrombosis in childhood acute lymphoblastic leukemia: epidemiology, aetiology, diagnosis, prevention and treatment. **Best Practice & Research Clinical Haematology**, v. 22, n. 1, p. 103-14, 2009.

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

ORFAO, A. et al. Flow cytometry: Its applications in Hematology. **Haematologica**, v. 80, n. 1, p. 69-81, 1995.

ORFAO, A. et al. Clinically Useful Information Provided by the Flow Cytometric Immunophenotyping of Hematological Malignancies: Current Status and Future Directions. **Clinical Chemistry**, v. 45, n. 10, p. 1708-1717, 1999.

PIATKOWSKA-JAKUBAS, B. et al. Use of L-asparaginase in acute lymphoblastic leukemia: recommendations of the Polish Adult Leukemia Group. **Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej**, v. 118, n. 11, p. 664-9, 2008.

PIETERS, R.; CARROL, W. L. Biology and Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia. **Pediatric Clinics of North America**, v. 55, n. 1, p. 1-20, 2008.

PUI, C. H. et al. Correlation of karyotype and immunophenotype in childhood acute lymphoblastic leukaemia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 6, n. 1, p. 56-61, 1988.

PUI, C. H.; RELING, M. V.; DOWNING, J. R. Acute lymphoblastic leukemia. **New England Journal of Medicine**, v. 350, n. 15, p. 1535-48, 2004.

QADIR, M. et al. Routine Immunophenotyping in Acute Leukemia: Role in Lineage Assignment and Reassignment. **Cytometry Part B Clinical Cytometry**, v. 70, n. 5, p. 329-334, 2006.

QUADE, G. Adult acute myeloid leukemia. **Journal of the National Cancer Institute**. v. 2, p. 243-58, 2002.

RAMAKERS-VAN WOERDEN, N. L. et al. TEL/AML1 gene fusion is related to in vitro drug sensitivity for L-asparaginase in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v. 96, n. 3, p. 1094-6, 2000.

REILLY, J.T.; BARNETT, D. UK NEQAS for leucocyte immunophenotyping: the first 10 years. **Journal of Clinical Pathology**, v. 54, n. 7, p. 508-511, 2001.

RIZZATTI, E. G.; ZAGO, M. A. Aplicações da biologia molecular às leucemias agudas. **Série de Monografias da Escola Brasileira de Hematologia**, n. 9, p. 1-14, 2002.

RODAK, B. F. **Diagnostic Hematology**. 1st ed. Philadelphia: WB Saunders; 1995.

RUIZ-ARGÜELLES, A.; ESPINOZA, L.R.; DUQUE, R.E. Report on the Second Latin American consensus conference for flow cytometric immunophenotyping of hematological malignancies. **Cytometry Part B Clinical Cytometry**, v. 70, n. 1, p. 39-44, 2005.

SCHIEGELOW, K. et al. Oral Methotrexate/6-mercaptopurine may be Superior to a Multidrug LSA2L2 Maintenance Therapy for Higher Risk Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Results from the NOPHO ALL-92 study. **Journal of Pediatric Hematology/Oncology**, v. 31, n. 6, p. 385-92, 2009.

SILVA, I. Z. da, et al. Expressão dos marcadores mielóides e prognóstico das leucemias linfóides agudas. **Pediatria (São Paulo)**, v. 26, n. 2, p. 97-103, 2004.

SOUZA, C.; VIANA, M.; OLIVEIRA, B. M. Recidiva da leucemia linfoblástica na criança: experiência do Serviço de Hematologia do Hospital das Clínicas da UFMG (1988-2005). **Revista Médica de Minas Gerais**, v. 18, n. 4 supl 1, p. S55-S62, 2008.

SWERDLOW, S. H. et al. **WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues**. 4. ed. Lyon: IARC Press, 2008.

THALHAMMER-SCHERRER, R. et al. The immunophenotype of 325 adult acute leukemias: Relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 117, n. 3, p. 380-9, 2002.

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

VEERMAN, A. J. et al. Dexamethasone-based therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: results of the prospective Dutch Childhood Oncology Group (DCOG) protocol ALL-9 (1997-2004). **Lancet Oncology**, v. 10, n. 10, p. 957-66, 2009.

WARD, M. S. The use of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of malignant hematological disorders. **Pathology**, v. 31, n. 4, p. 382-92, 1999.

WILLIAMS, D. L. et al. Chromosomal translocations play a unique role in influencing prognosis in childhood acute lymphoblastic leukaemia. **Blood**, v. 68, n. 1, p. 205-12, 1986.

### **3. REGRAS PARA PUBLICAÇÃO**

---

### 3.1 REVISTA BRASILEIRA DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA

A *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, ISSN 1516 8484, publicação científica oficial da Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular, Sociedade Brasileira de Transplante de Medula Óssea e *Associazione Italo-Brasiliana di Ematologia* e Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica, tem como objetivo registrar e promover o desenvolvimento científico da Hematologia e Hemoterapia e áreas afins. Todos os manuscritos, após aprovação dos Editores, serão encaminhados para avaliação de dois revisores, sendo o anonimato garantido em todo o processo de julgamento. Os comentários serão devolvidos aos autores para modificações no texto ou justificativas de sua conservação. A responsabilidade pelos conceitos emitidos nos artigos é exclusiva dos autores.

Os trabalhos devem destinar-se exclusivamente à *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, *Journal of Hematology and Hemotherapy*, não sendo permitida sua apresentação simultânea a outro periódico. Os artigos são de acesso aberto e distribuídos sob os termos do *Creative Commons Attribution Non-Commercial License* ([http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt\\_BR](http://creativecommons.org/licenses/by/3.0/deed.pt_BR)) que permite livre uso não-comercial, distribuição e reprodução em qualquer meio, desde que a obra original esteja devidamente mantida. A sua reprodução mesmo que parcial como tradução para outro idioma necessitará de autorização prévia do Editor.

A revista publica as sessões: Artigo Original, Especial, Revisão, Atualização, Relato de Caso, Carta ao Editor, Imagem em Hematologia Clínica, Editorial, Comentário Científico e Qual a Evidência, podendo a qualquer momento publicar outro tipo de informação de interesse da comunidade hematológica. O manuscrito poderá ser submetido em Português ou Inglês, sendo obrigatório o envio da versão em inglês, caso o artigo seja aprovado.

### 3.2 PREPARAÇÃO DOS MANUSCRITOS

#### 3.2.1 INFORMAÇÕES GERAIS

Todos os manuscritos para serem avaliados obrigatoriamente deverão enviar a seguinte documentação:

- Conflito de interesses: devem ser mencionadas as situações que podem influenciar de forma inadequada o desenvolvimento ou as conclusões do trabalho tais como a participação societária nas empresas produtoras das drogas ou dos equipamentos citados ou utilizados no trabalho, assim como em concorrentes da mesma. São também consideradas fontes de conflito os auxílios recebidos, as consultorias, as relações de subordinação no trabalho, etc.

- Aprovação do estudo por um Comitê de Ética em Pesquisa reconhecido pelo Comitê Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP);
- Artigo que trate de pesquisa clínica com seres humanos deve incluir na seção Métodos, declaração de que os sujeitos do estudo assinaram o termo de consentimento livre e informado. Os autores devem informar, também, que a pesquisa foi conduzida de acordo com a Declaração de Helsinque revisada em 2008;
- No caso de trabalhos envolvendo experimentação animal, os autores devem indicar na seção Métodos que foram seguidas as normas contidas no CIOMS (*Council for International Organization of Medical Sciences*) *Ethical Code for Animal Experimentation* (*WHO Chronicle* 1985; 39(2):51-6) e os preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal - COBEA ([www.cobea.org.br](http://www.cobea.org.br)). Deverão completar a “Declaração dos Direitos do Homem e Animal”.
- Todos os ensaios controlados aleatórios (*randomized controlled trials*) e clínicos (*clinical trials*) submetidos à publicação devem ter o registro em uma base de dados de ensaios clínicos. Essa é uma orientação da Plataforma Internacional para Registros de Ensaios Clínicos (ICTRP) da Organização Mundial da Saúde (OMS), e do *International Committee of Medical Journal Editors* (ICMJE). As instruções para o registro estão disponíveis no endereço eletrônico do ICMJE ([http://www.icmje.org/clin\\_trialup.htm](http://www.icmje.org/clin_trialup.htm)) e o registro pode ser feito na base de dados de ensaios clínicos da *National Library of Medicine*, disponível em <http://clinicaltrials.gov/ct/gui>.

### 3.2.2 REQUISITOS TÉCNICOS

#### 3.2.2.1 IDENTIFICAÇÃO DO ARTIGO

- Título do artigo, em português e em inglês, que deverá ser conciso, porém informativo.
- Nome completo de cada autor, sem abreviações, afiliação institucional (nome completo da instituição que está afiliado).
- Indicação do departamento e nome oficial da Instituição ao qual o trabalho deve ser atribuído.
- Nome, endereço, telefone e e-mail do autor correspondente.
- Fontes de auxílio à pesquisa.

### 3.2.2.2 RESUMO E ABSTRACT

Resumo em português e abstract em inglês, de não mais que 250 palavras. Para os artigos originais, os mesmos devem ser estruturados, destacando o(s) objetivo(s) do estudo, método(s), resultado(s) e a(s) conclusão (ões). Para as demais categorias de artigos, o resumo não necessita ser estruturado, porém deve conter as informações importantes para reconhecimento do valor do trabalho. Especificar cinco descritores, em português e em inglês, que definam o assunto do trabalho. Os descritores deverão ser baseados no DeCS (Descritores em Ciências da Saúde) publicado pela BIREME, traduzidos do MeSH (*Medical Subject Headings*) da *National Library of Medicine* e disponível no endereço eletrônico: <http://decs.bvs.br>. Ensaaios Clínicos: ao final do resumo indicar o número de registro onde o trabalho está cadastrado.

### 3.2.2.3 TEXTO

- Artigo Original: devem conter: Introdução, Objetivo(s), Método(s), Resultado(s), Discussão, Conclusão(ões) e Referências. O trabalho deverá ter no máximo 4.000 palavras (incluindo as referências), autores até seis, tabelas, ilustrações e fotos até sete e conter até 30 referências.
- Artigo Especial: devem ter a mesma estrutura dos artigos originais, porém poderão ser submetidos somente a convite ou inclusão nesta categoria após análise do editor.
- Artigo de Revisão: revisões narrativas abordando tema de importância para a área. Deverá ter até 5.000 palavras (incluindo as referências), tabelas, ilustrações e fotos até o número de sete e no máximo 60 referências.
- Artigo de Atualização: sobre um tema, um método, um tratamento, etc., devendo conter um breve histórico do tema, seu estado atual de conhecimento e as razões do trabalho, métodos de estudo (fontes de consulta, critérios de seleção), hipóteses, linhas de estudo, etc. Critérios idênticos ao artigo de revisão.
- Relato de Caso: deve conter: Introdução, com breve revisão da literatura, relato do caso, os resultados importantes para o diagnóstico, evolução, discussão, conclusão e referências. Deverá ter no máximo 1.800 palavras, tabelas, ilustrações e fotos até o número de duas, autores até quatro com 10 referências.
- Carta ao Editor: máximo de 1000 palavras (incluindo referências), com três autores, contendo no máximo duas ilustrações.
- Imagem em Hematologia Clínica: máximo de 100 palavras, uma ou duas imagens no máximo, até três autores e três citações em referências.

- Comentário Científico: esta contribuição só será aceita por convite do Editor, que orientará a forma de envio do manuscrito.

#### **3.2.2.4 AGRADECIMENTOS**

Devem ser dirigidas a colaboradores que mereçam reconhecimento, mas que não justificam suas inclusões como autores, como apoio financeiro ou auxílio técnico, recebidos na elaboração do trabalho.

#### **3.2.2.5 REFERÊNCIAS**

Em todas as categorias de artigos, as referências citadas devem ser numéricas e inseridas segundo a ordem de entrada no texto. A apresentação deverá estar baseada no formato proposto pelo *International Committee of Medical Journal Editors "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals"* atualizado em 2009, conforme exemplos abaixo: os títulos de periódicos deverão ser abreviados de acordo com o estilo apresentado pela List of Journals Indexed in Index Medicus da National Library of Medicine (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez>). Cite todos os autores, se houver até seis e após o sexto acrescente a expressão et al.

### **3.2.3 EXEMPLO DE REFERÊNCIAS**

#### **3.2.3.1 DOCUMENTOS IMPRESSOS**

- Artigos de Periódicos: Padley DJ, Dietz AB, Gastineau DA. Sterility testing of hematopoietic progenitor cell products: a single-institution series of culture-positive rates and successful infusion of culture-positive products. *Transfusion*. 2007; 47(4):636-43.
- Livros: Chalmers J. Clinician's manual on blood pressure and stroke prevention. 3rd ed. London: Science Press; 2002. 70 p.
- Richardson MD, Warnock DW. Fungal Infection Diagnosis and Management. 2nd ed. Oxford: Blackwell Science Ltd Editorial Offices; 1997.249 p.
- Capítulos de livros: F. Reyes. Lymphocyte differentiation. In P Solal-Céligny, N Brousse, F Reyes, C Gisselbrecht, B Coiffier. *Non-Hodgkin's Lymphomas*. Paris: Éditions Frison-Roche; 1993. p.19-29.
- Anais: Souza AM, Vaz RS, Carvalho MB, Arai Y, Hamerschilak N. Prevalência de testes sorológicos relacionados à hepatitis B e não-A, não-B em doadores de sangue. In: 19º

Congresso Brasileiro de Hematologia e Hemoterapia / 26º Congresso da Sociedade Brasileira de Hematologia e Hemoterapia; 2003 Ago 6-9; São Paulo, 2003. Anais. p.103.

- Teses: Sandes AF. Caracterização imunofenotípica da diferenciação eritrocitária, granulocítica e megacariótica em pacientes com síndromes mielodisplásicas [tese]. São Paulo: Universidade Federal de São Paulo; 2009. 126p.

### 3.2.3.2 DOCUMENTOS ELETRÔNICOS

- Artigos de Periódicos: Almeida ID, Coitinho AS, Juckowsky CA, Schmalfuss T, Balsan AM, Röhsig LM. Controle de esterilidade de produtos de células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico. Rev Bras Hematol Hemoter [Internet] 2010 [citado 2010 Jun 10]; 32(1): 23-8. Disponível em: <http://www.scielo.br/pdf/rbhh/v32n1/aop03010.pdf>

- Livros: Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Clinical methods. The history, physical, and laboratory examinations. 3rd ed. [Internet]. Boston: Butterworths; 1990. [cited 2010 Jun 10]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/bookshelf/br.fcgi?book=cm>

- Ilustrações e fotos: Devem ter pelo menos 1000 dpi de resolução. Figuras coloridas devem ser em CMYK e serão publicadas em cores somente se for essencial. Devem estar no formato TIFF, JPG ou CDR. Não inserir as figuras dentro do texto. Enviar separadamente.

- Tabelas e Quadros: Devem ser numeradas consecutivamente, com algarismos arábicos e citadas no texto em ordem numérica. Se a tabela requerer símbolos especiais, deve ser enviada como uma imagem em um arquivo TIFF ou JPG, em alta resolução.

## 3.3 SUBMISSÃO

A submissão do manuscrito deve ser feita obrigatoriamente na forma eletrônica no site da Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, *Journal of Hematology and Hemotherapy*, [www.rbhh.org](http://www.rbhh.org). No link de submissão [www.sgponline.com.br/rbhh/sgp](http://www.sgponline.com.br/rbhh/sgp), existem informações de auxílio e é imprescindível o preenchimento do documento de transferência de direitos autorais para a Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia (*Journal of Hematology and Hemotherapy*).

O documento deve ser assinado por todos os autores e encaminhado a secretaria da revista pelo e-mail [brazilbloodjournal@yahoo.com.br](mailto:brazilbloodjournal@yahoo.com.br). Os autores também devem preencher e enviar a declaração de conflito de interesse.

É de responsabilidade dos autores a obtenção de carta de permissão para a reprodução de algum material incluso no trabalho, que porventura tenha sido publicado e ficará arquivado eletronicamente.

O editor poderá publicar manuscritos que não estejam exatamente nas instruções após avaliação criteriosa sempre voltada para o interesse e progresso da RBHH/JHH.

#### **4. ARTIGO CIENTÍFICO**

---

**PERFIL IMUNOFENOTÍPICO E CORRELAÇÃO CLÍNICA NA LEUCEMIA  
LINFOBLÁSTICA AGUDA DA CRIANÇA E ADOLESCENTE**

**IMMUNOPHENOTYPIC PROFILE AND CLINICAL CORRELATION OF ACUTE  
LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA IN CHILDHOOD AND ADOLESCENCE**

Gabriel Viana de Andrade, Leyla Manoella Maurício Rodrigues de Lima, Simone Santana  
Viana, Rosana Cipolotti

Departamento de Medicina, Universidade Federal de Sergipe, Aracaju, Brasil

Endereço para correspondência:

Gabriel Viana de Andrade

Rua Engenheiro Miguel Valverde Filho, n. 140, Aracaju/SE, Brasil

CEP: 49025-180

(5579)9996-7714

[gabrielviana@gmail.com](mailto:gabrielviana@gmail.com)

## RESUMO

**Introdução:** A Leucemia Linfoblástica Aguda é uma neoplasia que predomina em crianças e adolescentes. A imunofenotipagem é uma técnica que auxilia na classificação e adequação do tratamento aos diversos subtipos. Quando adequadamente tratadas, a taxa de sobrevivência em crianças e adolescentes é de 80%.

**Objetivos:** Avaliar o impacto clínico das variantes imunofenotípicas no prognóstico dos pacientes com Leucemia Linfóide Aguda (LLA) do setor de oncologia pediátrica de um hospital geral, referência para o Sistema Único de Saúde em um estado da região nordeste do Brasil.

**Métodos:** Foi realizado um estudo na enfermaria de oncologia pediátrica do Hospital de Urgências de Sergipe, entre setembro de 2012 e agosto de 2013. Foram incluídos portadores de leucemia linfóide aguda com idade ao diagnóstico entre zero e 19 anos incompletos. Comparou-se grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável, e grupos de imunofenótipo B e T.

**Resultados:** Dos 80 pacientes, 62,50% eram do sexo masculino, com média de idade ao diagnóstico de 9,53 anos e 69,44% foram classificados como alto risco. O imunofenótipo T foi encontrado em 16,67% dos pacientes e 71,43% apresentavam imunofenótipo B CD10 positivo. Dentre os pacientes, 32,05% apresentaram infecção. Foram a óbito 32,05% na fase de indução e 55,56% durante todo o tratamento.

**Conclusão:** Os resultados diferem da literatura quanto à faixa etária, mais alta, e a consequente maior proporção de pacientes estratificados como de alto risco. Os altos índices de mortalidade podem indicar deficiências no manejo das complicações decorrentes da doença e da quimioterapia.

**Palavras-chave:** Leucemia-Linfoma Linfoblástico de Células Precursoras; Imunofenotipagem; Prognóstico; Pediatria; Epidemiologia.

## ABSTRACT

**Introduction:** Acute Lymphoblastic Leukemia is a cancer that is prevalent in children and adolescents. Immunophenotyping is a technique that assists in the classification and treatment adequacy of the different subtypes. When properly treated, the survival rate in children and adolescents is 80%.

**Objective:** To evaluate the clinical impact of immunophenotypic variants on the prognosis of patients with Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in pediatric cancer ward of a general hospital, reference to SUS in a state of the northeast region of Brazil.

**Methods:** This study was performed in pediatric oncology at Hospital de Urgências de Sergipe, from September 2012 to August 2013. Were included 80 patients with acute lymphoblastic

leukemia with age at diagnosis between zero and 19 years old. Groups of favorable and unfavorable immunophenotype were compared, as well as groups of T and B immunophenotype.

**Results:** Among the 80 patients, 62.50% were male, with a mean age of 9.53 years at diagnosis and 69.44% were classified as high. The T-cell immunophenotype was found in 16.67% of the patients and 71.43% had CD10 positive B-cell immunophenotype. An average of 0.4 episodes of infection was found in 31.25% of the patients. During the induction phase, 32.05% died and, during the whole treatment, 55.56% died.

**Conclusion:** The results differ from the literature, showing higher age and a consequently greater proportion of patients classified as high risk. The high mortality may indicate deficiencies in the management of complications from the disease and chemotherapy.

**Keywords:** Precursor Cell Lymphoblastic Leukemia-Lymphoma; Immunophenotyping; Prognosis; Pediatrics; Epidemiology.

## INTRODUÇÃO

As Leucemias Agudas consistem em um conjunto de neoplasias que surgem em decorrência de um defeito na maturação de células precursoras hematopoiéticas, com proliferação clonal das células neoplásicas<sup>(1)</sup>. As leucemias linfoblásticas agudas (LLA) originam-se de células precursoras de linfócitos T e B, encontradas principalmente na medula óssea, timo e gânglios linfáticos<sup>(2,3)</sup>. Existe um predomínio, em crianças, de LLA de precursores da linhagem B (80-85%) e, em 15% dos casos, encontra-se LLA de precursores da linhagem T<sup>(4)</sup>. A LLA é mais prevalente na infância, correspondendo a 75% das leucemias agudas e a 34% do total de neoplasias nessa faixa etária, com pico de incidência entre 2 a 5 anos de idade<sup>(5)</sup>. Observa-se uma leve predominância da LLA em crianças do sexo masculino e na raça branca<sup>(5,6)</sup>. Muito raramente, observa-se a presença de antígenos de ambas as linhagens mielóide e linfóide em um mesmo blasto, caracterizando a leucemia híbrida, mista ou bifenotípica<sup>(7)</sup>.

A LLA manifesta-se através do acúmulo e invasão da medula óssea e do acometimento do sangue periférico por células neoplásicas em diferentes etapas de maturação<sup>(8)</sup>. Essa invasão medular leva à substituição das células hematopoiéticas normais por blastos neoplásicos disfuncionais, causando alguns dos principais sintomas da doença, como a hemorragia por plaquetopenia, fadiga por anemia, e infecções por leucopenia. Também é frequente a infiltração em outros tecidos, como linfonodos, testículos, fígado, baço, meninges e órbita ocular. Laboratorialmente, encontra-se elevação do LDH e ácido úrico, anemia, plaquetopenia, leucocitose, leucopenia ou leucometria normal, e neutropenia<sup>(4)</sup>.

Quando administrados os esquemas terapêuticos adequados a taxa de sobrevida geral é de aproximadamente 80% em crianças<sup>(4)</sup>. Idade, índice de massa tumoral, contagem de leucócitos, acometimento do SNC<sup>(4)</sup>, hepatoesplenomegalia e a presença de massa mediastinal anterior são variáveis clínicas clássicas que interferem no prognóstico do paciente<sup>(9)</sup>. Entretanto, dentro desses reconhecidos grupos de risco, existem subgrupos determinados pelo cariótipo, imunofenótipo e anormalidades genéticas, que exibem comportamento clínico e prognóstico distintos<sup>(1)</sup>.

O diagnóstico da LLA se fundamenta no achado de mais de 25% de linfoblastos no aspirado de medula óssea<sup>(10)</sup>. As leucemias agudas podem ser diagnosticadas e classificadas por análises morfológicas, imunológicas, citogenéticas e citoquímicas<sup>(1)</sup>.

Através da imunofenotipagem por citometria de fluxo (CMF), blastos neoplásicos identificados pela morfologia podem ser classificados de acordo com a sua linhagem e com o nível de diferenciação clonal. Assim, é possível diagnosticar e classificar as leucemias agudas em 99% dos casos, modificando drasticamente o prognóstico de alguns subtipos de LLA, pois auxilia na identificação de pacientes que se beneficiariam com um tratamento mais ou menos tóxico<sup>(11)</sup> e possibilita a implantação de protocolos terapêuticos específicos<sup>(12)</sup>. Associada à citogenética, a imunofenotipagem também permite que se estime o prognóstico, a taxa de remissão completa da doença durante o tratamento e a sobrevida do paciente<sup>(13,14)</sup>.

A LLA do tipo B classifica-se em: pró-B, comum, pré-B e B maduro<sup>(15)</sup>. O tipo comum (CALLA) é o mais encontrado na infância, correspondendo a 75% dos casos nessa faixa etária e a 50% dos casos em adultos. Apresenta os antígenos CD10, CD22, CD19 e/ou CD20 e é o subtipo relacionado com o melhor prognóstico na LLA em crianças<sup>(16)</sup>. As neoplasias da linhagem T são menos comuns e associam-se a um prognóstico ruim em crianças, em relação às da linhagem B. Necessitam, portanto, de um esquema terapêutico mais agressivo<sup>(17)</sup> e têm forte associação com massa mediastinal, leucócitos elevados, e acometimento do SNC<sup>(18,19)</sup>. São subdivididas em: pré-T, T-intermediário e T-maduro<sup>(20)</sup>.

As anormalidades cromossômicas influenciam no prognóstico do paciente com LLA de forma independente<sup>(9)</sup>.

Os protocolos quimioterápicos mais recentes utilizados no tratamento da LLA possuem 5 fases: indução de remissão, intensificação-consolidação, reindução, prevenção da leucemia no sistema nervoso central e continuação ou manutenção de remissão. O tratamento dura cerca de dois a três anos<sup>(21)</sup>.

Baseando-se em estudos anteriores, surgiu o protocolo GBTLI-LLA-99, que atingiu índice de sobrevida livre de eventos em cinco anos de 80,2%<sup>(22)</sup>. O protocolo quimioterápico do Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia na Infância (GBTLI – LLA99) foi atualizado em 2011, e divide os pacientes em dois grupos: alto risco e baixo risco<sup>(23)</sup>.

Os muitos estudos anteriores apresentam resultados obtidos em serviços altamente especializados, e frequentemente com perfil genético da população estudada melhor definido. O presente estudo avaliou o impacto clínico das variantes imunofenóticas no prognóstico de pacientes com LLA do setor de oncologia pediátrica de um hospital geral, referência para o Sistema Único de Saúde em um estado da região nordeste do Brasil.

## **MÉTODOS**

Foi um estudo transversal, observacional, prospectivo e analítico realizado na enfermaria de oncologia pediátrica do Hospital de Urgências de Sergipe, durante o período de setembro de 2012 até agosto de 2013. Foram incluídos no estudo os pacientes portadores de leucemia linfóide aguda, com idade ao diagnóstico entre zero e 19 anos incompletos, atendidos no serviço de Oncologia Pediátrica Dr. Osvaldo Leite, em Aracaju-SE a partir de 2009. Os pacientes que, por qualquer razão, não possuíam resultado de imunofenotipagem, foram excluídos.

Os pacientes com suspeita clínica de leucemia aguda encaminhados ao serviço de Oncologia Pediátrica colheram hemograma completo (dosagem de hemoglobina, contagem de leucócitos totais, neutrófilos, plaquetas), glicemia, enzimas hepáticas (alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase) e marcadores de função renal (dosagens séricas de uréia e creatinina), além de dosagens séricas de sódio, potássio, fósforo e cálcio. Após, foi colhida amostra de medula óssea para estudo cito-morfológico (coloração de Leishmann, exame em microscópio óptico em grande aumento) e imunofenotipagem (citometria de fluxo). Este último procedimento foi realizado no Laboratório Sérgio Franco-RJ, por convênio intermediado pelo Ministério da Saúde. Todos os procedimentos realizados fazem parte da rotina diagnóstica para casos de leucemia no serviço e são custeados pelo Sistema Único de Saúde. Nenhum exame foi realizado com finalidade exclusiva de pesquisa.

Os pacientes foram agrupados em duas categorias, relacionadas ao seu prognóstico: (1) pacientes com imunofenótipo favorável: leucemia de células B, CALLA positivo, sem marcadores anômalos; (2) pacientes com imunofenótipo desfavorável: leucemia de células T, leucemia de células B CALLA negativo, com marcadores aberrantes. Foram também agrupados e comparados outros dois grupos: (1) leucemia com imunofenótipo B; (2) leucemia com imunofenótipo T.

Os dados obtidos foram analisados através do programa estatístico Epiinfo. As variáveis categóricas apresentam-se na forma de frequência e porcentagem. As variáveis numéricas apresentam-se na forma de média, mediana e desvio-padrão. A comparação entre grupos foi feita através do teste Qui-quadrado para as variáveis categóricas. Para comparação entre grupos de variáveis contínuas foi utilizado teste “t” e, quando necessário, o teste de Mann-Whitney. Foram consideradas significativas as diferenças superiores a 5% ( $p > 0,05$ ).

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo Seres Humanos do Hospital Universitário/Universidade Federal de Sergipe (parecer nº 99.070). Após as devidas considerações acerca dos procedimentos a serem realizados e sobre a finalidade do estudo, um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi apreciado e assinado por maiores de idade e pelos responsáveis por menores de idade.

## RESULTADOS

A população estudada é composta por 80 pacientes diagnosticados com LLA atendidos no Hospital de Urgências de Sergipe, com média de idade ao diagnóstico de  $9,53 \pm 5,12$  anos. A faixa etária mais acometida foi entre 10 e 14 anos (29,11%). Dentre eles, 50 (62,50%) eram do sexo masculino e 5 (6,33%) eram lactentes. Foi feita a estratificação de risco de 72 pacientes de acordo com os critérios propostos pelo GBTLI-99, sendo que 50 (69,44%) foram classificados como de alto risco. Dentre os 80 pacientes, 50 (62,50%) receberam tratamento preconizado pelo GBTLI-99.

Quanto aos resultados de hemograma ao diagnóstico, os pacientes apresentaram leucometria média de  $40.871,03 \pm 86.746,43/\text{mm}^3$ , hemoglobina média de  $8,7 \pm 2,98$  g/dL e plaquetometria média de  $60.701,29 \pm 66.876,96/\text{mm}^3$ .

Dentre resultados de imunofenotipagem de 60 pacientes avaliados, 10 (16,67%) pacientes tinham leucemia de linfócitos T. Dos 50 pacientes com LLA de linfócitos B, 35 (71,43%) apresentaram marcador CD10 positivo. A presença de marcadores aberrantes à imunofenotipagem foi encontrada em 3 (5,00%) pacientes.

Com relação ao prognóstico dos pacientes avaliados, 25 (31,25%) indivíduos apresentaram ao menos um episódio infeccioso durante o tratamento, com uma média de  $0,4 \pm 0,64$  episódios. Vinte e cinco (32,05%) pacientes foram a óbito na fase de indução da quimioterapia. O número de óbitos durante o tratamento foi de 35 (55,56%). Dentre os pacientes, 26 (41,94%) chegaram ao fim do tratamento sem doença (Tabelas 1 e 2).

Quanto à comparação entre os grupos com imunofenótipo favorável e imunofenótipo desfavorável, 34 (57,63%) pacientes se encaixaram no grupo favorável. Não se pôde observar

diferença significativa ( $p > 0,05$ ) entre os grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável quando correlacionados com as variáveis categóricas e numéricas (Tabelas 3 e 4).

Quando outros dois grupos (pacientes com imunofenótipo T e pacientes com imunofenótipo B) foram comparados, observou-se que pacientes com leucemia de linfócitos T apresentaram idade mais avançada ao diagnóstico ( $12,5 \pm 4,35$  anos vs  $8,59 \pm 5,06$  anos,  $p=0,02$ ) e plaquetometria média ao diagnóstico mais elevada ( $121.100 \pm 106.268,47/\text{mm}^3$  vs  $51.957,44 \pm 54.515,63/\text{mm}^3$ ,  $p=0,003$ ).

Em relação à classificação de risco, o estudo demonstrou significativa diferença entre os imunofenótipos T e B. Dentre os pacientes estratificados como de alto risco, a maioria possui imunofenótipo de células B (73,68% vs 26,32%,  $p=0,049$ ) (Tabelas 5 e 6).

## DISCUSSÃO

O estudo demonstrou uma maior prevalência da leucemia em pacientes do sexo masculino, achado semelhante a outros estudos<sup>(5,6)</sup>. Segundo a literatura, há um maior número de recidivas no sexo masculino devido ao reservatório testicular de células leucêmicas<sup>(24)</sup>.

A faixa etária mais acometida, de acordo com a literatura, é entre 2 a 5 anos de idade<sup>(5)</sup>. Entretanto, este estudo encontrou predomínio de leucemia linfóide aguda na faixa etária que vai dos 10 aos 14 anos. Pacientes com idade ao diagnóstico menor que 1 ano ou maior que 10 anos apresentam pior prognóstico<sup>(25)</sup>.

Com relação à imunofenotipagem, observou-se predominância da leucemia de células B e, dentro desse grupo, a maioria apresentou marcador CD10 positivo (71,73%). Estudos anteriores também demonstraram que a maior parte das leucemias por células B (75%) tem o marcador CD10 positivo, o que é um fator indicador de bom prognóstico<sup>(16)</sup>. O predomínio de leucemia de linfócitos B (83,33%) observada no estudo é compatível com os dados de estudos prévios, como o de Pui e cols., 2004, que demonstrou que 80-85% das leucemias linfóides agudas são de células B<sup>(4)</sup>.

Na maioria dos pacientes estudados não havia presença de marcadores anômalos. Os marcadores anômalos são marcadores mielóides presentes em leucemias linfóides<sup>(26)</sup>. Segundo estudo realizado por Wiersma e cols., 1991, os marcadores anômalos causam diminuição da sobrevida livre de eventos e aumento dos índices de resistência à indução, sendo considerados fatores de mau prognóstico em pacientes com LLA<sup>(26)</sup>.

Observa-se que o grupo classificado como portador de imunofenótipo favorável foi mais frequente. No momento do diagnóstico, as médias dos valores de hemoglobina, plaquetas e leucócitos estavam abaixo dos limites inferiores da normalidade. A LLA provoca alterações ao

hemograma, como anemia normocítica normocrômica, trombocitopenia e contagem de leucócitos reduzida ou normal<sup>(27)</sup>. Ocasionalmente, o número de leucócitos pode estar elevado<sup>(27)</sup>. Os pacientes, em sua maioria, foram classificados como de alto risco, exatamente como encontrado em pesquisa prévia realizada por Silva DB e cols., 2000<sup>(28)</sup>. A maior parte dos indivíduos recebeu o protocolo terapêutico estabelecido pelo GBTLI-99.

A infecção nos pacientes com LLA pode decorrer da imunossupressão causada pela quimioterapia ou da imunossupressão provocada pela própria doença. É a principal complicação nos pacientes com leucemia linfóide aguda e a principal causa imediata de óbito nesses indivíduos<sup>(28)</sup>. Um estudo canadense demonstrou um índice de ocorrência de pelo menos um episódio infeccioso durante a fase de indução de 20%<sup>(29)</sup>.

Conter e cols., 1998, observaram em um estudo índices de mortalidade que variaram de 2,5 a 5%<sup>(30)</sup>. Esse índice de mortalidade é muito inferior ao encontrado neste estudo (32,05%). A incidência relativamente alta de episódios infecciosos durante a fase de indução (32,05%) ou a abordagem inadequada dessa complicação pode ter contribuído para a alta taxa de óbitos na indução. A maior parte dos pacientes estudados (55,56%) foi a óbito antes do fim do tratamento. Segundo alguns estudos, a taxa de sobrevivida livre de eventos de pacientes com LLA é de aproximadamente 80% após administração do protocolo quimioterápico preconizado pelo GBTLI-99<sup>(22)</sup>. A prevalência de pacientes na faixa etária de 10-14 anos encontrada no estudo pode ter contribuído para o aumento no índice de mortalidade.

Quando os grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável foram comparados, não se observou diferença significativa em relação ao hemograma ao diagnóstico, índice de mortalidade, incidência e número de episódios infecciosos, classificação de risco ao diagnóstico, idade ou gênero. A estratificação dos pacientes em grupos de risco e a adoção de protocolos terapêuticos específicos para estes grupos pode ter contribuído para melhorar o prognóstico do grupo desfavorável, deixando-o semelhante ao do grupo favorável.

Os pacientes portadores leucemia de células T apresentaram pior prognóstico em relação aos pacientes portadores de leucemia de células B<sup>(17)</sup>. Neste estudo, apesar de não terem sido observadas diferenças significativas em relação a níveis de leucócitos e hemoglobina ao diagnóstico, índice de mortalidade, incidência e número de episódios infecciosos e gênero entre os pacientes com imunofenótipo T e imunofenótipo B, a diferença numérica foi considerável. O estudo mostrou idade mais avançada e maior plaquetometria média nos pacientes com leucemia de células T. Outros estudos, como o de Cavalcanti Junior e cols., 1997, também observaram que a leucemia de linfócitos T costuma acometer crianças mais velhas que as

portadoras de leucemia por linfócitos B<sup>(19)</sup>. Não há, na literatura, referência quanto à diferença entre níveis de plaquetas ao diagnóstico de imunofenótipos T e B.

São classificados como alto risco os pacientes com mais que 50.000/mm<sup>3</sup> leucócitos ao diagnóstico, idade maior que 9 anos e menor que 1 ano, resposta lenta ao tratamento (número de leucócitos maior ou igual a 5000/mm<sup>3</sup> no dia 7), acometimento extramedular ao final da indução, blastos no sangue periférico no dia 14, comprometimento medular intenso no dia 14<sup>(21)</sup>. Pacientes com imunofenótipo T são classificados como de alto risco já ao diagnóstico, o que se justifica pelo seu comportamento clínico mais agressivo, além da idade mais avançada ao diagnóstico, associação com massa mediastinal, leucócitos elevados, e acometimento do SNC<sup>(17,18,19)</sup>. A predominância de pacientes com imunofenótipo B no grupo de alto risco pode se atribuir à grande proporção de indivíduos com idade superior a 9 anos.

## CONCLUSÃO

Os resultados obtidos diferem da literatura em alguns aspectos, quais sejam a faixa etária, mais alta, e a conseqüente maior proporção de pacientes estratificados como de alto risco. Essa particularidade não pode ser atribuída à diluição dos casos entre outros serviços, pois o local de estudo é o único serviço público de oncologia pediátrica do estado. Os altos índices de mortalidade, especialmente na fase inicial do tratamento, mas também ao longo do mesmo, podem indicar deficiências no manejo das complicações decorrentes da doença e da quimioterapia.

**REFERÊNCIAS**

1. Amare P, Gladstone B, Vaghese C, Pai S, Advani S. Clinical significance of cytogenetic findings at diagnosis and in remission in childhood and adult acute lymphoblastic leukaemia; experience from India. *Cancer Genetic Cytogenetic*. 1999;110(1):44-53.
2. Lorenzi, T. *Manual de Hematologia: propedêutica clínica*. 2nd ed. Rio de Janeiro: MEDSI; 1999. 722 p.
3. Uckun FM, Herman-Hatten K, Crotty ML, Sensel MG, Sather HN, Tuel-Ahlgren L, et al. Clinical significance of MLL-AF4 fusion transcript expression in the absence of cytogenetically detectable t(4;11)(q21;q23) chromosomal translocation. *Blood*. 1998;92(3):810-21.
4. Pui CH, Relling MV, Downing JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*. 2004;350:1535-48.
5. Gurney JG, Severson RK, Davis S, Robison LL. Incidence of cancer in children in the United States. Sex-, race-, and 1-year age-specific rates by histologic type. *Cancer*. 1995;75(8):2186-95.
6. American Cancer Society. *Cancer Facts & Figures 2008*. Atlanta: American Cancer Society; 2008.
7. Lee PS, Lin CN, Liu C, Huang CT, Hwang WS. Acute leukemia with myeloid, B-, and natural killer cell differentiation. *Arch Pathol Lab Med*. 2003;127(2):93-5.
8. Swerdlow S, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. *WHO classification of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues*. Lyon: IARC Press; 2008. 439 p.
9. Pui CH, Williams DL, Roberson PK, Raimondi SC, Behm FG, Lewis SH, et al. Correlation of karyotype and immunophenotype in childhood acute lymphoblastic leukaemia. *J Clin Oncol*. 1988;6(1):56-61.

10. Brasil. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. Leucemias agudas na infância e adolescência: condutas do INCA/MS. *Rev Bras Cancerol.* 2001;47(3):245-257.
11. Carroll WL, Bhojwani D, Min DJ, Raetz E, Relling M, Davies D, et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program.* 2003;102-131.
12. Thalhammer-Scherrer R, Mitterbauer G, Simonitsch I, Jaeger U, Lechner K, Schneider B, et al. The immunophenotype of 325 adult acute leukemias: Relationship to morphologic and molecular classification and proposal for a minimal screening program highly predictive for lineage discrimination. *Am J Clin Pathol.* 2002;117(3):380-9.
13. Ward MS. The use of flow cytometry in the diagnosis and monitoring of malignant hematological disorders. *Pathology.* 1999;31(4):382-92.
14. De Zen L, Orfao A, Cazzaniga G, Masiero L, Cocito MG, Spinelli M, et al. Quantitative multiparametric immunophenotyping in acute lymphoblastic leukemia: Correlation with specific genotype. I. ETV6/AML1 ALLs identification. *Leukemia* 2000; 14(7):1225-31.
15. Ludwing WD, Rieder H, Bartram CR, Heinze B, Schwartz S, Gassmann W, et al. Immunophenotypic and genotypic features, clinical characteristics, and treatment outcome of adult pro-B acute lymphoblastic leukemia: results of the German Multicenter Trials GMALL 03/87 and 04/89. *Blood.* 1998;92(6):1898-909.
16. Crist WM, Grossi CE, Pullen DC, Cooper MD. Immunologic markers in childhood acute lymphocytic leukaemia. *Semin Oncol.* 1985;12(2):105-21.
17. Garand R, Béné MC. Incidence, clinical and laboratory features, and prognostic significance of immunophenotypic subgroups in acute lymphoblastic leukaemia: the GEIL experience. *Rec Res Cancer Res.* 1993;131:283-95.
18. Lee RG, Bithell TC, Foerster J, Athens JW, Lukens JN. *Wintrobe Hematologia Clínica.* 1st ed. São Paulo: Manole; 1998. 1424 p.

19. Cavalcanti Junior GB, Maia RC, Dobbin JÁ, Carriço MK, Harab RC, Savino W, et al. Importância da aplicação de anticorpos monoclonais no diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. *Rev Bras Anal Clin.* 1997;29(3):159-167.
20. Rodak BF. *Diagnostic Hematology.* 1st ed. Philadelphia: Saunders Company; 1995. 736 p.
21. Cazé MO, Bueno D, Santos MEF. Estudo referencial de um protocolo quimioterápico para leucemia linfocítica aguda infantil. *Rev HCPA.* 2010;30(1):5-12.
22. Brandalise SR. Comparison of intermittent versus continuous methotrexate plus 6-MP in maintenance regimen for standard risk acute lymphoblastic leukemia in children (GBTLI ALL-99). *J Clin Oncol.* 2007;25(18S):9512.
23. Lee MLM, Petrilli AS. O tratamento da criança com câncer no Brasil: debate da migração. *Pediatria, São Paulo.* 2004;26(1):11-2.
24. Marcondes E, editors. *Pediatria Básica.* 8th ed. São Paulo: Sarvier; 1991. 1790 p.
25. Pizzo PA, Poplack DG. *Principles and practice of pediatric oncology.* 3rd edition. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1997. 1780 p.
26. Wiersma SR, Ortega J, Sobel E, Weiberg KI. Clinical importance of myeloid antigen expression in acute lymphoblastic leukemia of childhood. *N Eng J Med.* 1991;324:800-8.
27. Heisterkamp N, Voncken JW, Senadheera D, Gonzalez-Gomez I, Reichert A, Haataja L, et al. Reduced oncogenicity of p 190 Bcr/Abl F-actin-binding domain mutants. *Blood.* 2000;96(6):2226-32.
28. Silva DB, Povaluk, P. Epidemiologia das leucemias em crianças de um Centro de Referência Estadual. *ACM Arq Catarin Med.* 2000;29(1/4):3-9.

29. Afzal S, Ethier MC, Dupuis LL, Tang L, Punnett AS, Richardson SE, et al. Risk factors for infection-related outcomes during induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Infect Dis J.* 2009;28(12):1064-8.
30. Conter V, Aricò M, Valsecchi MG, Rizzari C, Testi A, Miniero R, et al. Intensive BFM chemotherapy for childhood ALL: interim analysis of the AIEOP-ALL 91 study. *Associazione Italiana Ematologia Oncologia Pediatrica. Haematologica.* 1998;83(9):791-9.

Tabela 1: Variáveis categóricas epidemiológicas, laboratoriais e prognósticas dos pacientes com LLA.

	<b>Frequência</b>	<b>Porcentagem</b>
Gênero masculino	50	62,50%
Lactente	5	6,33%
Faixa etária ao diagnóstico		
< 2 anos	4	5,06%
2 – 5 anos	20	25,32%
6 – 9 anos	15	18,99%
10 – 14 anos	23	29,11%
> 15 anos	17	21,52%
Alto risco	50	69,44%
Imunofenótipo favorável	34	57,63%
Imunofenótipo T	10	16,67%
Imunofenótipo B CD10+	35	70,00%
Marcadores anômalos presentes	3	5,00%
Infecção	25	31,25%
Óbito na indução	25	32,05%
Óbito durante o tratamento	35	55,56%
Vivo sem doença	26	41,94%

Tabela 2: Variáveis numéricas epidemiológicas, laboratoriais e prognósticas dos pacientes com LLA.

	<b>Média</b>	<b>Desvio-padrão</b>	<b>Mediana</b>	<b>Intervalo</b>
Idade (anos inteiros)	9,53	5,12	10	1,00 - 19,00
Hemoglobina ao diagnóstico	8,7	2,98	8,6	3,00 - 16,10
Leucometria ao diagnóstico	40.871,03	86.746,43	10.100	500 - 635.000
Plaquetometria ao diagnóstico	60.701,29	66.876,96	45.000	10.000,00 - 372.000,00
Episódios infecciosos	0,4	0,64	0	0 – 2,00

Tabela 3: Comparação entre grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável quanto às variáveis categóricas.

	<b>Favorável</b>	<b>Não-favorável</b>	<b>p</b>
<b>Gênero</b>			
Masculino	23 (57,50%)	17 (42,50%)	0,8
Feminino	11 (57,89%)	8 (42,11%)	
<b>Risco ao diagnóstico</b>			
Alto	19 (51,35%)	18 (48,65%)	0,3023
Baixo	12 (70,59%)	5 (29,41%)	
<b>Infecção</b>			
Sim	13 (61,90%)	8 (38,10%)	0,8265
Não	21 (55,26%)	17 (44,74%)	
<b>Óbito na indução</b>			
Sim	8 (50,00%)	8 (50,00%)	0,7203
Não	25 (59,52%)	17 (40,48%)	
<b>Óbito durante o tratamento</b>			
Sim	12 (50,00%)	12 (50,00%)	0,4474
Não	15 (65,22%)	8 (34,78%)	
<b>Vivo sem doença</b>			
Sim	13 (65,00%)	7 (35,00)	0,4731
Não	13 (50,00%)	13 (50,00%)	

Tabela 4: Comparação entre grupos de imunofenótipo favorável e desfavorável quanto às variáveis numéricas.

	<b>Favorável (Média/Mediana)</b>	<b>Não-favorável (Média/Mediana)</b>	<b>P</b>
Idade (anos inteiros)	8,60/8,00	10,08/9,00	0,287
Hemoglobina ao diagnóstico	8,98/8,80	8,55/8,70	0,5981
Leucometria ao diagnóstico	39.626,06/6.000,00	21.363,47/14.000,00	0,4486
Plaquetometria ao diagnóstico	55.878,78/45.000,00	75.956,52/50.000,00	0,3025
Episódios infecciosos	0,44/0,00	0,48/0,00	0,83

Tabela 5: Comparação entre grupos de imunofenótipo T e B quanto às variáveis categóricas.

	<b>Imunofenótipo T</b>	<b>Imunofenótipo B</b>	<b>p</b>
<b>Gênero</b>			
Masculino	9 (22,50%)	31 (77,50%)	0,1779
Feminino	1 (5,00%)	19 (95,00%)	
<b>Risco ao diagnóstico</b>			
Alto	10 (26,32%)	28 (73,68%)	0,0499
Baixo	0 (0,00%)	17 (100,00%)	
<b>Infecção</b>			
Sim	3 (14,29%)	18 (85,71%)	1
Não	7 (17,95%)	32 (82,05%)	
<b>Óbito na indução</b>			
Sim	5 (31,25%)	11 (68,75%)	0,1756
Não	5 (11,90%)	37 (88,10%)	
<b>Óbito durante o tratamento</b>			
Sim	5 (20,83%)	19 (79,17%)	0,7473
Não	3 (13,04%)	20 (86,96%)	
<b>Vivo sem doença</b>			
Sim	3 (15,00%)	17 (85,00%)	0,9868
Não	5 (19,23%)	21 (80,77%)	

Tabela 6: Comparação entre grupos de imunofenótipo T e B quanto às variáveis numéricas.

	<b>Imunofenótipo T (Média/Mediana)</b>	<b>Imunofenótipo B (Média/Mediana)</b>	<b>P</b>
Idade (anos inteiros)	12,5/13,00	8,59/8,00	0,0269
Hemoglobina ao diagnóstico	9,57/9,00	8,54/8,65	0,3561
Leucometria ao diagnóstico	34.113,00/17.350,00	31.035,95/7.550,00	0,8728
Plaquetometria ao diagnóstico	121.100,00/82.000,00	51.957,44/41.000,00	0,0032
Episódios infecciosos	0,5/0,00	0,44/0,00	0,7998

