



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CAMPINA GRANDE
CENTRO DE EDUCAÇÃO E SAÚDE
UNIDADE ACADÊMICA DE SAÚDE
CURSO DE BACHARELADO EM FARMÁCIA**

IANNY LARISSA FIGUEIREDO DA COSTA

**AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA E IMUNOFENOTIPAGEM NA LEUCEMIA
LINFÓIDE AGUDA EM CRIANÇAS: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

**Cuité - PB
2014**

IANNY LARISSA FIGUEIREDO DA COSTA

**AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA E IMUNOFENOTIPAGEM NA LEUCEMIA
LINFÓIDE AGUDA EM CRIANÇAS: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de Bacharelado
em Farmácia da Universidade Federal
de Campina Grande como forma de
obtenção do título de bacharel em
Farmácia.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon

**Cuité - PB
2014**

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA NA FONTE
Responsabilidade Msc. Jesiel Ferreira Gomes – CRB 15 – 256

C837a Costa, Ianny Larissa Figueiredo da.

Avaliação do hemograma e imunofenotipagem na leucemia linfóide aguda em crianças: uma revisão da literatura. / Ianny Larissa Figueiredo da Costa. – Cuité: CES, 2014.

53 fl.

Monografia (Curso de Graduação em Farmácia) – Centro de Educação e Saúde / UFCG, 2014.

Orientador: Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon.

1. Leucemia linfóide aguda - crianças. 2. Imunofenotipagem. 3. Leucemia linfóide aguda - hemograma. I. Título.

CDU 616-036.22

IANNY LARISSA FIGUEIREDO DA COSTA

**AVALIAÇÃO DO HEMOGRAMA E IMUNOFENOTIPAGEM NA LEUCEMIA
LINFÓIDE AGUDA EM CRIANÇAS: UMA REVISÃO DA LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao Curso de
Bacharelado em Farmácia, como
forma de obtenção do título de
bacharel em Farmácia pela
Universidade Federal de Campina
Grande.

Aprovada em ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon/UFCG/CES
Orientador

Prof^a. Dr^a. Igara Oliveira Lima/UFCG/CES
Examinadora

Prof. Dr. Wylly Araújo de Oliveira/UFCG/CES
Examinador

DEDICATÓRIA

A minha mãe, Maria Cleusiene, por juntamente ao meu pai, ter me dado oportunidade para estudar. Por estar ao meu lado, mesmo com a distância, em todos os momentos maravilhosos e de dificuldade encontrados por mim nesta caminhada. Por todas as orações em momentos de aflição, pelas palavras amigas, pela confiança, e principalmente por ter acreditado no meu potencial mesmo quando nem eu acreditava.

Ao meu pai, Ivan, por todos os sacrifícios feitos para que eu pudesse ter um conforto maior para estudar. Pelo orgulho que sente e sempre sentiu em relação ao meu nome. Pela confiança, amor e respeito que tem por mim. Por todas as noites mal dormidas de preocupação por alguma prova difícil que eu tivesse, ou pela minha saúde.

Ao meu único irmão, Diego, por toda ajuda acadêmica e emocional no decorrer dessa caminhada, pela torcida e pelo carinho. Pela preocupação e por ter se feito presente na minha vida mesmo com a distância.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Dr. Carlos Márcio Moura Ponce de Leon, pela confiança em mim depositada ao aceitar orientar este trabalho, me dando a oportunidade de estudar a área em que eu mais me identifiquei durante a minha formação acadêmica. Agradeço pela paciência, pela seriedade e por toda a ajuda a mim concedida durante esse período de um ano de construção do nosso trabalho. Definitivamente, sem sua ajuda este trabalho não teria sido possível.

A Banca examinadora professores Drs. Igara e Wylly, por ter aceitado avaliar o meu trabalho. Agradeço por todas as correções que vieram a melhorar e consequentemente enriquecer este trabalho.

Agradeço a Deus, por abençoar sempre todas as minhas escolhas. Por um dia ter plantado em meu coração o sonho de ser farmacêutica, e ter me dado oportunidade de ir a busca desse sonho. Sem minha fé, eu teria desistido no primeiro obstáculo que surgiu em meu caminho. Agradeço então por toda força e determinação a mim concedidas para que eu pudesse seguir em frente. Por ter preparado com perfeição todos os meus amigos que conheci através da faculdade, uma cidade maravilhosa para que eu estudasse, garantindo assim que apesar de todas as minhas abdições, eu pudesse ser feliz durante todos esses anos de luta por esse sonho.

A minha mãe, Maria Cleusiene, por ter me dito que eu poderia escolher a profissão que eu quisesse, pois acreditava que eu seria vencedora em qualquer uma delas. Por ter me dado todo apoio para que eu saísse de casa tão jovem, para uma cidade distante e até então desconhecida, mesmo com toda a preocupação que isso implicaria, mas acreditando que seria para uma realização de vida, passando a ter esse meu sonho também como seu. Obrigada Mainha, por tudo que a senhora representa em minha vida, se eu não desisti desse objetivo todas as vezes que parecia tão lógico desistir, foi porque a senhora acreditou em mim.

Ao meu pai, Ivan, por não ter medido esforços para que eu pudesse ter a chance de crescer na vida, e me tornar uma profissional da área de saúde. Por todo orgulho que sente por mim e pelo meu irmão, pela nossa decisão de estudar. Obrigada Painho, pela saudade sentida, pelas preocupações por tantos problemas que tive que enfrentar nessa

caminhada, por me levantar em cada queda e dizer que eu era capaz sim de chegar até aqui, e por isso aqui estou. Não tenho palavras para agradecer ao senhor e a Mainha por toda uma vida de dedicação e abdições pela minha felicidade.

Ao meu irmão, Diego, pela amizade sincera de uma vida inteira. Pela ajuda, compreensão, uma palavra de autoestima, ou qualquer forma de carinho a mim direcionada. Obrigada, por tornar tudo sempre mais fácil.

Agradeço as minhas amigas e companheiras de apartamento Brisa, Andreza, Rayssa e Natânia. Obrigada meninas, por uma amizade tão linda, e forte. Agradeço por terem tornado essa jornada divertida e maravilhosa. Obrigada pela força nos momentos tristes, de dificuldade, pela ajuda na hora da doença, pelas farras e pelos sonhos construídas juntas. Caso a distância teime em nos separar, estarei sempre na esperança de um reencontro. Eu consigo definir vocês em uma palavra: Inesquecíveis.

A cidade de Cuité, por ter proporcionado os cinco melhores e mais bem vividos anos da minha vida. Pela simplicidade e pela hospitalidade admirável. Por todos os amigos que eu pude conhecer nesta cidade, Raissa, Priscila Nunes, Priscila Vale, Wendeberto, Vanessa, Isabely, Thiago, e tantos outros que levarei desta cidade para a vida. A cidade de Cuité e os momentos aqui vividos irão fazer parte das minhas memórias para sempre.

A todos os moradores da Residência de Campina Grande, mais conhecida como “Casa Velha”. Agradeço pelo nosso “1 ano” de convivência, que foi possível pela realização dos nossos tão sonhados estágios. Nesse pouco tempo, mas tão intenso, grandes laços foram criados e hoje tenho pessoas e momentos que levarei com carinho e saudade para sempre em meu coração. Desejo todo sucesso e felicidade do mundo a vocês: Ícaro, Júlia, Vanessa, Ismênia, Fernanda, Vivianne, Tiago, Danilo, Maiala Rafaella, Natália, José Neto e demais moradores.

As minhas amigas da vida inteira, que deixei em Pombal quando decidir estudar fora, Danyelly e Tamyris. Obrigada queridas, por não terem deixado que nossa amizade morresse ou até mesmo enfraquecesse mesmo com toda a distância. Obrigada por toda a força e pela torcida de sempre pelo meu sucesso.

Agradeço a minha família como um todo, por todos os votos de vitória e felicidade. A esta cabe avó, tios, tias, primos e cunhada. Muito obrigada.

“Num determinado dia, em uma determinada circunstância, você acha que tem um limite. Você chega até esse limite, você toca esse limite e pensa: - OK, este é o limite! – Logo que você toca esse limite alguma coisa acontece e você pode ir um pouco mais além (...)”

Ayrton Senna

RESUMO

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA), é uma proliferação neoplásica que acomete blastos de características linfóides. A LLA apresenta como principais sintomas febre e cansaço, que são similares a sintomas de diversas doenças comuns em crianças, o que dificulta o diagnóstico clínico. Desta forma, o diagnóstico laboratorial é indispensável para confirmação da LLA, conduzindo o paciente para o tratamento adequado. O hemograma é o exame rotineiro que direciona o diagnóstico diferencial, que é realizado por caracterização morfológica, citogenética e imunofenotípica. O presente trabalho teve como objetivo realizar uma pesquisa bibliográfica a fim de identificar as possíveis alterações encontradas no hemograma de crianças com LLA, assim como características imunofenotípicas envolvidas na doença. Durante a revisão foram encontrados, nos bancos de dados CAPES e SCIELO, artigos publicados de 2004 a 2014, compreendendo um período de 10 anos. As principais alterações no hemograma encontradas em crianças com LLA foi leucocitose, plaquetopenia e baixos índices de hemoglobina. Em relação à imunofenotipagem, a LLA de precursor B apresentou uma prevalência significativa em relação à LLA de precursor T, com um frequência em média de 76% e 24%, respectivamente. O subtipo mais frequente encontrado foi o LLA-BII (em média 54% dos casos). Na caracterização da LLA-B, marcadores como CD10, CD20, CD22, CD19, CD45 e cyCD79a, se repetiram ente os artigos. Já na caracterização de LLA-T, CD7, CD4, CD5, CD2, CD3, cyCD3 e CD8 foram marcadores comuns encontrados entre os autores. Desta forma, os dados obtidos mostram que o hemograma possui parâmetros que conseguem direcionar o diagnóstico da LLA, e a imunofenotipagem é um método eficaz para a confirmação deste diagnóstico, assim como também o monitoramento da doença.

Palavras-chave: Leucemia Linfóide Aguda em Crianças; Imunofenotipagem; Hemograma na LLA infantil.

ABSTRACT

The Leukemia Acute Lymphoblastic (ALL) is a neoplastic proliferation of lymphoid blasts affecting characteristics. The LLA has major symptoms as fever and fatigue, which are similar to symptoms of many common diseases in children, which complicates the clinical diagnosis. Thus, the laboratory diagnosis is essential for confirmation of ALL, leading the patient to the appropriate treatment. The CBC is a routine exam that directs the differential diagnosis, which is performed by morphological, cytogenetic, and immunophenotypic characterization. The present study aimed to perform a literature search to identify possible changes found in the blood count of children with ALL, and immunophenotypic characteristics involved in the disease. During the review were found on the banks of CAPES and SCIELO articles that supported the theme comprehensively and clearly, published from 2004 to 2014, comprising a period of 10 years data. The main changes in the blood count found in children with ALL was leukocytosis, thrombocytopenia and low hemoglobin levels. Regarding immunophenotyping, ALL precursor B showed significant prevalence compared to T ALL precursor with an average frequency of 76% and 24%, respectively. The most common types was LLA-BII (on average 54% of cases). In characterizing the LLA-B, as markers CD10, CD20, CD22, CD19, CD45 and cyCD79a, is being repeated items. Have the characterization of T-ALL, CD7, CD4, CD5, CD2, CD3, CD8 and cyCD3 common markers were found among the authors. Thus, the data obtained show that the CBC has parameters that can direct the diagnosis of ALL, and immunophenotyping is an effective method to confirm this diagnosis, as well as monitoring disease.

Keywords: Acute Lymphoblastic Leukemia in Children; immunophenotyping; CBC in infant ALL.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1-	Formação celular pelo sistema hematopoiético.....	17
Figura 2-	Linfoblastos de LLA-L1.....	24
Figura 3-	Linfoblastos de LLA-L2.....	25
Figura 4-	Linfoblastos de LLA-L3.....	25
Figura 5-	Perfil Imunofenotípico das Leucemias Linfóides.....	26
Figura 6-	Representação gráfica da prevalência do tipo celular de Leucemia Linfóide Aguda encontrada nos artigos apresentados na tabela 4.....	36
Figura 7-	Representação gráfica da prevalência dos marcadores positivos para caracterizar LLA-B encontrados nos artigos apresentados na tabela 4.....	37
Figura 8-	Representação gráfica da prevalência dos marcadores positivos para caracterizar LLA-T encontrados nos artigos apresentados na tabela 4	37

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Tabela 1- Painel Inicial de Imunofenotipagem para Leucemias Agudas.....	26
Tabela 2- Marcação por Linhagem para Leucemias Agudas	27
Tabela 3- Principais alterações no hemograma de crianças com Leucemia Linfóide Aguda, encontradas em artigos publicados na literatura entre o período de 2004 à 2012.....	32
Tabela 4- Prevalência dos imunofenótipos e principais marcadores encontrados durante a imunofenotipagem em artigos publicados na literatura entre o período de 2004 à 2011.....	33

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AMEO	Associação da Medula Óssea
BFM	Protocolo Berlim-Frankfurt-Munique
CALLA	Common Acute Lymphoblast Leukaemia
CMF	Citometria de Fluxo
FAB	Sistema Francês-Americano-Britânico
FITC	Fluorocianina Isotiocianina
Hg	Hemoglobina
INCA	Instituto Nacional do Câncer
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LLA-B	Leucemia Linfóide Aguda do tipo B
LLA-T	Leucemia Linfóide Aguda do tipo T
LLC	Leucemia Linfóide Crônica
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
LMC	Leucemia Mielóide Crônica
LNLA	Leucemia não Linfóide Aguda
PE	Ficoeritrina
PE-Cy5	Ficoeritrina Cianina 5
Ph	Cromossomo Filadélfia
SD	Síndrome de Down
SNC	Sistema Nervoso Central

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	14
2.	OBJETIVOS.....	16
2.1	Objetivo geral	16
2.2	Objetivos específicos.....	16
3.	REFERENCIAL TEÓRICO	17
3.1	Hematopoese	17
3.2	Câncer Infantil.....	18
3.3	Leucemias	19
3.3.1	Leucemia Mielóide Aguda	20
3.3.2	Leucemia Mielóide Crônica	20
3.3.3	Leucemia Linfóide Aguda	21
3.3.4	Leucemia Linfóide Crônica.....	21
3.4	Leucemia Linfóide Aguda	22
3.4.1	Epidemiologia.....	22
3.4.2	Sinais Clínicos.....	22
3.4.3	Diagnóstico Laboratorial.....	23
3.4.3.1	Hemograma	23
3.4.3.2	Mielograma	23
3.4.3.3	Morfologia	24
3.4.3.4	Imunofenotipagem	25
3.4.4	Tratamento	27
4.	MEDODOLOGIA.....	29
4.1	Desenho do Estudo	29
4.2	População do Estudo	29
4.3	Procedimentos	29
4.3.1	Coleta de dados	29
4.3.2	Análise e Interpretação dos Resultados	30

4.3.3	Discussão dos Resultados	30
5.	RESULTADOS	31
6.	DISCUSSÃO	38
7.	CONCLUSÃO	41
	REFERÊNCIAS	42
	ANEXOS	50

1. INTRODUÇÃO

Leucemias são doenças malignas do sistema hematopoiético, caracterizadas pela proliferação clonal de células imaturas por diferenciação anormal (HODGSON et al., 2007). Este tipo de doença constitui a neoplasia maligna mais abrangente em crianças, correspondendo a cerca de 33% de todas as doenças malignas em pacientes de até 14 anos no mundo (PETRIDOU, 2002).

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é definida como uma neoplasia maligna resultante da produção descontrolada de blastos de características linfóides, estando relacionada também na interferência da produção normal de plaquetas, glóbulos brancos e vermelhos (HAMERSCHLAK, 2008).

A causa da LLA ainda é desconhecida, porém não é provável que a leucemia seja resultado de apenas um fator. A doença deve-se a vários eventos de interações complexas que englobam a susceptibilidade do paciente, danos a seus cromossomos devido a exposições à agentes químicos e físicos, e a possíveis incorporações de informações genéticas de vírus que são transmitidos às células progenitoras susceptíveis (LEITE et al. 2007).

As leucemias representam as neoplasias mais diagnosticadas em crianças na maioria dos países, representando 25% a 30% de todas as neoplasias malignas pediátricas. Dentre os tipos de leucemias, as mais comuns são as agudas, principalmente a Leucemia Linfóide Aguda, totalizando, nas populações brancas da América do Norte, Oceania e Europa, de 75% a 80% de todas as leucemias. Nas mesmas regiões, a Leucemia não Linfóide aguda (LNLA) compreende de 15% a 17% dos casos (BRAGA, 2000).

Os sinais e sintomas das leucemias são inespecíficos, podendo assim confundir o diagnóstico, simulando o quadro clínico de muitas patologias, como por exemplo a Artrite Reumatoide juvenil, Febre Reumática, Lupus Eritematoso Sistêmico, Púrpura Trombocitopênica Idiopática, Aplasia Medular e Mononucleose Infecciosa, entre outras, (PUI, CRIST, 1999; OSTROV, GOLDSMITH, ATHREYA, 1993; OLIVEIRA, LAUN, 1989).

Um sintoma inicial da leucemia é a dor óssea, que ocorre em 25% dos pacientes, atingindo preferencialmente os ossos longos. Este sintoma é resultado de uma

infiltração leucêmica do periósteo causando uma expansão medular, que pode ser causada por uma hemorragia ou pelos linfoblastos (MARGOLIN, POPLACK, 1997).

Para diagnosticar as leucemias agudas, é realizada em grande parte a análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas. Esses métodos não possuem grande reprodutibilidade, tornando difícil classificar outros pacientes, sendo assim a ciência busca outros parâmetros para o diagnóstico diferencial. Atualmente, o diagnóstico e a classificação das leucemias agudas são realizadas por estudos imunofenótipos e citometria de fluxo, avançando assim na identificação de vários subgrupos que dificilmente, poderia ser classificado em análise morfológica (OKUDA et al. 1995).

A partir de 1970 as taxas de mortalidade diminuíram significativamente em países mais desenvolvidos. Esses resultados podem ser explicados pela precocidade no diagnóstico, padronização de protocolos terapêuticos e à consequente melhoria na sobrevida de crianças com leucemia (LINET et al., 1999).

A imunofenotipagem é uma técnica de grande importância no diagnóstico, classificação, prognóstico, estadiamento, monitoramento, como na caracterização fenotípica das células hematopoiéticas patológicas (BONJEAN et al., 2004; MARTINS, FALCÃO, 2000).

O presente trabalho é importante para que se conheçam os parâmetros alterados no hemograma, e características imunofenotípicas na LLA, pois se trata de uma doença de difícil diagnóstico clínico, necessitando de um diagnóstico laboratorial precoce para sucesso do tratamento.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

- Realizar um levantamento de dados sobre o hemograma e a imunofenotipagem na Leucemia Linfóide Aguda em crianças.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar as possíveis alterações no hemograma em crianças com Leucemia Linfóide Aguda;
- Verificar os principais marcadores imunofenotípicos nas células sanguíneas encontrados na LLA;
- Observar a prevalência do tipo e subtipos celulares na Leucemia Linfóide Aguda nos trabalhos pesquisados.

3. REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Hematopoeese

A hematopoeese se trata do processo de diferenciação, proliferação e liberação das células sanguíneas para exercerem suas funções biológicas no organismo. Para que este processo possa ocorrer, uma célula precursora hematopoiética denominada célula-tronco (“*stem cell*”) é responsável por comandar essas ações (PUI et al. 1991; GRAF, 2002; LENSCH, 2012).

O processo da hematopoeese é iniciado desde a vida intra-uterina no saco vitelino, e ocorre por toda a vida, isto devido ao curto período de vida celular e a importância vital das células sanguíneas (MOORE, METCALF, 1970; FERKOWICZ, YODER, 2005; GEKAS, et al., 2010). A hematopoeese iniciada no saco vitelino muda gradualmente para o fígado, e se implanta definitivamente na medula óssea (GODIN, CUMANO, 2002; CUMANO, GODIN, 2007; LENSCH, 2012).

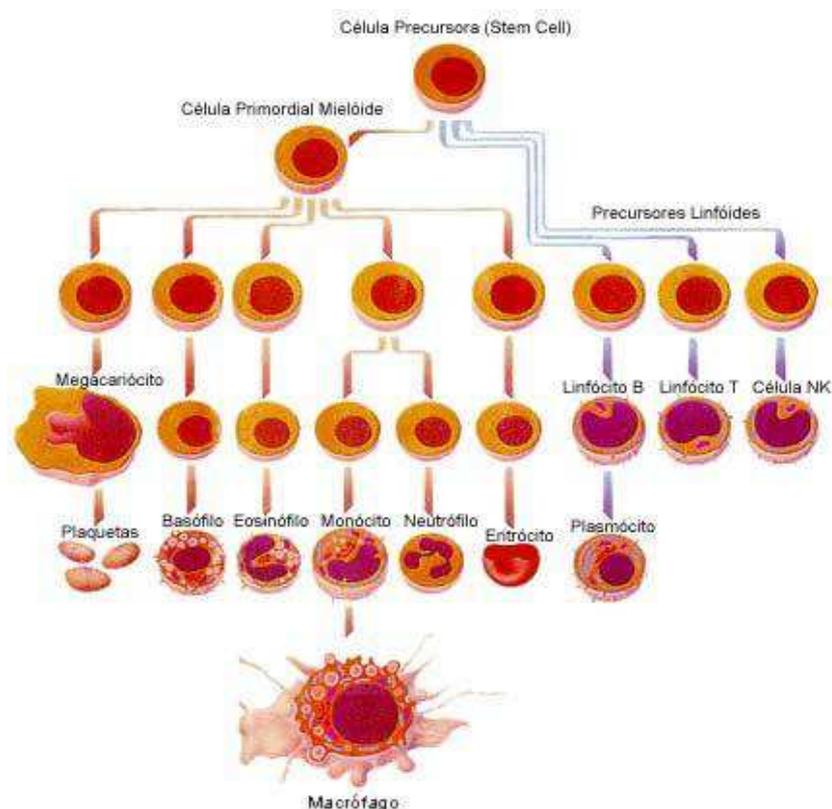


Figura 1: Formação Celular pelo Sistema Hematopoiético. Fonte: <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=344>. Acesso em: 5 de abr. de 2014.

A porção celular do sangue constitui-se de elementos provenientes de três linhagens diferentes, porém que se originam de uma célula mãe única, denominada célula pluripotente, totipotente, célula-tronco ou *stem-cell*. Essa célula origina células filhas que seguem dois caminhos: umas permanecem como células pluripotentes, mantendo essa população (a qual é constante), e outras evoluem em um sentido mais avançado. Ainda são indiferenciadas, capazes de multiplicação, mas já orientadas para uma única, ou apenas para algumas linhagens celulares. Tais células são designadas progenitoras (VERRASTRO, 2002).

Os progenitores originados da célula-tronco hematopoética podem estar comprometidos tanto com a linhagem mieloide, formada por granulócitos, eritrócitos, megacariócitos e monócitos; quanto a linhagem linfoide, formada por linfócitos B, linfócitos T e células *natural killer* (Figura 1) (FERREIRA, FRANÇA, OGLIARI, 2012).

3.2 Câncer Infantil

São diagnosticados mais frequentemente em pacientes menores de 15 anos de idade leucemias, linfomas, tumores do sistema nervoso central e do sistema simpático, rabdiossarcomas, tumor de Wilms, retinoblastomas e tumores ósseos (BLEYER, 1990; PARKIN et al. 1988).

As crianças de menores faixas etárias, entre 0 e 4 anos são as mais propensas ao desenvolvimento de câncer (PETRILLI et al. 1997), exceto carcinomas, linfomas e tumores ósseos, que são mais predominantes em crianças entre 10 e 14 anos. Do ponto de vista clínico-evolutivo, os tumores infantis tendem a apresentar menores períodos de latência, quase sempre crescem rapidamente, são agressivamente invasivos e respondem melhor à quimioterapia (LITTLE, 1999).

A doença maligna mais comum em menores de quinze anos é a Leucemia Linfóide Aguda (LLA), apresentando maior incidência em crianças entre dois e cinco anos, representando 25% de todos os cânceres em crianças brancas nessa faixa etária (MAUER, 1995). Um fator de importância prognóstica independente em crianças com LLA é a idade. Crianças com idade superior a nove anos apresentam pior prognóstico, o que fez com que esta variável tenha sido considerada na estratificação de risco para LLA de precursor B. (SMITH et al, 1996).

As crianças com Síndrome de Down (SD) têm um risco de desenvolver leucemia dez a vinte vezes maior do que a população em geral. A predisposição aumentada para leucemia é observada tanto nos 90% de pacientes com fenótipo típico de SD e trissomia livre do cromossomo 21 quanto naqueles com mosaicismos para trissomia do 21 (5%), translocações Robertsonianas (1%), trissomia parcial do 21 (0,5%) ou cromossomo 21 em anel (0,5%) (LANGE, 2000). O(s) mecanismo(s) pelo(s) qual(ais) o cromossomo 21 adicional contribui para o processo de leucemogênese ainda não são claros. Embora já se conheçam diversos oncogenes relacionados à leucemia e que são localizados no cromossomo 21, nenhum é claramente associado ao desenvolvimento de LLA em SD (WHITLOCK, 2006; GURBUXANI, VYAS, CRISPINO, 2004).

Há um crescente aumento no número de sobreviventes ao câncer na infância a partir da década de 1960. As taxas de incidência são crescentes ou estáveis em países desenvolvidos, mas a mortalidade é decrescente. As taxas de sobrevivência atingiram 75% na última década (BRAGA, LATORRE, CURADO, 2002).

3.3 Leucemias

O termo leucemia é derivado do grego e significa "sangue branco". A leucemia caracteriza-se pela produção anormal ou acúmulo de um ou mais tipos de glóbulos brancos. O crescimento de células leucêmicas acaba prejudicando a medula óssea, tornando incapaz de manter a produção normal de hemácias, plaquetas e glóbulos brancos. O efeito da leucemia, em cadeia, é anemia, sangramento e capacidade de combate a infecção prejudicada. Conforme as células leucêmicas circulam pelo sangue e sistema linfático, acabam infiltrando órgãos vitais como o baço e o fígado, que por sua vez tornam-se prejudicados e incapazes de funcionar normalmente (CAVALCANTE, 2004).

De acordo com a Associação da Medula Óssea – AMEO (2014) existem diversos tipos de leucemias, estas são classificadas de acordo com o tempo de sua evolução e do tipo de célula afetada. Em relação à classificação quanto ao tempo de evolução, as leucemias são divididas em Agudas e Crônicas. As leucemias agudas se instalam rapidamente, em dias ou poucos meses o paciente apresenta na maioria dos casos: fraqueza, cansaço excessivo, perda de peso, palidez, sangramentos, anemia e

infecções contínuas. As células que caracterizam a leucemia aguda são chamadas "blastos", por serem imaturas e se duplicarem rapidamente. As leucemias crônicas se instalam lentamente, com os sintomas se apresentando de maneira não muito evidentes, muitas vezes o diagnóstico é feito através de um exame alterado de rotina sem que o paciente tenha percebido qualquer sintoma relacionado à doença. A leucemia crônica costuma ser menos agressiva e as complicações podem levar meses ou anos para ocorrer.

Em relação a classificação das leucemias quanto ao tipo celular, a célula-tronco normalmente se diferencia em células linfóides, originando os linfócitos B e T e em células mielóides, dando origem aos outros glóbulos brancos (neutrófilos, basófilos, eosinófilos e monócitos), aos eritrócitos ou glóbulos vermelhos e às plaquetas. A Leucemia é denominada Linfóide quando há alteração nas células linfóides, e Leucemia Mielóide, quando a alteração é nas células mielóides (AMEO, 2014).

3.3.1 Leucemia Mielóide Aguda

A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é caracterizada pelo crescimento exagerado descontrolado de células indiferenciadas, que são chamadas "blastos", de característica mielóide. Alguns casos pode-se relacionar pacientes com LMA à exposição a benzeno, a irradiações ionizantes, como por exemplo o acidente que ocorreu em Hiroshima, e à exposição à quimioterapia. A LMA apresenta-se com uma variedade de tipos de celulares que são observado no sangue periférico e medula óssea. Esta observação possibilitou a subclassificação em oito subtipos: M0 e M1, mieloblásticas imaturas; M2, mieloblástica madura; M3, promielocítica; M4, mielomonocítica; M5, monocítica; M6, eritroleucemia; e M7, megacariocítica (HAMERSCHLAK, 2008).

3.3.2 Leucemia Mielóide Crônica

A Leucemia Mielóide Crônica (LMC) caracteriza-se pela presença de uma anormalidade genética adquirida, a qual foi chamada de Cromossomo Filadélfia - Ph. O cromossomo Ph é uma anormalidade que envolve os cromossomos de números 9 e 22.

Esta fusão de pedaços de cromossomos é chamada, em nível de gene, de BCR-ABL (NOWELL, 1960; NOWELL 1961). Na LMC, diferentemente da LMA possui as células geralmente funcionando de maneira adequada, permitindo assim um curso inicial da doença mais leve do que na LMA (HAMERSCHLAK, 2008).

A maioria dos casos de LMC ocorre em pacientes adultos. A frequência deste tipo de leucemia é de 1 em 1 milhão de crianças até os 10 anos. Em adultos, a frequência fica em torno de 1 em 100.000 indivíduos (OBRIEN, et al. 2007).

3.3.3 Leucemia Linfóide Aguda

A Leucemia Linfóide Aguda (LLA) é uma neoplasia caracterizada pelo acúmulo de células imaturas da linhagem linfóide, na medula óssea, sangue periférico e órgãos linfóides, sendo seu pico de incidência por volta dos 5 anos de idade (KEBRIAIEI, ANASTASI, LARSON, 2002). A LLA abarca cerca de 80% de todos os casos em crianças, o que a torna o câncer mais comum na faixa etária pediátrica (OLIVEIRA, DINIZ, VIANA 2004).

Os sinais e sintomas da LLA são muito parecidos aos da LMA, como cansaço, falta de ar, sinais de sangramento, infecções e febre. Além disso, podem ocorrer aumento de gânglios, inflamação dos testículos, vômitos e dor de cabeça sugestivos de envolvimento do sistema nervoso (HAMERSCHLAK, 2008).

3.3.4 Leucemia Linfóide Crônica

A leucemia linfóide crônica (LLC) é uma neoplasia do sistema linfopoiético que possui algumas características epidemiológicas que a distinguem das demais leucemias em diversos aspectos. A LLC é a leucemia mais frequente nos países ocidentais, ocupando 22% a 30% de todas as leucemias em pacientes adultos, sendo extremamente rara nos países asiáticos (KEATING, 2002).

A LLC é uma doença predominantemente do idoso; a idade mediana ao diagnóstico é de 64-70 anos, sendo rara a sua ocorrência em indivíduos <30 anos. Um aumento exponencial na incidência da LLC é observado com o avançar da idade, para ambos os sexos, sendo a incidência em indivíduos >65 anos de 20,6 casos/100.000/ano enquanto em <65 anos é de apenas 1,3 casos /100.000. Há um predomínio no sexo

masculino, apesar de haver variação de acordo com o país. Nos EUA, a incidência ajustada à idade mostra uma relação M:F de 1,9:1 (REDAELLI et al., 2004).

3.4 Leucemia Linfóide Aguda

3.4.1 Epidemiologia

Países desenvolvidos como EUA, Inglaterra e outros países europeus têm apresentado aumento da incidência de leucemia infantil. Esta elevação tem sido parcialmente explicada pelo melhor acesso da população aos serviços da saúde e a melhorias no registro de câncer. Países em desenvolvimento têm apresentado menor incidência de leucemia, porém na cidade de São Paulo – SP as taxas são parecidas com as observadas em países desenvolvidos (LINABERY, JOHNSON, ROSS, 2008; SHAH, COLEMAN, 2007; COEBERGH et al., 2006; RIBEIRO, LOPES, CAMARGO, 2007; MIRRA, LATORRE, VENEZIANO, 2004).

Possíveis fatores de risco têm sido analisados em estudos epidemiológicos sobre a leucemia aguda na infância. Um estudo recente afirma que apenas a radiação ionizante é identificada como um fator de risco para os casos estudados, enquanto outros fatores potenciais mostraram resultados conflitantes (BELSON et al., 2007).

3.4.2 Sinais Clínicos

Segundo o Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – INCA (2014) os principais sintomas da leucemia decorrem do acúmulo dessas células na medula óssea. Dessa forma, essas células acabam impedindo ou prejudicando a produção dos glóbulos brancos, causando infecções; produção dos glóbulos vermelhos causando anemia; e produção de plaquetas, acarretando hemorragias. Quando a doença se instala, ela rapidamente progride, necessitando dessa forma que o tratamento seja rapidamente iniciado após o diagnóstico e classificação da leucemia.

3.4.3 *Diagnóstico Laboratorial*

As leucemias agudas são diagnosticadas em grande parte por análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas (OKUDA et al. 1995; OYEKUNLE et al. 2011). Porém é difícil classificar outros pacientes, pois esses métodos são têm muita reprodutibilidade, sendo assim a ciência busca outros parâmetros para o diagnóstico diferencial. O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas são realizados por estudos imunofenótipos de citometria de fluxo, avançando dessa forma na identificação de vários subgrupos que dificilmente, poderia ser classificado em análise morfológica (OKUDA, 1995).

O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas são um argumento de contínua evolução visto que permitem a identificação do tipo celular envolvido na leucemogênese, o que é essencial, pois orienta a terapêutica e determina, até certo ponto, o prognóstico (CAVALCANTI, 2004).

3.4.3.1 Hemograma

Um paciente com Leucemia Linfóide Aguda pode revelar um hemograma com anemia normocítica e normocrômica e trombocitopenia. A contagem de leucócitos pode estar muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída. Em pacientes leucopênicos, os blastos são raros ou ausentes, mas em casos de leucocitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria (FARIAS, CASTRO, 2004; JACOBS, WOOD, 2002).

3.4.3.2 Mielograma

O mielograma na LLA revela geralmente hiper celularidade acentuada, com substituição quase total das células normais por linfoblastos leucêmicos. Muitas vezes, nos esfregaços de material medular, a morfologia dessas células é mais marcada, facilitando a classificação dos tipos de LLA (LORENZI, 2006). Em pacientes leucopênicos, os blastos são raros ou ausentes, mas em casos de leucocitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria. Laboratorialmente, o diagnóstico da LLA

fundamenta-se na demonstração de mais de 20% de linfoblastos na medula óssea, critério da OMS. (FALCÃO et al. 2002).

3.4.3.3 Morfologia

A classificação Grupo FAB (Sistema Francês-Americano-Britânico), que foi descrita nos anos 70, é baseada na análise morfológica das células malignas (BENNETT et al. 1976). Os grupos estão descritos abaixo:

- LLA-L1: o tamanho dos blastos é pequeno, apresenta cromatina homogênea e o núcleo é bem regular com nucléolo de difícil delimitação ou ausente. A relação núcleo/citoplasmática é elevada, o citoplasma apresenta uma fraca basofilia e raros vacúolos (Figura 2);
- LLA-L2: número elevado de linfoblastos de tamanho médio a grande com núcleo irregular e cromatina heterogênea. Este grupo representa praticamente 70% dos casos, sendo assim a mais comum dos três tipos (Figura 3);
- LLA-L3: há predominância de blastos grandes com padrão de cromatina variável, o formato do núcleo também é variável, mas geralmente apresentasse ovalado, e o nucléolo normalmente é múltiplo e proeminente. A relação núcleo/citoplasma é baixa, a basofilia citoplasmática é intensa, e a presença de vacuolizações citoplasmáticas é frequente. Os blastos da LLA-L3 são muito semelhantes às células do Linfoma de Burkitt (Figura 4);

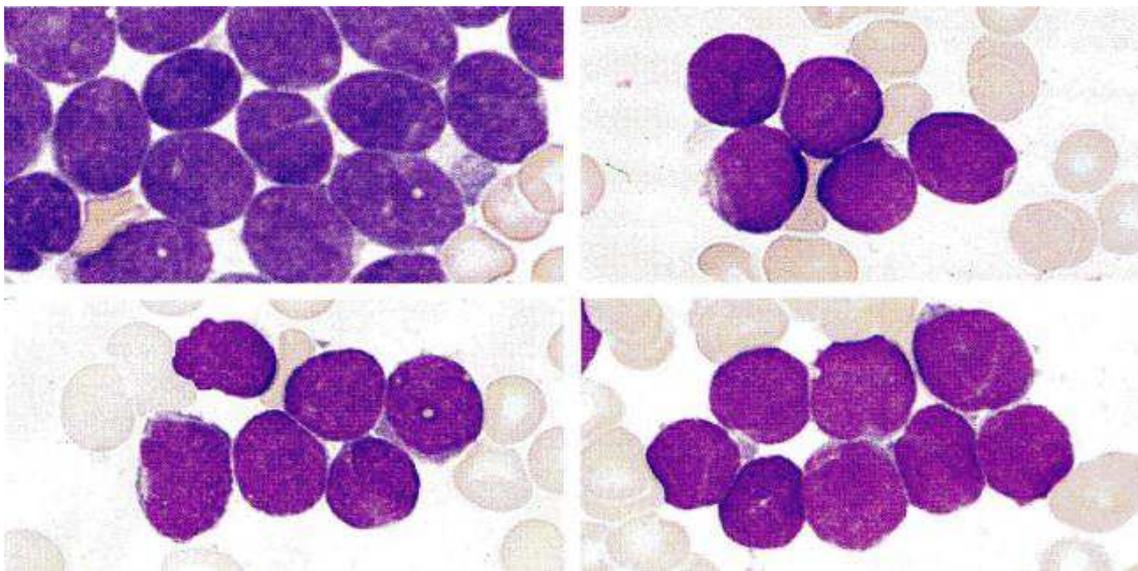


Figura : 2. Linfoblastos LLA-L1. Fonte: HOFFRAND, PETTIT, 1991. pag. 8.2-8.10.

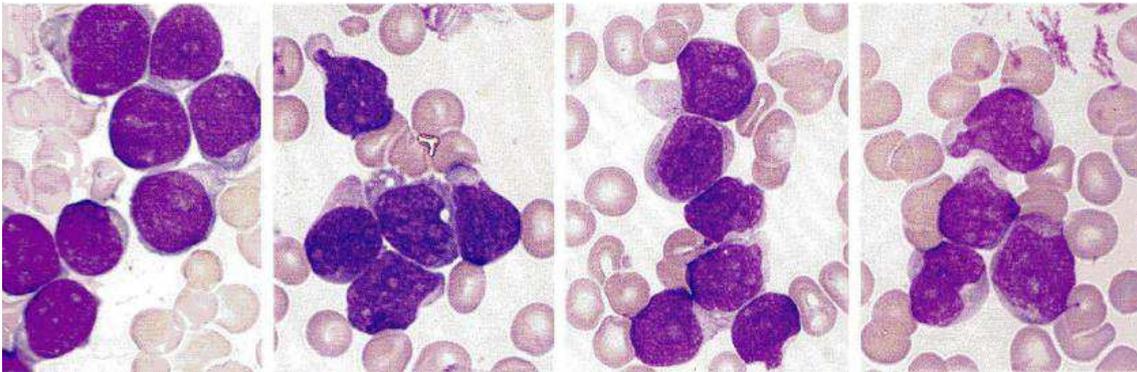


Figura: 3. Linfoblastos LLA-L2. Fonte: HOFFRAND, PETTIT, 1991. pag. 8.2-8.10.

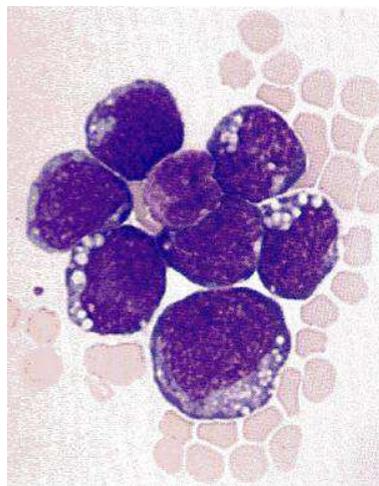


Figura 4: linfoblastos LLA-L3. Fonte: HOFFRAND, PETTIT, 1991. pag. 8.2-8.10.

3.4.3.4 Imunofenotipagem

De acordo com as características imunofenotípicas dos linfoblastos, as leucemias podem ser inicialmente classificadas em linhagem T ou B. A expressão desses antígenos torna possível detectar com precisão, além da linhagem celular, o nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico. As leucemias de linhagem B são classificadas de acordo com os estágios de diferenciação normal dos progenitores B na medula óssea, dividindo-se em: pró-B, comum, pré-B e B-maduro. As LLAs de linhagem T dividem-se em três subgrupos, de acordo com os antígenos de diferenciação correspondentes aos níveis de diferenciação intratímica normal: LLA pré-T, T-intermediário e maduro (Figura 5) (FARIAS, CASTRO, 2004).

As doenças malignas do sistema hematopoético podem ser caracterizadas por imunofenotipagem, que investiga a presença ou ausência de antígenos encontrados na superfície ou no citoplasma celular (ANEXO 2). O diagnóstico de uma doença maligna hematopoética não é baseado em um único marcador específico, mas essa análise deve ser realizada utilizando-se um painel adequadamente selecionado para a determinação das linhagens celulares. A imunofenotipagem consegue também determinar o grau de diferenciação celular, a expressão antigênica aberrante nas populações celulares malignas e a presença ou não de clonalidade (LORENZI, 2003).

Marcador	Linhagem B				Linhagem T		
	Pró-B	Comum	Pré-B	B	Pré-T	Intermediário	T
HLA-DR	+	+	+	+	+/-	-	-
TdT	+	+	+	+/-	+	+	+
CD19	+	+	+	+	-	-	-
CD22(c)	-/+	+	+	+	-	-	-
CD10	-	+	+	-/+	-/+	-/+	+/-
CD20	-	-/+	+	+	-	-	-
cy	-	-	+	-	-	-	-
SmIg	-	-	-	+	-	-	-
CD7	-	-	-	-	+	+	+
CD2	-	-	-	-	-	+	+
CD3(c)	-	-	-	-	+/-	+	+
CD1a	-	-	-	-	-	+/-	-
CD3	-	-	-	-	-	-	+
CD4/CD8	-	-	-	-	-	+/-	+

Figura 5: Perfil Imunofenotípico das Leucemias Linfóides. Fonte: Farias e Castro, 2004.

Na triagem para leucemias agudas, quando há presença de blastos na amostra analisada, é recomendado realizar a imunofenotipagem com um painel inicial (Tabela 1) (BACAL, FAULHABER, 2003).

Tabela 1 – Painel Inicial de imunofenotipagem para Leucemias Agudas

Leucemia Aguda – Painel Inicial		
FITC	PE	PE-Cy5
CyMPO	cyCD79a	cyCD3
CD15	CD33	CD45
CD2	CD7	CD45
HLADR	CD34	CD45

CD10	CD19	CD45
IgG1FITC	IgG1PE	CD45PE-Cy5

Fonte: BACAL, FAULHABER, 2003. p-24.

A marcação intracitoplasmática pode ser utilizada para MPO, CD79a, CD3, CD22 e imunoglobulinas de cadeias leves e pesadas. Estas marcações demandam um pouco mais de tempo, mas são de importância fundamental tanto na especificidade da definição de linhagem, como na definição da clonalidade da população linfóide B. Após a definição da linhagem leucêmica (como exposto acima) segue-se para um painel secundário dirigido (Tabela 2) (BACAL, FAULHABER, 2003).

Tabela 2 – Marcação por linhagem para Leucemias Agudas

Leucemia Aguda – Marcação por Linhagem								
LLA-B			LMA			LLA-T		
FITC	PE	PE-Cy5	FITC	PE	PE-Cy5	FITC	PE	PE-Cy5
CD22	CD20	CD45		CD14	CD45	CD5	CD1a	CD45
<i>Kappa</i>	CD19		CD15	CD13	CD45	TCR g//d	TCR α /b	CD45
<i>Lambda</i>	CD19		CD71	glicofor.	CD45	CD8	CD4	CD3
CyIgM			CD41	CD117	CD45			
			CD38	CD56	CD45			
cyCD22?			CD64	CD11b	CD45			
				CD4	CD45			

Fonte: BACAL, FAULHABER, 2003. p-24.

3.4.4 Tratamento

Segundo o Instituto Nacional do Câncer – INCA, o tratamento tem como principal objetivo destruir as células leucêmicas, para que dessa forma, a medula óssea volte a funcionar de maneira adequada produzindo células normais. Para se obter a cura da leucemia, é conseguido com a associação de medicamentos, controle das infecções e hemorragias, e prevenção ou da doença no sistema nervoso Central. Em alguns casos é indicado o transplante de medula óssea.

O tratamento da LLA é prolongado, podendo variar de dois a três anos. Algumas vezes, os esquemas terapêuticos possam mudar de centro para centro, porém os

protocolos modernos invariavelmente são constituídos de cinco grandes fases: indução da remissão, intensificação-consolidação, reindução, prevenção da leucemia no SNC e continuação ou manutenção da remissão (CAMITTA, et al. 2002). Um dos protocolos de maior notoriedade internacional é o desenvolvido pelo grupo alemão Berlim-Frankfurt-Munique – BFM (ANEXO 1) (LAKS et al. 2003).

O tratamento tem como principal objetivo induzir a remissão completa, ou seja, atingir < 5% de blastos na medula óssea, restaurando a hematopoese normal. Após a indução, inicia-se a fase de consolidação, que objetiva reduzir a doença residual mínima e ajustar a intensidade do tratamento conforme a estratificação do risco de recidiva. O protocolo BFM utiliza a chamada terapia de reindução durante a fase de consolidação, que consiste na utilização das mesmas drogas administradas durante a fase de indução. Logo após isso é realizada a terapia de manutenção, que tem como principal objetivo a erradicação de células leucêmicas residuais. A profilaxia do SNC inicia-se durante a fase de indução, incluindo quimioterapia e radioterapia (LAKS et al. 2003).

4 METODOLOGIA

4.1 - Desenho do Estudo

O trabalho desenvolvido seguiu os preceitos do estudo exploratório, por meio de uma pesquisa bibliográfica, que segundo Gil (2008, p.50) “é desenvolvida a partir de material elaborado, constituído de livros e artigos científicos”.

4.2 - População do Estudo

Foram selecionados 9 de um total de 23 artigos que subsidiaram o estudo do hemograma e imunofenotipagem na Leucemia Linfóide Aguda em crianças, de forma abrangente e clara, sendo selecionados artigos nacionais e internacionais que foram acessados nos bancos de dados CAPES e SCIELO, publicados nos últimos dez anos (2004 a 2014). Além desses, foram selecionados ainda materiais primordiais utilizados como referencial teórico.

4.3 – Procedimentos

Durante a pesquisa foram utilizadas, nos bancos de dados CAPES e SCIELO, as palavras-expressões: “Imunofenotipagem”, “LLA”, “Crianças”, “Hemograma”, “Citometria de Fluxo” e “Caracterização Imunofenotípica”. Para a seleção das fontes, foram consideradas como critérios de inclusão as bibliografias que abordassem o Hemograma na Leucemia Linfóide Aguda, a Imunofenotipagem, e conseqüentemente a temática como um todo.

4.3.1 – Coleta de Dados

A coleta de dados seguiu a seguinte premissa:

- a) Leitura Exploratória de todo o material selecionado (leitura rápida que objetiva verificar se a obra consultada é de interesse para o trabalho);
- b) Leitura Seletiva (Leitura mais aprofundada das partes que realmente interessam);

- c) Registro das informações extraídas das fontes em instrumento específico (autores, ano, método, resultados e conclusões).

4.3.2 – Análise e Interpretação dos Resultados

Nesta etapa foi realizada uma leitura analítica com a finalidade de ordenar e resumir as informações contidas nas fontes de forma que estas possibilitem a obtenção de respostas ao problema da pesquisa.

4.3.3 – Discussão dos Resultados

Os resultados que emergiram da etapa anterior foram analisados e discutidos a partir do referencial teórico relativo à temática do estudo.

5. RESULTADOS

Hemograma

Suárez et al. (2008) em seu estudo em La Habana, Cuba, observou que das 238 crianças analisadas, os doentes tinham uma idade média de 6,12 anos e uma série de 4 meses a 17 anos. A maior incidência foi observada no grupo de 2-5 anos (44,2%), com diferenças estatisticamente significativas. 48,4% das crianças com linhagem LLA-B estavam dentro desta faixa etária; no entanto, a maioria dos pacientes com LLA-T (65,9%) tiveram seis ou mais anos de idade no início da doença. Quanto ao sexo, predominância do sexo masculino (58,8%) sobre o feminino (41,2%). Crianças brancas foram as mais afetadas (54,2%). Nenhuma diferença estatisticamente significativa foi encontrada quando se analisou o sexo e cor da pele em relação ao fenótipo de células leucêmicas. 52,1% dos pacientes apresentaram valores de leucócitos $<20 \times 10^9 / L$ no diagnóstico da doença. Das crianças estudadas, 6,7% apresentaram manifestações hemorrágicas.

Foram estudadas 50 crianças portadoras de LLA no trabalho de Ikeuti et al. (2006), realizado no estado de São Paulo – Brasil. Dos pacientes, 29 crianças eram do sexo masculino e 21 do sexo feminino. Do total, três tinham idade inferior a 1 ano, 41 entre 1 e 10 anos e 6 tinham idade acima de 10 anos. O hemograma apresentou alterações como Hemoglobina $< 8 \text{ g/dl}$, Leucócitos $<10.000 \text{ células/mm}^3$ e Plaquetas $<150.000 \text{ células/mm}^3$ que foram encontradas em, respectivamente, 62%, 48% e 90% das crianças.

No estudo de Suárez et al. (2004), realizado em La Habana – Cuba, no período de abril 1986 a julho de 2003 foram observados 87 crianças com idade média de 6 anos, diagnosticadas com LLA. Do total, 49 eram do sexo masculino e 38 do sexo feminino. Em relação ao hemograma, 19,5 % apresentaram leucócitos entre $20-100 \times 10^9/l$, e 4,6 % dos pacientes apresentaram hemorragia.

Leite et al. (2007), em seu estudo realizado em Pernambuco – Brasil em 108 crianças diagnosticadas com leucemia linfóide aguda, no período de janeiro de 1993 a dezembro de 2001, observou que a média de idade dos pacientes foi de 8 anos. O único parâmetro alterado do hemograma mencionado no estudo foi o dos leucócitos, apresentando uma mediana de $24.050 \text{ leucócitos/mm}^3$.

No estudo de Costa et al. (2012) sobre características clínicas ao diagnóstico de crianças com LLA, realizado no México no período de janeiro de 2008 a setembro de 2010, observa-se que das 391 crianças estudadas, a média de idade é de 6,5 anos, onde 57,9% são do sexo masculino e 42,1% do sexo feminino. Sobre o hemograma, descobriu-se que a anemia hipocrômica e microcítica foi a alteração mais freqüente nos eritrócitos. A média de hemoglobina (Hb) no grupo de vivos era 7,11 g / dL. No que diz respeito às plaquetas, a trombocitopenia foi observada numa média de 50 plaquetas/ μ l para os pacientes vivos. E em relação aos leucócitos, os pacientes vivos apresentaram uma média de 7,120 leucócitos/mm³.

Tabela 3: Principais alterações no hemograma de crianças com Leucemia Linfóide Aguda, encontradas em artigos publicados na literatura entre o período de 2004 à 2012

AUTOR, ANO	LOCAL	PERÍODO DE ESTUDO	N. PACIENTES	IDADE (MÉDIA)	SEXO	LEUCÓCITOS	HEMOGLOBINA	PLAQUETAS/ HEMORRAGIA
SUARÉZ, 2008	La Habana – Cuba	Janeiro 1993 – Abril 2006	238	6,12 anos	M (59%) F (41%)	< 20.000 leucócitos/mm ³ (52,1%)	...	Hemorragia (6,7%)
IKEUTI, 2006	São Paulo – Brasil	Dezembro 1991 – Dezembro 2001	50	6 anos	M (58%) F (42%)	≥ 10.000 leucócitos/mm ³ (48%)	< 8 g /dL (62%)	<150.000/ μ l (90%)
LEITE, 2007	Pernambuco – Brasil	Janeiro de 1993 - Dezembro de 2001	108	8 anos	M (62%) F (38%)	24.050 leucócitos/mm ³ (mediana)
COSTA, 2012	México	Janeiro de 2008 - Setembro de 2010	391	6,5 anos	M (58%) F (42%)	7.120 leucócitos/mm ³ (média)	7,11 g /dL	50 plaquetas/ μ l
SUARÉZ, 2004	La Habana – Cuba	Abril 1986 -Julho de 2003	87	6 anos	M (56%) F (44%)	<20.000 leucócitos/mm ³ (79,3%)	...	Hemorragia (4,6%)

NOTA: A utilização de três pontos (...) indica que o dado é desconhecido ou não está disponível.

Imunofenotipagem

Durante a pesquisa sobre a imunofenotipagem da Leucemia Linfóide Aguda em crianças, foram encontrados cinco artigos publicados entre os anos de 2004 e 2011. A tabela 2 mostra a prevalência dos imunofenótipos e principais marcadores encontrados durante a imunofenotipagem.

Tabela 4 – Prevalência dos imunofenótipos e principais marcadores encontrados durante a imunofenotipagem em artigos publicados na literatura entre o período de 2004 à 2011

AUTOR, ANO	LOCAL	PERÍODO DE ESTUDO	N. PACIENTES	IDADE MÉDIA	SEXO	LLA-B	LLA-T	ANTICORPOS (+)		SUBTIPO MAIS FREQUENTE
								LLA-B	LLA-T	
NORONHA et al, 2011	Maranhão – Brasil	Setembro 2008 – Janeiro 2010	37	4 anos	...	72,9%	27,1%	CyCD79a; CyCD22; CD19 CyIgM CD10 CD34 CD45	CyCD3 CD5 CD7 CD8 CD2 CD1a CD4 HLA-DR	LLA-BII (51,8 %)
DAKKA et al, 2007	Marrocos	1996 - 2000	100	...	M (66%) F (34%)	63%	37%	CD19 CD20 CD10 HLA-DR	CD2 CD7 CD5 CD3 CD4	LLA-BII (42%)
SUÁREZ et al, 2004	La Habana – Cuba	Abril 1986 - Julho 2003	87	6 anos	M (56%) F (44%)	CD10 CD19 CD20 CD22 DTT	CD3 CD4 CD7	...
TONG et al, 2011	China	Janeiro 2007 - Julho 2010	207	4 anos	M (61%) F (39%)	88,4%	11,6 %	CyCD79a CD19 CD10 CD22	CD7 CD5 CD3 CD2 CD8 CD4	LLA-BII (67,2%)
DELBUONO et al, 2008	São Paulo – Brasil	Março 2003 - Outubro 2004	40	5 anos	M (65%) F(35%)	82,5%	17,5%	CD13 CD45 CD10 CD33	CD13 CyCD3 DTT	...

NOTA: A utilização de três pontos (...) indica que o dado é desconhecido ou não está disponível.

No estudo de Suárez et al. (2004) sobre o Imunofenótipo e características clínicas e morfológicas da Leucemia Linfóide Aguda, realizado em La Habana – Cuba, foram avaliadas 87 crianças diagnosticadas com LLA-C, no período entre abril 1986 e julho de 2003. Os pacientes apresentaram idade média de 6 anos, onde 49 crianças eram sexo masculino e 38 do sexo feminino.

Os antígenos CD10, CD19 e DTT foram encontrados em 100% dos pacientes, o CD22 em 98,8% e HLA-DR em 96,5%. A expressão do antígeno CD20 foi observada em uma pequena porcentagem de pacientes (6,9%). A expressão de antígenos de outras linhagens de células mostraram a presença de marcadores de linhagem T CD3, CD4 e CD8 em 3,4%, 1,2% e 2,3%, respectivamente. Dos pacientes estudados, 14 (16,1%) expressaram antígenos mielóides e foram classificados como LLA-c + Mi. Destes, 13 expressa um antígeno mielóide (CD13, CD33, CD14) e apenas um co-expressa os antígenos CD13/CD33.

Em um estudo sobre a caracterização imunofenotípica das leucemias agudas, realizado no Maranhão, Nordeste do Brasil, Noronha et al. (2011) observou que 37 crianças possuíam Leucemia Linfóide Aguda entre os 70 casos de leucemias agudas estudados. 72,9% dos casos de LLA na infância se tratavam de LLA-B, enquanto 27,1% dos casos correspondiam a LLA-T. O subtipo imunológico LLA-BII (comum B) foi o tipo mais frequente (51,8%) entre os casos de LLA em crianças. O pico de incidência de LLA nos pacientes infantis ocorreu entre as idades de um e quatro anos, o que representa 40,5% dos casos de LLA diagnosticados em crianças.

Entre os marcadores utilizados para caracterizar LLA-B no citoplasma, CD79a e CD22 apresentaram a maior taxa de positividade (100%), seguido de CD19 na membrana da célula (86,6%). CD10 e o marcador de células imaturas HLA-DR apresentaram taxas de positividade de 83,3% e 95%, respectivamente. O marcador de IgM no citoplasma (cyIgM) teve uma taxa de positividade de 33% e foi positivo em dez casos, que foram classificados como LLA-BIII (pré-B). CD34, um marcador de células imaturas, foi expressa em 61,2% dos casos, e de CD45 em 87%. Dos marcadores mielóides expressas anormalmente, CD13 foi o mais frequente (48,2%). Na caracterização imunofenotípica da LLA-T, os marcadores CD3 (citoplasma), CD5, CD7 e CD8 exibiram taxas de positividade de 100%. Os marcadores de CD2, CD1a, CD4, HLA-DR e CD10 mostraram taxas de positividade de 85,7%, 57,1%, 40%, 10% e 9,1%,

respectivamente. CD34 foi expresso em 54,5% dos casos e CD45 (com moderada a fraca expressão) esteve presente em todos os casos. CD13 foi o marcador mielóide anômalo mais freqüente (36,3%).

No estudo de Tong et al. (2011), realizado na China, no período de janeiro de 2007 e julho de 2010 sobre características imunofenóticas, citogenéticas e clínicas de crianças com LLA, observou que das 207 crianças estudadas, 61% eram do sexo masculino, e 39% do sexo feminino, e do total, possuíam uma média de idade de 6 anos.

De todos os 207 casos, 183 casos (88,4%) foram identificados como LLA-B e 24 casos (11,6%) foram identificados como LLA-T. Entre os casos de LLA-B, 6,6% foram identificados como Pro-B, 67,2% como B-Comum, 24,0% como pré-B, e 2,2% como LLA-B madura. Marcadores de linhagem B CyCD79a, CD19, CD10, e CD22 foram expressos na maioria das amostras LLA-B. De 183 casos de LLA-B, apenas 1 não expressou CD19, mas expressou CyCD79a e CyIgM. Os marcadores de linhagem T expressos em menor freqüência foram CD2 e CD7. Não foram expressados marcadores de leucemias bifenotípica neste grupo de pacientes. O CD9 foi expresso mais comumente em B-ALL (84,5%) do que em T-ALL (33,3%). Dos 24 casos de LLA-T, CD7 foi o único antígeno de células T de superfície expresso por todos os casos (100%), seguido de CD5 (79,2%), CD3 (62,5%), CD2 (58,3%), CD8 (56,5%), e CD4 (39,1%). CD10 foi positivo em 7 casos de LLA-T (29,2%) e não houve outro marcador de linhagem B nos casos de LLA-T. Houve uma alta expressão de haste/marcadores de células progenitoras CD34, CD38 e HLA-DR Nos casos de LLA-B, com taxas positivas de 75,4%, 90,7% e 98,9%, respectivamente. As taxas positivas de CD34 (29,2%) e HLA-DR (25,0%) eram muito mais baixos em LLA-T que em LLA-B.

Dakka et al. (2007), realizou um estudo no Marrocos sobre o perfil imunológico de crianças com LLA. A pesquisa foi feita no período de 1996 a 2000 em 100 pacientes com idade entre 6 meses e 16 anos. Do total de pacientes, 63% se tratavam de LLA-B e 37% de LLA-T. Os marcadores mais frequentes para a LLA-B foram CD19, CD20, CD10, e HLA-DR. Para LLA-T, os principais marcadores analisados foram CD2, CD7, CD5, CD3 e CD4. Os dados indicam que a LLA-T não foi diagnosticada em crianças com idade inferior a 2 anos. Na LLA-B, a expressão dos CD19, CD10 e HLA-DR foi mais frequente em crianças com idade entre 2 e 10 anos. Na LLA-T, a expressão dos marcadores CD2, CD7, CD5, e CD3 foram mais frequentes nos pacientes com idade

variando de 2 a 10 anos. O subtipo mais frequente nas crianças foi de LLA-BII (42%). Para a linhagem de células T, a LLA-TIII foi a mais frequente (16%).

No período de março de 2003 a outubro de 2004, Delbuono et al. (2008) em seu estudo sobre detecção de Doença Residual Mínima em crianças com LLA realizado em São Paulo – Brasil, observou que dos 40 pacientes estudados, 23 eram do sexo masculino e 17 do sexo feminino, com uma média de idade de 5 anos. Do total, 33 crianças apresentavam LLA do tipo B e 7 tinham LLA tipo T. Os marcadores positivos para LLA-B foram, CD23, CD45, CD10, CD33, CD34 e cyIgM. Em relação a LLA-T, os marcadores positivos foram DTT, CD13 e CyCD3.

Durante o nosso trabalho, observamos a frequência dos casos de LLA-B e LLA-T. A prevalência do tipo celular na Leucemia Linfóide Aguda encontrada nos artigos em estudo, pode ser visualizada na figura 6.

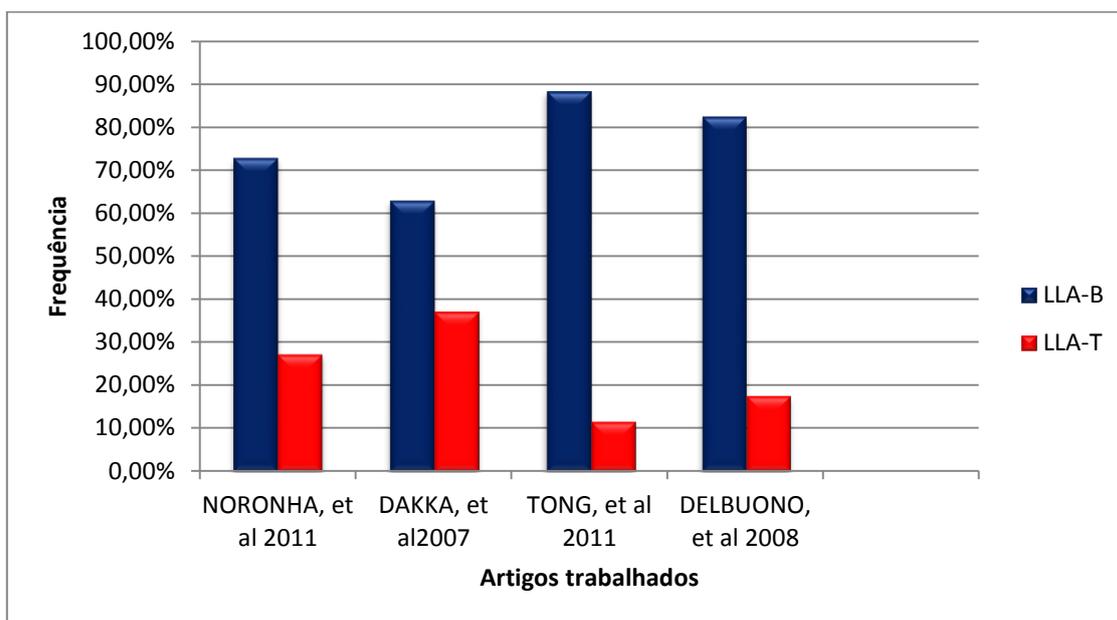


Figura 6: Representação gráfica da prevalência do tipo celular de Leucemia Linfóide Aguda encontrada nos artigos apresentados na tabela 4.

Em relação aos marcadores positivos encontrados nos artigos em análise, foram observados aqueles que se repetiram entre os estudos, a fim de verificar a prevalência de marcadores para caracterizar a LLA-B (Figura 7) e LLA-T (Figura 8).

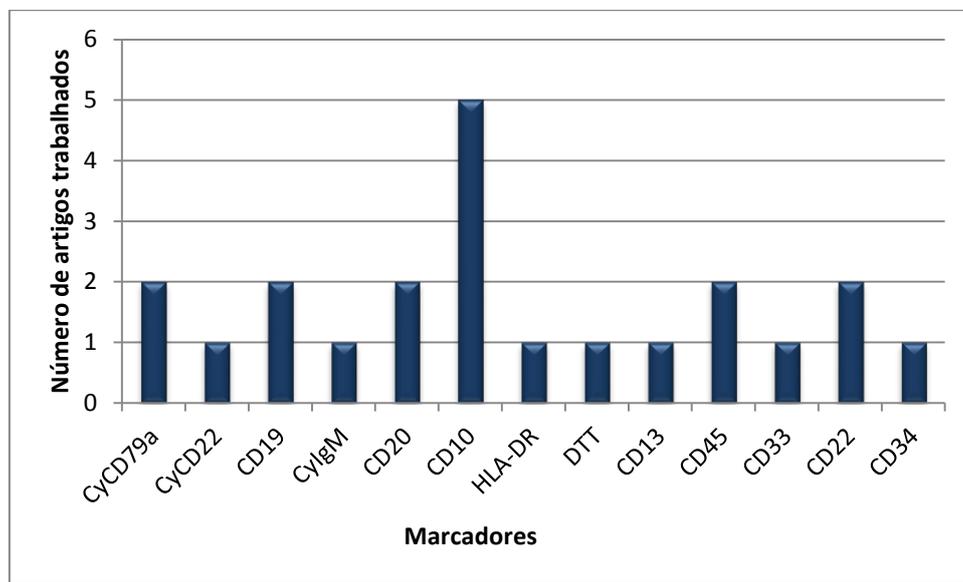


Figura 7: Representação gráfica da prevalência dos marcadores positivos para caracterizar LLA-B encontrados nos artigos apresentados na tabela 4.

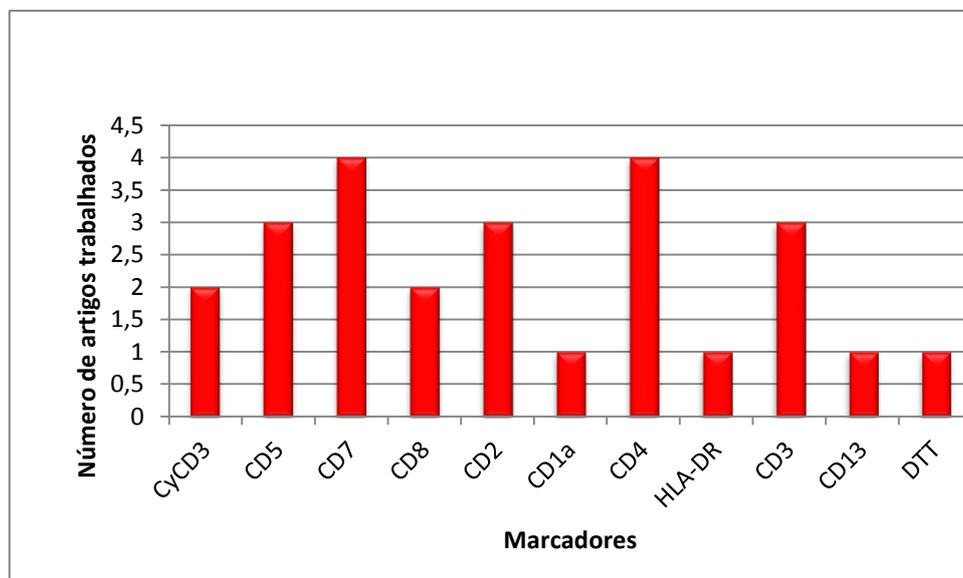


Figura 8: Representação gráfica da prevalência dos marcadores positivos para caracterizar LLA-T encontrados nos artigos apresentados na tabela 4.

6. DISCUSSÃO

Pacientes com LLA-B com menos de 50.000 leucócitos/mm³ ao diagnóstico, devem ser incluídos dentro do grupo de Risco Básico, pois apresentam melhor prognóstico, enquanto que aqueles com leucometria superior são classificados como Alto Risco, de acordo com o Consenso Internacional, publicado em 1996 (LEITE, 2007). Em nosso estudo, 100% dos artigos encontrados que mencionam o hemograma em crianças com LLA, apresentaram valores <50.000 leucócitos/mm³ como média ou maioria nos pacientes em seu estudo (SUARÉZ et al., 2008; IKEUTI et al., 2006; LEITE et al., 2007; COSTA et al., 2012; SUARÉZ et al., 2004). Sendo assim, supõe-se que os pacientes analisados se incluem dentro do grupo de Risco Básico.

De acordo com Farias e Castro (2004), o hemograma de um paciente com LLA pode revelar anemia normocítica e normocrômica e trombocitopenia. A contagem de leucócitos está ocasionalmente muito alta, mas frequentemente normal ou diminuída. Os blastos são raros ou ausentes em pacientes leucopênicos, mas em casos de leucocitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria.

Apenas o artigo de COSTA et al., 2012, apresentou leucometria normal como média nos pacientes estudados. Os demais artigos apresentaram leucocitose, porém nenhum autor mencionou se houve presença de linfoblastos periféricos (SUARÉZ et al., 2004; LEITE et al., 2007; SUARÉZ et al., 2008; IKEUTI et al., 2006).

Os estudos de Costa et al. (2012) e Ikeuti et al. (2006) apresentaram trombocitopenia na maioria dos pacientes estudados, e os trabalhos de Suárez et al. (2004 e 2008) não mencionaram a contagem de plaquetas, porém apresentaram casos de hemorragia em 4,6% e 6,7% dos pacientes, respectivamente. Assim, os resultados dos autores são condizentes com o que já existe na literatura, a respeito da quantidade de plaquetas em pacientes com LLA. Os estudos de Ikeuti et al. (2006) e Costa et al. (2012) foram os únicos que mencionaram alteração na hemoglobina das crianças estudadas, revelando valores em média inferiores a 8 g/dL.

Em relação ao gênero dos pacientes, analisando os artigos escolhidos que abordam a imunofenotipagem, observa-se que em 80% dos artigos as crianças apresentaram uma predominância do sexo masculino em relação ao sexo feminino,

(DAKKA et al., 2007; SUÁREZ et al., 2004; TONG et al., 2011; DELBUONO et al., 2008). Esses dados concordam com o Instituto Nacional do Câncer (INCA, 2014).

A idade é considerada como fator de importância prognóstica independente em crianças com LLA. Pacientes com idade superior a nove anos apresentam pior prognóstico, o que fez com que esta variável e a leucometria ao diagnóstico tenham sido consideradas na estratificação de risco para LLA de precursor B (LEITE, 2007). Dos artigos estudados sobre a imunofenotipagem, dois deles (40%) apresentaram uma média de idade de 4 anos (TONG et al., 2011; NORONHA et al., 2011). Um artigo (20%) apresentou uma média de idade de 5 anos (DELBUONO et al., 2008), e um artigo (20%) apresentou uma de idade média de 6 anos nas crianças (SUÁREZ et al., 2004). O trabalho de Dakka et al. (2007), não apresentou a idade média das crianças estudadas. Acredita-se que os pacientes em estudo, possuem um bom prognóstico.

A imunofenotipagem, realizada com a técnica de Citometria de Fluxo (CMF), é útil tanto no diagnóstico, classificação, prognóstico, estadiamento, monitoramento, como na caracterização fenotípica das células hematopoiéticas patológicas (BONJEAN et al., 2004; MARTINS, FALCÃO, 2000). A detecção morfológica de células leucêmicas durante a terapia é um importante fator prognóstico. No entanto, é difícil distinguir blastos leucêmicos de linfócitos de células hematopoiéticas normais e indiferenciadas apenas por morfologia. A imunofenotipagem por Citometria de Fluxo consegue superar essas limitações (SZCZEPANSKI et al., 2001; CAMPANA, 2003).

Na presente pesquisa bibliográfica, observa-se que dos artigos analisados que abordam a imunofenotipagem, a frequência da LLA-B é muito maior que as de LLA-T, podendo ultrapassar os 80% dos casos de LLA (TONG et al., 2011; DELBUONO et al., 2008), ou valores acima de 60% (NORONHA et al., 2011; DAKKA et al., 2007).

Dos artigos selecionados neste presente trabalho, três deles (60%) citaram o subtipo de LLA mais frequentemente encontrado nas crianças em estudo (TONG et al. 2011; DAKKA et al., 2007; NORONHA et al., 2011). Destes autores, todos apresentaram o subtipo LLA-BII, também conhecido como LLA Comum, como o mais frequente, em 67,2%, 42% e 51% dos casos, respectivamente.

Cerca de 75% dos casos de LLA em crianças é representada pelo tipo Comum (Calla+). Nessa leucemia as células expressam o antígeno CD10, favorecendo o prognóstico, além dos antígenos pan B, como o cyCD22 e ou sCD22, CD19 e cyCD79a

Observando os estudos deste presente trabalho, na caracterização de LLA de Linhagem B, 100% dos artigos apresentaram marcador CD10 positivo (NORONHA et al., 2011; DAKKA et al., 2007; SUÁREZ et al., 2004; TONG et al., 2011; DELBUONO et al., 2008). Os marcadores CD22, CD19, CD20, cyCD79a também se repetiram entre os trabalhos.

Em relação à caracterização da LLA de linhagem T, os marcadores CD4 e CD7 foram positivos em 80% dos artigos estudado (TONG et al., 2011; SUÁREZ et al., 2004; DAKKA et al., 2007; NORONHA et al., 2011). Os marcadores CD2, CD3 e CD5 se repetiram em 60% dos trabalhos (TONG et al., 2011; DAKKA et al., 2007; NORONHA et al., 2011).

A monitorização sequencial da Doença Residual Mínima (MRD) durante os primeiros meses de terapia fornece informações sobre a resposta ao tratamento e já foi provado por ser um poderoso e independente indicador de resultado na LLA na infância (BJÖRKLUND et al, 2003; DWORZAK et al, 2002; SCRIDELLI et al, 2003). Ao observar os resultados de Delbuono et al (2008), em seu trabalho sobre imunofenotipagem na DRM, percebe-se que apesar de terem utilizado um painel simples e econômico, conseguiram detectar a presença dos seguintes marcadores para LLA-B: CD45, CD10, CD33 e CD34. Em relação a LLA-T, os marcadores positivos foram DTT, CD13 e CyCD3. Dessa forma, compreende-se que a imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma técnica bastante sensível, tanto para o diagnóstico, como monitoramento da DRM.

Ao analisar o trabalho de Suaréz et al. (2004) em crianças com LLA-C, observa-se que a expressão do antígeno de linhagem T é incomum. A porcentagem encontrada foi de CD3 (3,4%), CD4 (1,2%) e CD8 (2,3%) em células leucêmicas das crianças estudadas. Outros autores relataram variantes imunofenotípicas raras na LLA-C em que antígenos CD2, CD5 e CD7 são expressos (GARAND, BÉNÉ, FAURE, 1993; ORFAO et al, 1994).

7. CONCLUSÃO

O hemograma é o primeiro exame que sugere a Leucemia Linfóide Aguda, em conjunto com alguns sinais clínicos. As principais alterações encontradas no hemograma das crianças em estudo foram na contagem de leucócitos (leucocitose), de plaquetas (plaquetopenia) e hemoglobina (baixos índices). Uma correta interpretação do hemograma permite direcionar um diagnóstico de leucemia.

A Imunofenotipagem é um método de grande utilidade para o diagnóstico diferencial da LLA, conseguindo caracterizar as células neoplásicas de acordo com o tipo celular e ainda os subtipos, através do nível de diferenciação destas células. A Leucemia Linfóide Aguda de tipo B apresentou uma significativa prevalência em relação à LLA de tipo T. Dos casos analisados sobre a imunofenotipagem, em média 76% das crianças se tratavam de LLA-B e 24% de LLA-T. Entre os autores que mencionaram o subtipo, o mais frequente encontrado foi o LLA-BII (ou Comum), presente em média em 54% das crianças.

Os principais marcadores que apresentaram maior taxa de positividade para caracterização da LLA-B entre os artigos estudados foram: CD10, CD20, CD22, CD19, CD45 e cyCD79a. Em relação à LLA-T, estes principais marcadores foram: CD7, CD4, CD5, CD2, CD3, cyCD3 e CD8. Estes marcadores se repetiram entre os autores, não havendo diferença significativa entre os países.

A Leucemia Linfóide Aguda é uma doença grave, que acomete principalmente crianças. O hemograma é um exame rotineiro que consegue indicar a LLA. A imunofenotipagem é uma técnica eficaz de diagnóstico e monitoramento, que juntamente a exames de morfologia e citogenética, conseguem diagnosticar um paciente com LLA. Sendo assim de grande importância para direcionamento do tratamento.

REFERÊNCIAS

AMEO. Associação da medula Óssea. **Leucemias: Definição e Etiologia**. Disponível em: <<http://www.ameo.org.br/conhecimento/171-leucemias-definicao-e-etilogia#>>, Acesso em 28 de abr de 2014.

BACAL, N.; FAULHABER, M. **Aplicação Prática em Citometria de Fluxo**. Atheneu. São Paulo, 2003.

BELSON, M. et al. Risk factor for acute leukemia in children: a review. **Environmental Health Perspectives**. [s.l.], v. 115, n. 1, p. 138-145, 2007.

BENNETT, J. et al. Proposals for the classification of the acute leukaemias. Drench-American-British (FAB) co-operative group. **British Journal of Haematolog**. [s.l.], v. 33, n.4, p. 451-458, 1976.

BJÖRKLUND, E. et al. Flow cytometric follow-up of minimal residual disease in bone marrow gives prognostic information in children with acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**. [s.l.], v. 17, n. 1, p. 48-138, 2003.

BLEYER, W. The impact of childhood cancer on the US and the world. **Cancer Journal for Clinicians**. [s.l.], v. 40, p. 355-367, 1990.

BONJEAN, B. et al. Development of a new strategy for minimal residual disease monitoring in children with B-precursor acute lymphoblastic. **Ann Biol Clin**. [s.l.], v. 62, n. 4, p. 465-70, 2004.

BRAGA, P.; LATORRE, M.; CURADO, M. Câncer na infância: análise comparativa da incidência, mortalidade e sobrevida em goiânia (Brasil) e outros países. **Cad. Saúde Pública**. Rio de Janeiro, v. 18, n.1, p. 33-44, 2002.

_____. Câncer na Infância: Tendências e Análise de Sobrevida em Goiânia (1989-1996). Dissertação de Mestrado. São Paulo: **Faculdade de Saúde Pública**, Universidade de São Paulo. 2000.

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. **J Clin Oncol.** [s.l.] v. 12, 2002.

CAMPANA, D. Determination of minimal residual disease in leukaemia patients. **Br J Haematol.** [s.l.], p. 38-823, 2003.

CAVALCANTI, A. Manual do paciente - leucemia linfocítica crônica edição revisada. **Hemorio.** Instituto Estadual de Hematologia, Rio de Janeiro, 2004.

COEBERGH, J. et al. Leukaemia incidence and survival in children and adolescents in Europe during 1978-1997: report from the Automated Childhood Cancer Information System project. **Eur. J. Cancer.** [s.l.], v. 42, n.13, p. 2019-2036, 2006.

COSTA, E. et al. Comparación de las características clínicas al diagnóstico de niños com leucemia linfoblástica aguda afiliados al Seguro Popular, con respecto al desenlace. **Bol Med Hosp Infant.** v. 69, n. 3, p. 190-196, México, 2012.

CUMANO, A; GODIN, I. Ontogeny of the Hematopoietic System. **Immunol.** [s.l.], v. 25, p. 745-785, 2007.

DAKKA, N. et al. Immunologic Profile and Outcome of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) in Morocco. **J Pediatr Hematol Oncol.** [s.l.], v. 29, n. 8, 2007.

DELBUONO, E. et al. Simplified flow cytometric assay to detect minimal residual disease in childhood with acute lymphoblastic leukemia. **Rev. bras. hematol. hemoter.** [s.l.], v. 30, n. 4, p. 281-286, 2008.

DWORZAK, M. et al. Prognostic significance and modalities of flow cytometric minimal residual disease detection in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood.** [s.l.], v. 99, n. 6, 2002.

FALCÃO, R. et al. Leucemia linfóide aguda em adultos e crianças: características morfológicas e imunofenotípicas. **Escola Brasileira de Hematologia,** [s.l.], v. 9, n. 1, p. 25-35, 2002.

FARIAS, M; CASTRO, S. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **J Bras Patol Med.** [s.l.], v. 40, n. 2, p. 91-8, 2004.

FERKOWICZ, M.; YODER, M. Blod islands formation: longstanding observations and modern interpretation. **Experimental Hematology.** [s.l.] v. 33, p. 1041-1047, 2005.

FERREIRA, A.; FRANÇA, J.; OGLIARI, K. Células- tronco: ciência, tecnologia e ética. **Revinter.** Rio de Janeiro, 2012.

GARAND, R.; BÉNÉ, M.; FAURE, G. Incidence, clinical and laboratory features and prognostic significance of immunophenotypic subgroups in acute lymphoblastic leukemia: The GEIL experience. **Rec Res Cancer Res.** [s.l.], 1993.

GEKAS, C. et al. Hematopoietic stem cell development in the placenta. The **International journal of Developmental Biology.** [s.l.], v. 54, p. 1089-98, 2010.

GIL, A. **Métodos e técnicas de pesquisa social.** 6ª ed. São Paulo: Atlas, 2008.

GODIN, I; CUMANO, A. The hare and the tortoise: an embrionic haematopoietic race. **Immunol.** [s.l.], v. 2, p. 593-604, 2002.

GRAF, T. Differentiation plasticity of hematopoietic cells. **Blood.** v. 99, p. 089-3101, 2002.

GURBUXANI, S.; VYAS, P.; CRISPINO, J. D. Recent insights into the mechanisms of myeloid eukemogenesis in Down syndrome. **Blood.** [s.l.], v. 103, n. 2, p. 399-406, 2004.

HAMERSCHLAK, N. Leukemia: genetics and prognostic factors. **Jornal de Pediatria.** Rio de Janeiro, v. 84, n 4, 2008.

HOFFRAND A.; PETTIT, J. **Hematologia Clínica Ilustrada Manual – Atlas Colorido.** Editora Manole LTDA, São Paulo, 1991.

IKEUTI, P.; BORIM, L.; LUPORINI, R. Dor óssea e sua relação na apresentação inicial da leucemia linfóide aguda. **Rev. bras. hematol. hemoter.**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 45-48, 2006.

Instituto Nacional do Câncer. **Leucemia Aguda**. INCA. Disponível em <http://www.inca.gov.br/conteudo_view.asp?id=344> Acesso em 07 de abr. de 2014.

JACOBS, P.; WOOD, L. Chronic Lymphocytic Leukemia – the haematologic basis for diagnosis and treatment. **Haematology.**, [s.l.] v. 7, p. 33-41, 2002.

KEATING, M. Chronic Lymphocytic Leukemia. IN: ES Henderson, E. et al. **Leukemia** 7 ed., Saunders Co, Philadelphia, p. 665, 2002.

KEBRIAIEI, P.; ANASTASI, J.; LARSON, R. Acute lymphoblastic leukaemia: diagnosis and classification. **Haematol.** [s.l.] v. 15, p. 597-621, 2002.

LANGE, B. The management of neoplastic disorders of haematopoiesis in children with Down's syndrome. **Br J Haematol.** v.110, n. 3, p. 512-524, 2000.

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

LEITE, E. et al. Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant.** Recife, v. 7, n. 4, p. 413-421, outubro, 2007.

LENSCH, M. An Evolving Model of Hematopoietic Stem Cell Functional Identity Stem Cell. **Rev and Rep Rev**, [s.l.], 2012.

LINABERY, A.; JOHNSON, K.; ROSS, J. Trends in childhood cancer incidence in the U.S. (1992-2004). **Cancer.** [s.l.], v.112, n.2, p.416-432, 2008.

LINET, M. et al. Cancer surveillance series: recent trends in childhood cancer incidence and mortality in the United States. **Journal of the National Cancer Institute.** [s.l.], v. 91, n. 12, Junho, 1999.

LITTLE. J. Epidemiology of Childhood Cancer. IARC Scientific Publications 149. **International Agency for Research on Cancer**, Lyon, 1999.

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

_____. et al. **Manual de Hematologia -Propedêutica e Clínica**. Ed. MEDSI. São Paulo, 2003.

MARGOLIN, J.; POPLACK, D. Acute Lymphoblastic Leukemia. In: PIZZO, P.; Poplack, D. editores. Principles and Practice of Pediatric Oncology. 3ª ed. Philadelphia: **JB Lippincott Company**. [s.l.], p.409-462, 1997.

MARTINS, S. FALCÃO, A. A importância da imunofenotipagem na LMA. **Revista da Associação Médica Brasileira**. [s.l.], v. 46, n. 1, p. 104-130, 2000.

MAUER, A. Acute lymphocytic leukemia. In: BEUTLER, E. et al. **Hematology**. New York, p.1004-16, 1995.

MIRRA, A.; LATORRE, M.; VENEZIANO, D. Incidência, mortalidade e sobrevida do câncer da infância no Município de São Paulo. **Registro de Câncer de São Paulo**, São Paulo, 2004.

MOORE, M.; METCALF, D. Ontogeny of the haemopoietic system: yolk sac origin of in vivo and in vitro colony forming cells in the developing mouse embryo. **British Journal of Haematology**. v. 18, n. 3, p. 279-96, 1970.

NORONHA, E. et al. Immunophenotypic characterization of acute leukemia at a public oncology reference center in Maranhão, northeastern Brazil. **Sao Paulo Med J**. [s.l.], v. 129, n. 6, p. 392-401, 2011.

OBRIEN. S. et al. Chronic myelogenous leukemia. **J Natl Compr Canc Netw**. [s.l.], v. 5, p. 474-96, 2007.

OKUDA, T. et al. Frequent deletion of p16INK4a/MTS1 and p15INK4b/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Blood**. [s.l.], v. 9, n. 85, p. 2321-2330, 1995.

OLIVEIRA, B.; DINIZ, M.; VIANA, M. Leucemias agudas na infância. **Ver Med. Minas Gerais**, v. 14, n. 1, p.33-39, 2004.

OLIVEIRA, S.; LAUN, L. Artrite como primeira manifestação de leucemias em crianças. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro. v. 65, p. 36-41, 1989.

ORFAO, A. et al. Acute lymphoblastic leukemia (ALL): Detection of minimal residual diseases (MRD) at Flow Cytometry. **Leukemia and Lymphoma**. [s.l.]. v. 13, p. 87-90, 1994.

OSTROV, B.; GOLDSMITH, D.; ATHREYA, B. Differentiation of systemic juvenile rheumatoid arthritis from acute leukemia near the onset of disease. **Jornal de Pediatria**. Rio de Janeiro, v. 122, n.4, p.595-598, 1993.

OYEKUNLE, A. et al. Molecular diagnostics, target therapy, and the indication for allogenic stem cell transplantation in acute lymphoblastic leukemia. **Advances in Hematology**. [s.l.], v. 2011, n. 1, p. 1-8, 2011.

PARKIN, D. et al. International Incidence of Childhood Cancer. **IARC Cientific Publications**. v. 2, 1998.

PETRIDOU, E. In: HANS-OLOV, A. et al. Textbook of cancer epidemiology. **Oxford University Press**. New York. p. 556-72. 2002.

PETRILLI, A. et al. Diferenças clínicas, epidemiológicas e biológicas entre o câncer na criança e no adulto. **Revista Brasileira de Cancerologia**. [s.l.] v. 43, p. 191-203, 1997.

PUI, C.; CRIST, W. Acute lymphoblastic leukemia. In: Pui, C. Childhood Leukemias. 1ª ed. Cambridge: **Cambridge University Press**. p. 288-312. 1999.

PUI, C. et al. Characterization of childhood acute leukemia with multiple myeloid and lymphoid markers at diagnosis and at relapse. **Blood**. [s.l.], v. 78, p. 1327-1337, 1991.

REDAELLI, A. et al. The clinical and epidemiological burden of chronic lymphocytic leukemia. **Eur J Cancer Care**. v. 13, p. 279-87, 2004.

RIBEIRO, K.; LOPES, L.; CAMARGO, B. Trends in childhood leukemia mortality in Brazil and correlation with social inequalities. **Cancer**. [s.l.]. v.110, n.8, p. 1823-1831, out. 2007.

HODGSON, S. et al. A practical guide to human cancer genetics. **New York: Cambridge University Press**; 2007.

SCRIDELLI, C. et al. PCR detection of clonal IgH and TCR gene rearrangements at the end of induction as a non-remission criterion in children with ALL: comparison with standard morphologic analysis and risk group classification. **Med Pediatr Oncol**. [s.l.]. v. 41, n. 1, p. 6-10, 2003.

SHAH, A.; COLEMAN, M. Increasing incidence of childhood leukaemia: a controversy re-examined. **British Journal Cancer**. [s.l.]. v. 97, n.7, p.1009-1012, 2007.

SILVA, G. et al. Diagnóstico laboratorial das leucemias mielóides agudas. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**. [s.l.], v. 42, n. 2, p. 77-84, 2006.

SMITH, M. et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. **J Clin Oncol**, [s.l.], v. 14, p. 4-6, 1996.

SUÁREZ, V. Leucemia linfóide aguda común. Estudio del inmunofenotipo y las características clínicas y morfológicas. **Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.**, v. 20, n. 2, La Habana, 2004.

_____. Relevancia biológica y clínica del inmunofenotipaje celular en la leucemia linfóide aguda del niño. **Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter** . La Habana, 2008.

SZCZEPANSKI, T. et al. Minimal residual disease in leukaemia patients. **Lancet Oncol**. [s.l.], v. 2, n. 7, 2001.

TONG, H. et al. Immunophenotypic, Cytogenetic, and Clinical Features of 207 Cases of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in China. **J Pediatr Hematol Oncol.** [s.l], v. 33, n. 6, 2011.

VERRASTRO, T. **Hematologia e Hemoterapia: Fundamentos de Morfologia, Fisiologia, Patologia e Clínica.** Atheneu. Rio de Janeiro, 2002.

WHITLOCK, J. Down syndrome and acute lymphoblastic leukaemia. **Br J Haematol,** [s.l], v. 135, n. 5, p. 595-602, 2006.

ANEXOS

ANEXO 1 – Protocolo de tratamento Berlim-Frankfurt-Munique (BFM)

- Protocolo BFM 90

Druga	Dose e via de administração	Dia do tratamento
Indução		
Protocolo I		
Fase A		
- prednisona	60 mg/m ² VO	1-28
		1-21 (se alto risco)
- vincristina	1,5 mg/m ² (até 2 mg) IV	8, 15, 22, 29
- daunorrubicina	30 mg/m ² IV	8, 15, 22, 29
- L-asparaginase	10.000 U/m ² IV	8, 12, 15, 18, 21, 24, 27, 30, 33
		8, 12, 15, 18, 21, 24, 27 (se alto risco)
- metotrexate	6-12 mg IT*	1, 15, 29
		1, 8, 15, 22, 29 (se SNC+)
Fase B**		
- mercaptopurina	60 mg/m ² VO	36-64
- ciclofosfamida (+ mesna***)	1.000 mg/m ² IV	36, 64
- citarabina	75 mg/m ² IV (em 30 min)	38-41, 45-48, 52-55, 59-62
- metotrexate	6-12 mg IT*	45, 59
Consolidação**		
Protocolo M		
- mercaptopurina	25 mg/m ² VO	1-56
- metotrexate (+ ac. folínico ^{&})	5.000 mg/m ² IV (em 24 h)	8, 22, 36, 50
- metotrexate	6-12 mg IT*	8, 22, 36, 50
Re-indução^{&&}		
Protocolo II		
- dexametasona	10 mg/m ² VO	1-21
- vincristina	1,5 mg/m ² (até 2 mg) IV	8, 15, 22, 29
- doxorubicina	30 mg/m ² IV	8, 15, 22, 29
- L-asparaginase	10.000 U/m ² IV	8, 11, 15, 18
- ciclofosfamida (+ mesna***)	1.000 mg/m ² IV	36
- citarabina	75 mg/m ² IV (em 30 min)	38-41, 45-48
- tioguanina	60 mg/m ² VO	36-49
- metotrexate	6-12 mg IT*	38, 45
Consolidação Intensiva^{&&&}		
Bloco HR1		
- dexametasona	20 mg/m ² VO	1-5
- mercaptopurina	100 mg/m ² VO	1-5
- vincristina	1,5 mg/m ² (até 2 mg) IV	1, 5
- metotrexate (+ac. folínico ^{&})	5.000 mg/m ² IV (em 24 h)	1
- citarabina	2.000 mg/m ² IV (12/12 h)	5
- L-asparaginase	25.000 U/m ² IM	6
- metotrexate	6-12 mg IT*	1
- citarabina	16-30 mg IT [#]	1
- prednisolona	4-10 mg IT ^{##}	1
Bloco HR2		
- dexametasona	20 mg/m ² VO	1-5
- tioguanina	100 mg/m ² VO	1-5
- vindesina	3 mg/m ² (até 5 mg) IV	1
- metotrexate (+ ac. folínico ^{&})	5.000 mg/m ² IV (em 24 h)	1
- ifosfamida	400 mg/m ² IV (em 1 h)	1-5
- daunorrubicina	50 mg/m ² IV (em 24 h)	5
- L-asparaginase	25.000 U/m ² IM	6
- metotrexate	6-12 mg IT*	1
- citarabina	16-30 mg IT [#]	1
- prednisolona	4-10 mg IT ^{##}	1

Protocolo BFM 90 (continuação)

Droga	Dose e via de administração	Dia do tratamento
Bloco HR3		
- dexametasona	20 mg/m ² VO	1-5
- citarabina	2.000 mg/m ² IV (12/12 h)	1, 2
- etoposide	150 mg/m ² IV (em 1 h)	3-5
- L-asparaginase	25.000 U/m ² IM	6
- metotrexate	6-12 mg IT*	5
- citarabina	16-30 mg IT [#]	5
- prednisolona	4-10 mg IT ^{##}	5
Manutenção^{###}		
- mercaptopurina	50 mg/m ² /dia VO	
- metotrexate	20 mg/m ² /semana VO	

VO: via oral, IV: Intravenosa, IT: Intratecal, IM: Intramuscular, SNC: sistema nervoso central.

* Conforme a idade: <1 ano, 6 mg; ≥1 ano e <2 anos, 8 mg; ≥2 anos e <3 anos, 10 mg; ≥3 anos, 12 mg.

** Somente para risco básico e intermediário.

*** A mesna é utilizada após a administração de ciclofosfamida para profilaxia de cistite hemorrágica.

§ O ácido fólico é administrado para auxiliar a eliminação de metotrexate.

§§ Somente para risco básico.

§§§ Somente para alto risco. Cada bloco é repetido 2 vezes na seguinte ordem: HR1, HR2 e HR3.

§§§§ Conforme a idade: <1 ano, 16 mg; ≥1 ano e <2 anos, 20 mg; ≥2 anos e <3 anos, 26 mg; ≥3 anos, 30 mg.

Conforme a idade: <1 ano, 4 mg; ≥1 ano e <2 anos, 6 mg; ≥2 anos e <3 anos, 8 mg; ≥3 anos, 10 mg.

As doses são ajustadas conforme a contagem sanguínea de leucócitos. Para todos os pacientes, a manutenção dura até completar 24 meses de tratamento (a partir do protocolo I).

Fonte: LAKS et al. 2003

ANEXO 2 – Principais antígenos de diferenciação utilizados para identificar diferentes tipos celulares durante a hematopoese normal e leucêmica.

Anticorpo	Localização	Função
CD1a	Células T tímicas, subgrupo de células B, células de Langerhans	Glicoproteína 48kD que se liga a $\beta 2$ -microglobulina
CD2	Todas as células T, maioria das NK	ligante de LFA-3
CD3	Células T tímicas e maduras	Estrutura do TCR, transdução de sinal
CD4	Células T auxiliares, monócitos, macrófagos	Co-receptor de MHC classe II, receptor do HIV
CD5	Células T maduras e tímicas, subgrupo de células B (Células B1)	Ativação de células T, ligante de CD72
CD7	Todas as células T, células NK	Ativação de células T e NK
CD8	Subgrupo de células T tímicas, T supressora/citotóxica, subgrupo de NK.	Co-receptor do MHC de classe I
CD10	Precursor B e Células B do centro germinativo, PMN	Endopeptidase neutra
CD13	Células mielóides	Amino peptidase N
CD14	Monócitos maduros e precursores	
CD15	Células mielocíticas e monocíticas	Antígeno Lewis-X, adesão celular e fagocitose
CD16	Células Natural Killer, Granulócitos	Receptor para cadeia pesada das Imunoglobulinas
CD19	Células B precursoras e maduras	Ativação de células B
CD20	Células B precursores tardios e maduros	Canal de Ca^{++} . Ativação de células B
CD22	Células B precursoras e maduras	Molécula de adesão celular
CD33	Células mielóides e monocíticas	Molécula de adesão do ácido siálico
CD34	Células Progenitoras	?
CD38	Células linfóides progenitoras, Células Plasmáticas, Células T ativadas	Ativação leucocitária
CD41	Megacariócitos e plaquetas	gpIIb/IIIa, receptor para fibrinogênio/fibronectina
CD45	Pan-hematopoético	Transdução de sinal: tirosina-fosfatase
CD56	Células NK e células T citotóxicas	Molécula de adesão celular
CD61	Megacariócitos e plaquetas	GP1Ib/IIIa, molécula de adesão celular com CD41, receptor de fibrinogênio
CD79a	Células B precursoras	Mb-1; transdução de sinal da Ig de superfície para o citoplasma
CD117	Células mielóides precursoras	receptor de c-kit
HLA-DR	Células B, monócitos, progenitores mielóides e células T ativadas	Antígeno de apresentação, MHC classe II
IgM *	Células pré-B, Linf B naive	Reconhecimento da cadeia pesada da imunoglobulina M
TdT	Células linfóides imaturas	Rearranjo de Igs e TCR

Fonte: MARTINS et al. 2000; SILVA et al. 2006