

**UNIVERSIDADE PAULISTA
CENTRO DE CONSULTORIA EDUCACIONAL**

JANAÍNA DA SILVA LEMOS

LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA: AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO

**RECIFE
2013**

JANAÍNA DA SILVA LEMOS

LLA: AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO

Monografia apresentada à Universidade Paulista, Centro de Consultoria Educacional, como exigência do Curso de Pós-Graduação *Latu Sensu* em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial.

Orientador: M.Sc. Gustavo Santiago Dimech

RECIFE

2013

JANAÍNA DA SILVA LEMOS

**UNIVERSIDADE PAULISTA
CENTRO DE CONSULTORIA EDUCACIONAL**

Monografia para obtenção do grau de Especialista em Hematologia e Hemoterapia Laboratorial.

Recife, 30 de Abril de 2013.

EXAMINADOR:

Nome: _____

Titulação: _____

PARECER FINAL:

AGRADECIMENTOS

A Deus, o que seria de mim sem a fé que eu tenho Nele.

À minha família, meu pai (*in memoriam*), minha filha (que está por vir), onde ganhei forças e coragem para continuar esta jornada e chegar nesta etapa da vida.

A todos os professores , que foram tão importantes para o meu aprendizado e no desenvolvimento desta monografia.

Aos amigos e colegas, pelo incentivo e pelo apoio constantes

"O maior líder é aquele que reconhece sua pequenez, extrai força da sua humildade e experiência da fragilidade. Nunca é tarde demais para ficar pronta".

Augusto Cury

RESUMO

Os exames microscópicos para diagnóstico da Leucemia Linfóide Aguda (LLA), estão sendo aprimorados a fim de detectar alterações nas células sanguíneas e medular, o exame mielograma é de extrema importância para o diagnóstico eficaz da leucemia o exame é caracterizado por uma punção na medula óssea que na maioria das vezes detecta células leucêmicas. A imunofenotipagem, realizada com a técnica de citometria de fluxo, é útil tanto no diagnóstico, classificação, prognóstico, estadiamento, monitoramento, como na caracterização fenotípica das leucemias. Contudo, as análises citogenéticas e moleculares permitem uma definição mais precisa no diagnóstico das leucemias. A análise das células sanguíneas é útil para determinar o sub-tipo de leucemia a ser tratada. Os exames usados no diagnóstico precoce da leucemia são de alta especificidade e o mesmo deve ser realizado por uma equipe de saúde especializada para que possam analisar criteriosamente o surgimento de alterações celulares na medula óssea, otimizando o diagnóstico e refletindo de forma positiva no tratamento e prognóstico do paciente.

Palavras-Chave: Leucemias, LLA, Diagnóstico.

ABSTRACT

Microscopic examination for diagnosis of acute lymphoblastic leukemia (ALL), are being improved in order to detect changes in blood and bone marrow cells, bone marrow examination is of extreme importance for the effective diagnosis of leukemia examination is characterized by a puncture in the bone marrow that most often detect leukemic cells. Immunophenotyping, performed with flow cytometry, is extremely useful for staging, diagnosis, classification, prognosis, and disease monitoring. However, cytogenetic and molecular analyses provide more precise diagnosis. Analysis of blood cells is useful for determining the subtype of leukemia being treated. The tests used for early diagnosis of leukemia are high specificity and the same should be done by a specialized team of health so they can carefully examine the emergence of cellular changes in the bone marrow, optimizing the diagnosis and reflecting positively on treatment and prognosis of patient.

Keywords: Leukemia's, LLA Diagnostics.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	08
1. LEUCEMIAS.....	09
2. A LEUCEMIA LINFOCÍTICA AGUDA	11
2.1 EPIDEMIOLOGIA	12
2.2 ETIOLOGIA	12
2.3 SINAIS CLINICOS	16
2.4 TRATAMENTO	17
2.4.1 Terapia de indução	18
2.4.2 Tratamento e transplante de medula óssea	20
2.4.3 Tratamento direcionado ao risco de recidiva da LLA na infância	23
2.5 PROGNÓSTICO	25
2.6 DIAGNÓSTICO	28
2.6.1 MÉTODOS	29
2.6.2 ESPECIFICIDADE E SENSIBILIDADE DOS TESTES DIAGNOSTICOS	38
2.6.3 AVANÇOS NO DIAGNÓSTICO	39
CONCLUSÃO	43
REFERÊNCIAS	45

INTRODUÇÃO

A leucemia linfocítica aguda resulta na produção descontrolada de blastos de características linfoides e no bloqueio da produção normal de glóbulos vermelhos, de glóbulos brancos e de plaquetas. Caracterizam-se quando, ao diagnóstico, linfoblastos excedem 25% das células nucleadas na medula óssea. (ALMEIDA, 2009).

Acumula-se grande quantidade de linfoblastos em diferentes etapas da maturação, pois os mesmos mantêm capacidade de multiplicação, mas não de diferenciação até formas maduras e normais (FARIAS, 2004).

A leucemia linfocítica aguda representa 75 a 80% dos casos de leucemia em crianças, sendo seu pico de incidência por volta dos 2 aos 5 anos de idade, e apenas 20% das leucemias do adulto, dessa faixa etária é geralmente mais agressiva do que na criança (FADEL,).

O prognóstico da LLA é determinado pela idade, pelo imunofenótipo (LLA pró-B, B comum, pré-B, B madura ou de linhagem T) e pelas alterações cito genéticas (SCHAFFEL, 2008).

Nos últimos anos, houve também muitos avanços no campo da biologia molecular, ajudando a compreender melhor a doença e definindo com mais rigor os grupos de risco (FARIAS, 2004).

O progresso científico-tecnológico, notadamente genômico, terapia celular e imagem, está contribuindo para uma mudança de paradigma na medicina (ALMEIDA, 2009)

.O presente trabalho tem como tema os avanços do diagnóstico da leucemia linfocítica aguda, cujo objetivo é revisar as atualizações dos principais aspectos relacionados ao diagnóstico da LLA, através dos métodos laboratoriais, dos critérios morfológicos, cito químicos, imunológicos, cito genéticos e da genética molecular, que são úteis para classificação e diagnóstico das leucemias linfoides agudas (LLA).

1. LEUCEMIAS

Neoplasias, tanto linfoides como mieloides, quando se originam ou precocemente disseminam-se na medula óssea e, de modo sistemático ou usual, invadem o sangue periférico, são ditas leucemias. A origem celular e a cronologia da evolução são tradicionalmente usadas para classificação (FAILACE, 2003).

A Leucemia é uma doença maligna que acomete os leucócitos, é um dos tipos de câncer mais raro e é caracterizada pela proliferação anormal de células blásticas da linhagem mielocítica ou linfocítica na medula óssea e no sangue periférico que tendem a substituir as células leucocitárias normais, a sua etiologia é desconhecida (SARAIVA, 2009).

Por ocasião do diagnóstico, o organismo contém células leucêmicas que se acumulam compactamente na medula, nos tecidos linfoides (no caso das leucemias linfoblásticas) e que podem infiltrar virtualmente todos os órgãos (FAILACE, 2003).

A leucemia aguda (LA) pode ter origem linfóide (LLA) ou mielóide (LMA). Na infância, predomina a LLA (85% dos casos); no adulto, a LMA (80% dos casos). Em relação às leucemias linfoides e mieloides, ambas são agressivas e de progressão rápida, em decorrência destes fatores é necessário que seja feito o diagnóstico precoce a fim de agilizar o tratamento, evitando agravos que apresentem risco eminente de vida ao paciente (BARRETO, 2001).

As leucemias são classificadas em agudas e crônicas, no grupo das agudas encontra-se a linfoblástica e mieloblástica. Esta diferenciação ocorre pelo tipo de células que se multiplicam em cada grupo (SARAIVA, 2009).

As leucemias podem ser classificadas de várias maneiras:(1) pela morfologia e cito química, complementada pela imunofenotipagem, proposta pelo grupo French-American-British (FAB); (2) pela morfologia, imunofenotipagem e cito genética, proposta pelos grupos MIC (classificação morfológica, imunológica e cito genética); (3) pela imunofenotipagem somente, proposta pelo grupo European Group for the Immunological Classification of Leukemias (EGIL); (4) por eventos antecedentes; (5) pela natureza da célula progenitora na qual a mutação leucemogênica ocorreu. (QUIXABEIRA, 2008).

A medula óssea é responsável pela formação das células sanguíneas e fica localizada no interior dos ossos, principalmente no esterno e nos ossos do quadril, na medula são encontradas células precursoras que originam os componentes sanguíneos tais como: leucócitos, eritrócitos e plaquetas (INCA, 2008).

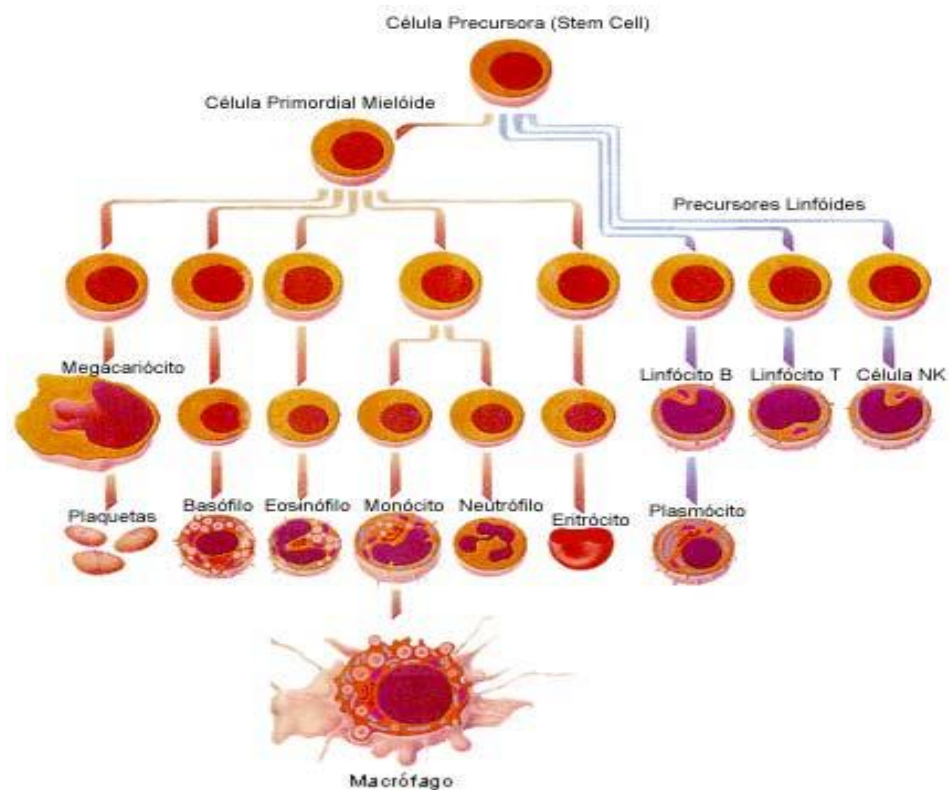


Figura 1. A origem das células sanguíneas.
Fonte: (INCA,2008 P.02)

Nas leucemias agudas, a proliferação faz-se a partir de células primitivas da mielopoese ou de precursores linfóides, que perdem a capacidade maturativa; a expansão dos clones é rápida e causa insuficiência hematopoética fatal se não for contida pelo tratamento (FAILACE, 2003).

2. A LEUCEMIA LINFOCÍTICA AGUDA

As linfoproliferações agudas são denominadas leucemias linfocíticas agudas (LLA), caracterizadas pela presença de grande porcentagem de blastos linfóides ou linfoblastos no sangue periférico e na medula. É uma doença maligna de células linfocitárias derivadas das células indiferenciadas linfóides que estão presentes em grande número na medula óssea, no timo e nos gânglios linfáticos (LORENZI, 2003).

As células leucêmicas da LLA mantêm certa capacidade de multiplicação, mas não se diferenciam até formas mais maduras e normais. Assim, acumulam-se os linfoblastos ou células jovens em grande número e em etapas diferentes de sua maturação. Essa parada de maturação pode ser detectada por meio de anticorpos monoclonais capazes de demonstrar os antígenos de diferenciação linfocitários (LORENZI, 2003).

Sabe-se que a leucemia origina-se de uma célula progenitora hematopoiética com uma alteração genética específica, influenciando no crescimento celular e levando à transformação maligna, tornando de grande utilidade a classificação genética da LLA (NAOUM, 2001).

Existem subtipos de LLA e podem se desenvolver a partir dos linfócitos primitivos que estejam em desenvolvimento independente da fase, sendo os principais subtipos descobertos através de exames laboratoriais: imunofenótipos (imunofenotipagem), que dão origem às características físicas das células (NAOUM, 2001).

As LLA's podem ser de tipo B ou de tipo T, sendo as primeiras mais freqüentes. Os marcadores das células leucêmicas diferem conforme o tipo de linfócito proliferantes. A pesquisa desses marcadores imunológicos é muito importante na prática, pois orienta a terapêutica e, até certo ponto, determina o prognóstico. A maioria das LLA's é do tipo pré-B ou tem marcadores de células ainda mais indiferenciadas (LORENZI, 2003).

A LLA é classificada pela multiplicação desordenada e clonal de células linfóides que perdem a sua capacidade de diferenciação (SARAIVA, 2009).

2.1 EPIDEMIOLOGIA

A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA), é uma patologia predominante na infância, acomete crianças na faixa etária de 3 a 10 anos. Este tipo de neoplasia também pode acometer adolescente e é rara durante a vida adulta (MERCK, 2008).

A t(9;22) ocorre em cerca de 25% dos casos de LLA do adulto, sendo a alteração citogenética mais comum da LLA nesta faixa etária.³ A idade mediana ao diagnóstico da LLA Ph1 de novo é de 45 anos.⁴ A prevalência é de apenas 3% em LLA de crianças com menos de 15 anos, aumenta para cerca de 30% a partir dos 30 anos e ocorre em mais de 50% dos casos de LLA diagnosticados após os 65 anos de idade (SCHAFFEL, 2008).

Parece haver certa predileção pelo sexo masculino. No nosso meio, enquanto a LMA acomete as crianças e jovens (<20 anos de idade), numa porcentagem de cerca de 50%, a LLA incide em porcentagem maior do que 70% no mesmo grupo. Acima de 60 anos, ambas as formas têm incidência menor (LORENZI, 2003).

Embora a LLA possa ocorrer em qualquer idade, sua incidência é maior entre crianças de 2 a 5 anos, numa porcentagem de cerca de 70%, diminuindo entre adolescentes e adultos jovens, entre os quais a incidência das leucemias agudas é de 20%(36, 57), voltando a crescer após os 60 anos de idade(17). Entre crianças, a doença é mais comum naquelas de cor branca e do sexo masculino (FARIAS, 2004).

2.2 ETIOLOGIA

A etiologia da LLA está, pois, relacionada com mutações de genes secundárias a uma virose ou à ação de agentes físicos ou químicos. Entretanto, nem todas as pessoas que estão em contato com certos agentes reconhecidamente mutagênicos acabam apresentando leucemia (LORENZI, 2003).

Embora a causa da LLA seja desconhecida é improvável que a transformação leucêmica seja resultante de evento único, mas sim do acúmulo de múltiplos processos envolvendo interações complexas entre a susceptibilidade do hospedeiro, danos cromossômicos secundários à exposição por agentes químicos ou físicos e à possível incorporação de informações genéticas virais transmitidas às

células progenitoras susceptíveis. Anormalidades genéticas hereditárias, tais como Síndrome de Down e Ataxia-telangectasia podem predispor a LLA (LEITE, 2007)

Apenas uma pequena porcentagem dos indivíduos acometidos apresentam uma síndrome genética estabelecida, por exemplo, a síndrome de Down, Síndrome de Bloom e síndrome de Nijmegen (REGO, 2009).

Observações epidemiológicas têm demonstrado que na etiologia da leucemia infantil, bem como na de crianças mais velhas, interferem o fator suscetibilidade genética e os agentes ambientais (LORENZI, 2003).

A classificação da OMS (2005) em leucemias tem a mesma abordagem. Reconhece duas categorias de leucemias linfocíticas: aquelas compostas por células do sistema hematopoiético ou precursores imaturos que processam as imunoglobulinas ou genes de células B e T (LLA) e as compostas pela função periférica das células B ou T (PELISSARE, 2009).

A avaliação da incidência dos subtipos de leucemias no mundo tem mostrado variações importantes em relação à distribuição geográfica, sexo, idade e grupos étnicos ou raciais, sugerindo que possam existir diferentes fatores etiológicos. No Brasil, estudos epidemiológicos mostraram a relação entre subtipos imunológicos de LLA com sazonalidade e condições socioeconômicas, além de evidenciar variações da incidência dessa doença em diferentes estados brasileiros. A chance de cura na LLA tem aumentado e aproxima-se de 80%, sendo este avanço decorrente da melhora no diagnóstico, identificação de fatores prognósticos e utilização de tratamentos adaptados ao grupo de risco de cada paciente (LEITE, 2007).

A falência medular é responsável pela caracterização da tríade da doença: pois a interrupção da produção de hemácias gera o quadro clínico de anemia com sintomas de palidez progressiva, cansaço, disfagia, perda abrupta de peso; em relação à diminuição de granulócitos na corrente sanguínea as características são: infecções oportunistas e o principal sintoma febre, a diminuição da quantidade de plaquetas acarreta em sangramentos espontâneos de pele e mucosas a principal é equimose (BARRETO, 2001).

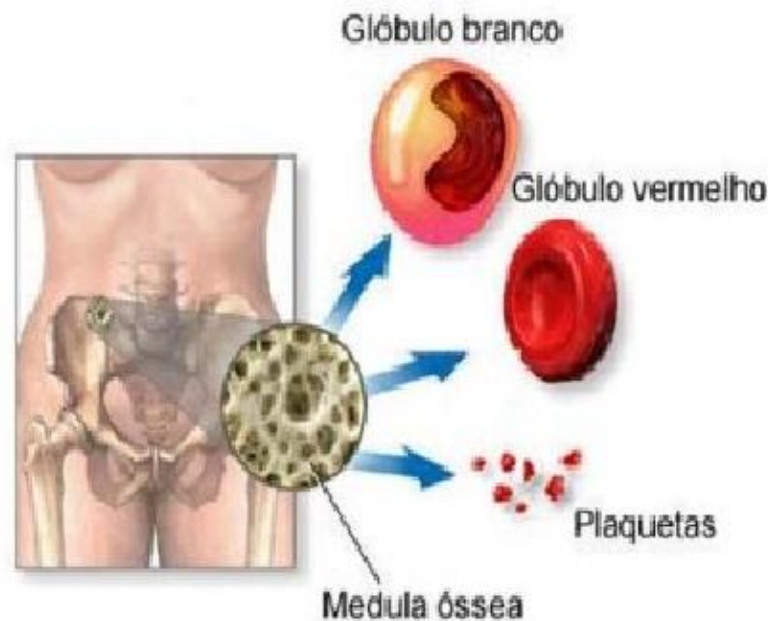


Figura 2. Medula óssea do osso do quadril.
Fonte: (INCA, 2008, p. 10)

Independentemente das classificações, o diagnóstico de leucemia aguda (LA) origina-se dos sinais e sintomas a seguir:

1. Empalidecimento ou outros sinais de anemia de rápida instalação, sem perda sanguínea que a justifique.
2. Púrpura recente: se as equimoses, petéquias e sangramento das mucosas forem súbitos, e notados em paciente com bom estado geral, sem aspecto doentio, o diagnóstico de púrpura trombocitopênica aguda é mais provável; caso contrário, com empalidecimento, anorexia, febrícula, e duração de algumas semanas, pensar em LA.
3. Febre ou outros sinais de infecção com (1) e/ou (2) acima: é a apresentação clássica da LA; são sinais de pancitopenia (anemia, trombocitopenia e neutropenia).
4. Dor óssea (40% dos casos): pesquisá-la pela pressão digital no esterno. Não é apanágio da LA: está presente em qualquer disseminação tumoral metastática na medula; nesta pode haver, também, pancitopenia.
5. Linfonodomegalias: presentes em 60% dos casos de LLA.

6. Esplenomegalia: o baço é palpável em 70% dos casos de LLA.
7. Dores reumáticas em criança, associadas a qualquer desses itens (FAILACE, 2003).

Na LLA é mais frequente o crescimento de tecidos linfoides , provocando adenomegalia e esplenomegalia. Fenômenos compressivos decorrentes do crescimento de gânglios linfáticos (mediastino, timo etc.), embora raros, podem ser encontrados. A infiltração do sistema nervoso central, que resulta em quadro semelhante ao da meningite, com paralisia de nervos cranianos, pode estar presente, caracterizando a neuroleucemia (LORENZI, 2003).

Alguns casos de LLA correspondem à fase de agudização da LMC, aparecendo a alteração citogenética clássica desta: o cromossomo Ph¹. Este é mais frequente na LLA do adulto e indica sempre pior prognóstico (LORENZI, 2003).

A punção lombar é relevante que seja feita diante da suspeita de LLA, pois detecta se há acometimento do SNC o que sugere complicações terapêuticas importantes e acrescenta gravidade ao quadro clínico do indivíduo, este procedimento é invasivo, durante o exame o paciente fica em posição fetal, ou , seja em tríplex flexão para que não haja movimentos corporais assim evitando que ocorra o cisalhamento das estruturas medulares, após o exame o paciente é monitorado por 6 horas para verificação de alterações neurológicas (MERCK, 2008).

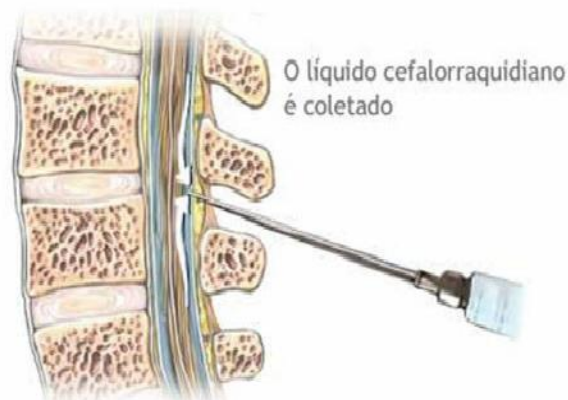


Figura 3. Procedimento de retirada do líquido através de uma punção lombar.

Fonte: (MERCK, 2008 p. 04)

2.3 SINAIS CLÍNICOS

Segundo a literatura, artrite ocorre em uma frequência de 13,5% (43), sendo mais comum na LLA. Pacientes com esta manifestação frequentemente têm hemogramas iniciais normais, o que pode contribuir para o atraso do diagnóstico. Ao exame físico, é possível não se encontrar nada além de artrite. Palidez e presença de sangramento muco cutâneo podem ser observadas. O fígado, o baço e os linfonodos estão aumentados em mais da metade dos pacientes. Com a evolução da doença, podem ocorrer, ainda, acometimento ocular, testicular, nódulos subcutâneos, aumento das glândulas salivares, priapismo e síndromes compressivas medulares (CAMPOS,2008).

As leucemias apresentam, portanto, sintomas e sinais inespecíficos que podem simular o quadro clínico de muitas patologias, entre elas a artrite reumatóide juvenil (ARJ) (41,44), febre reumática (FR)(45), lúpus eritematoso sistêmico (LES) (40), púrpura trombocitopenia idiopática (PTI), aplasia medular e mononucleose infecciosa, entre outras (SARAIVA, 2009).

Os sinais e sintomas apresentados em decorrência da baixa produção de células sanguíneas são:

- Anemia, palidez progressiva, cansaço a mínimos esforços e sonolência ocorrem pela diminuição de hemoglobina no sangue.
- Hematomas, petéquias e sangramentos prolongados das mucosas, ocorrem pela diminuição das plaquetas.
- Infecções e hipertermia frequentes ocorrem pela diminuição de glóbulos brancos.
- Aumento dos gânglios linfáticos pelo acúmulo de linfoblastos leucêmicos no sistema linfático.
- Cefaléia e vômitos, causados pelo acúmulo de células leucêmicas no líquido céfalo raquidiano (SARAIVA, 2009).

O conhecimento da biologia celular na LLA do adulto tem permitido entender as diferenças entre as duas formas de leucemia, cujas respostas aos tratamentos, prognóstico e evolução se revelam tão diferentes. A LLA tipo B predomina tanto nos adultos como em crianças. A chamada LLA tipo pré-B inicial (early pré-B)tem melhor

prognóstico, sendo mais frequente nas crianças. A chamada LLA tipo T, com pior prognóstico, é mais frequente no adulto, assim como a LLA com antígenos mielóides (LORENZI, 2003).

O diagnóstico é estabelecido pelos sinais e sintomas apresentados pelo paciente em conjunto com os achados laboratoriais, através dos exames normalmente se detecta algum grau de anemia ou trombocitopenia previamente estabelecida (MERCK, 2008).

Os avanços tecnológicos direcionados a identificação imunohematológica de células, antígenos de membrana de leucócitos e de células precursoras hematopoiéticas, promovem um diagnóstico laboratorial de diversas doenças que acometem o sangue e seus hemoderivados principalmente a LLA (NAOUM, 2001).

2.4 TRATAMENTO

O tratamento tem por primeiro objetivo obter a remissão completa das alterações apresentadas nos exames laboratoriais, biologicamente implica do desaparecimento do clone leucêmico e a restauração e normalização hematopoiética policlonal normal. Os conceitos sobre o tratamento da leucemia são constantemente atualizados e revisados a fim de assegurar o melhor prognóstico ao paciente (MERCK 2008).

Durante o tratamento de leucemia linfóide aguda (LLA), vários aspectos têm sido apontados como causadores de alterações no crescimento. Entre estes, pode-se citar a própria doença, a nutrição deficiente, a ocorrência de infecções, a quimioterapia e a radioterapia cranial. A somatória de todos esses fatores determina uma desaceleração do crescimento.(MONTEIRO, 1988).

O tratamento da LLA é prolongado, variando de dois a três anos. Embora os esquemas terapêuticos possam mudar de centro para centro, os protocolos modernos invariavelmente são constituídos de cinco grandes fases: indução da remissão, intensificação-consolidação, reindução, prevenção da leucemia no sistema nervoso central (SNC) e continuação ou manutenção da remissão (PEDROSA, 2002).

2.4.1 Terapia de indução

Essa é a fase inicial do tratamento. Tem como objetivo, destruir o maior número de células doentes (blastos) e com isso a medula óssea recupera sua produção de células normais. Ao final desta primeira fase o paciente não apresenta sinal ou sintoma atribuído a leucemia e o mielograma apresenta menos de 5% de células doentes constituindo a fase de remissão clínica completa (ABRALE,).

Normalmente é administrado no paciente quatro tipos de drogas: corticóides, vincristine, l-asparaginase e daunoblastina (SARAIVA, 2005). O primeiro agente efetivo no tratamento da LLA foi um antifolato (aminopterina), baseado no conhecimento de que o ácido fólico era essencial para a hematopoiese normal. Entretanto, somente em 1948, o médico Sidney Farber descreveu o efeito do tratamento com aminopterina em 50 crianças com LLA, observando aumento da sobrevivência em mais de 5 anos. Nos anos seguintes novas drogas foram testadas como os corticosteróides (1950), as antipurinas (1953) e a vincristine (1963). Durante o tratamento nos anos 60 o uso de drogas combinadas demonstrou a tentativa de remissão da doença, porém, não considerava o efeito tóxico somatório (COUTO, 2010)

Na maioria dos pacientes, após várias semanas, a produção normal de células sanguíneas se restabelecerá e as contagens das células sanguíneas H gradualmente voltam ao normal, o paciente não apresenta mais os sintomas da doença e as células leucêmicas não são mais identificadas no sangue ou na medula óssea. Vários estudos demonstram que há células doentes residuais que não interferem no desenvolvimento normal das células sanguíneas, mas apresentam o potencial de crescerem novamente e causarem recidiva da leucemia. Esta é a razão para a utilização de quimioterapia adicional que varia de 1 ano e meio a 2 anos sendo fundamental para que o paciente alcance a cura. Essa segunda fase do tratamento denominamos terapia pós remissão (ABRALE, ???)

Na fase de intensificação- consolidação o objetivo é erradicar as células leucêmicas residuais e circulantes no sangue, a esta fase esta atribuída uma grande melhora no quadro clínico do paciente.

A prevenção da leucemia e manutenção da remissão ocorre através da administração de quimioterápicos a princípio e pode ou não evoluir para o transplante de medula (SARAIVA, 2005).

Teoricamente considera-se que a terapia da leucemia seria curativa se o tratamento precoce fosse suficiente para erradicar as células malignas antes que elas se tornem resistentes às drogas. Esse conceito levou ao desenvolvimento de protocolos progressivamente mais intensivos com o aumento do número de drogas, especialmente para pacientes com alto risco de recaída (PEDROSA, 2002)..

Caracterizar o perfil do paciente pediátrico oncológico é de suma importância do ponto de vista clínico e laboratorial, assim como determinar os fatores que interferem de forma negativa em sua sobrevida, estas informações além de determinar a evolução da patologia, permite que seja feito um tratamento mais eficaz e fidedigno diante do diagnóstico de LLA (LEITE, 2007).

Embora a maioria das crianças com LLA apresentem altas taxas de sobrevida, com tratamento de manutenção com doses-padrão de 6-mercaptopurina e methotrexate, as LLAs de alto risco apresentam melhores resultados com tratamentos mais intensivos (PEDROSA, 2002).

O transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) permanece como melhor opção terapêutica para os pacientes com leucemia de alto risco ao diagnóstico e para a maioria daqueles que sofrem recaídas (MORANDO, 2010).

As leucemias agudas são neoplasias do sistema hematopoiético que, apesar da sua rápida evolução, são potencialmente curáveis. A quimioterapia, base do tratamento, muitas vezes é incapaz de controlar a doença a longo prazo. O transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) alogênico é uma modalidade terapêutica eficaz na consolidação da remissão das leucemias agudas. Entretanto, o TCTH alogênico apresenta alta morbimortalidade (LAMEGO, 2010).

A decisão de se encaminhar um paciente para TCTH alogênico baseia-se hoje nas características da doença, principalmente na citogenética da medula óssea ao diagnóstico. Dessa maneira, pode ser oferecida a melhor terapia para os pacientes com alto risco de recidiva, evitando a intensificação desnecessária do tratamento em pacientes com bom prognóstico. Por outro lado, pacientes com

doença refratária à indução encontram no TCTH alogênico a única possibilidade de cura (LAMEGO, 2010).

Um dos grandes desafios no tratamento das leucemias agudas é evitar a recidiva. Com esse objetivo, muitos pacientes com leucemia aguda têm sido encaminhados para transplante alogênico, sendo hoje a principal indicação para sua realização (LAMEGO, 2010).

2.4.2 Tratamento e transplante de medula óssea

O transplante de medula óssea é uma conduta terapêutica que utiliza o sangue e seus componentes para combater, amenizar e sanar determinadas patologias. A sua aplicação com o mínimo de embasamento científico, ocorreu a partir de 1.900, quando houve a descoberta dos tipos sanguíneos por Karl Landesteiner, esta classificação permitiu estabelecer a compatibilidade e a incompatibilidade sanguínea entre os indivíduos, esta descoberta foi à base para a iniciação do uso do sangue como agente terapêutico.

A evolução das pesquisas ocasionou a descoberta de anticoagulantes por Loitt e Mollison, permitindo que o sangue fosse estocado facilitando a transfusão sanguínea que se estabeleceu mundialmente na década de 30. Entretanto, a descoberta do fator RH ocorreu tardiamente em 1942 também por Landesteiner e foi de extrema relevância, constituindo uma base sólida para a compatibilidade da transfusão sanguínea, ele dividiu esta descoberta em RH+ (quando existe a presença do fator) e RH- (quando há ausência do fator). (VERTCHENKO, 2005).

Podemos afirmar que o sucesso da transfusão ocorre em decorrência de quatro fatores: a descoberta dos grupos sanguíneos, anticoagulantes, fator RH, aperfeiçoamento da técnica e da aparelhagem para coletar e transfundir o sangue (SARAIVA 2005).

No Brasil, o Serviço de Transfusão de sangue o (SDC), foi fundado em 1933, por Heraldo MCIEL, Nestor Rosa e Affonso Cruviel o seu modelo de excelência foi seguido em todo o território nacional pelo sucesso obtido em suas transfusões. A exemplo do que ocorreu em todo o mundo, as principais mudanças no sistema hemoterápico brasileiro não ocorreram nem por intervenção dos especialistas, nem

por influência direta do governo, e sim por causas aleatórias como, por exemplo, o advento da AIDS e por razões econômicas. Em 1981, a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) foi reconhecida pelo Centro de Controle de Doenças nos Estados Unidos como entidade nosológica. Posteriormente, foi estabelecido que as transfusões de sangue, componentes e derivados poderiam ser considerados fontes de transmissão. Nos anos 80, no Brasil, cerca de 2% dos casos de AIDS eram transmitidos por transfusão e mais de 50% dos hemofílicos apresentavam-se infectados pelo vírus HIV. (JUNQUEIRA, 2005)

O aparecimento da AIDS introduziu novos procedimentos, tais como: a substituição da doação anônima pela personalizada, o incremento de todos os métodos de autotransfusão e a disciplina do uso do sangue, de seus componentes e derivados através de judiciosa avaliação do trinômio riscos/benefícios/custo (JUNQUEIRA, 2005).

A decisão de transfundir sangue em crianças deve ser baseada em uma combinação de fatores, incluindo o diagnóstico, valores de concentração da hemoglobina e estado geral do paciente. Na literatura se refere á transfusão sanguínea, como conduta a ser tomada em relação á pacientes adultos, pouco se aborda a pratica em crianças (AMARAL, 2007).

Nem sempre o tratamento com quimioterápicos é suficiente, sendo indicado o transplante de medula óssea. O tratamento é feito em várias fases. A primeira tem a finalidade de atingir a remissão completa, ou seja, um estado de aparente normalidade que se obtém após a poliquimioterapia. Esse resultado é conseguido entre um e dois meses após o início do tratamento (fase de indução de remissão), quando os exames não mais evidenciam células leucêmicas. Isso ocorre quando os exames de sangue e da medula óssea (remissão morfológica) e o exame físico (remissão clínica) não demonstram mais anormalidades (SARAIVA, 2009).

Constatado que as crianças serão mais susceptíveis á efeitos adversos em decorrência da transfusão, é necessário que se faça uma avaliação minuciosa e precisa, pois os pacientes pediátricos apresentam menor percentual de peso, são mais sensíveis aos agentes infectocontagiosos e não possuem o sistema imunológico eficaz. A medicina transfusional, é uma ciência que esta em constante desenvolvimento, apresenta uma grande perspectiva de melhora e biossegurança

para o futuro, não apenas no território nacional, porém no mundo todo (SILVA, 2009).

Apesar dos grandes avanços nos índices de cura da leucemia linfoblástica aguda (LLA) aproximadamente 25% das crianças apresentam recaídas da doença. A resistência celular a drogas antineoplásicas é vista como uma das barreiras mais significativas ao tratamento efetivo dos tumores incluem as alterações no transporte de drogas através da membrana celular, A expressão dos genes de resistência múltipla a drogas (MDR-1), genes relacionados à resistência (MRP) e genes da proteína de resistência pulmonar (LRP) podem conferir o fenótipo de resistência a alguns tumores. As proteínas expressas por estes genes agem como bomba de efluxo transmembrana celular para diversos quimioterápicos, reduzindo a concentração celular de genotóxicos (TERCI,2003).

Assim que obtida a remissão completa da LLA os ciclos de quimioterapia são chamados de consolidação e posteriormente de manutenção todo este processo pode durar até três anos. Atualmente 50% dos casos de LLA em pacientes pediátricos são curados. Este resultado só é possível a partir de uma associação minuciosa de fatores tais como: protocolo de atendimento baseado na faixa etária, quadro clínico, resultados laboratoriais, e a resposta ao tratamento inicial (BARRETO, 2001).

O regime de condicionamento mais utilizado nos pacientes com LLA foi ciclofosfamida e irradiação corporal total. O esquema de imunoprofilaxia mais frequentemente utilizado para os pacientes que receberam TCTH com células de medula óssea e de sangue periférico foi ciclosporina e metotrexate e, para pacientes que receberam sangue de cordão umbilical, foi ciclosporina e corticoide (MORANDO, 2010)

Os blastos nos casos de leucemia linfóide aguda frequentemente se agrupam no revestimento da medula espinhal e cerebral, chamado de meninge. Essas áreas do corpo, que são menos acessíveis à quimioterapia quando administrada por via oral ou intravenosa, têm sido chamadas de locais de santuário. Se a meninge não for tratada, as células leucêmicas podem se proliferar neste local, levando a recidiva (leucemia meníngea). O tratamento também deve ser direcionado para esses locais por meio da injeção de medicações diretamente no líquido céfalo

raquiano (quimioterapia intratecal), ou por meio de radioterapia. Tal tratamento é chamado profilaxia no sistema nervoso central (LEE, 2004).

A presença de fatores de predisposição favoráveis à recidivas da doença, eventualmente leva a uma abordagem terapêutica mais agressiva podendo evoluir para o transplante de células tronco (COSTA, 2001).

Sabemos que os resultados obtidos com o transplante nos pacientes com doença avançada são muito ruins e, pelo menos, em parte, podemos refletir sobre vários problemas enfrentados pelos serviços de transplante do Brasil. Neles incluímos a dificuldade do estadiamento inicial adequado do paciente, a falta de tratamento quimioterápico em várias cidades brasileiras e, no caso dos pacientes que têm doadores compatíveis familiares, existe ainda a dificuldade para se conseguir um leito para transplantar o paciente no melhor momento após atingida a remissão (MORANDO, 2010)..

. O TCTH (transplante de células tronco haploidêntico) está se tornando uma alternativa viável para estes pacientes, principalmente porque, virtualmente, todas as pessoas têm um doador haploidêntico disponível e de fácil acesso (pai, mãe, irmão) (MORANDO, 2010).

2.4.3 Tratamento direcionado ao risco de recidiva da LLA na infância

Sob o termo Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) há um conjunto de doenças neoplásicas que correspondem a 80% das leucemias da infância e a cerca de 30% dos casos de câncer até os 15 anos de idade. É a neoplasia mais frequente da infância. Nos Estados Unidos da América, a taxa de incidência anual é maior nos primeiros cinco anos de vida, com um pico em torno de quatro anos de idade, onde se encontra uma taxa de 4,4 casos/100.000 crianças. (RIVERA, 1993).

Os passos decisivos no desenvolvimento do tratamento da LLA são a estratificação e a orientação da intensidade terapêutica de acordo com o risco de recaída correspondente (RIEHM, 1995).

Os estudos iniciados nos anos 70 e consolidados nos anos 80 contribuíram para a estratificação dos pacientes de acordo com um conjunto de fatores prognósticos. Esta estratégia permite fornecer esquemas quimioterápicos adequados às variáveis clínicas e laboratoriais de cada paciente, evitando toxicidade

excessiva para os casos de bom prognóstico e o tratamento insuficiente para os casos de mau prognóstico. A avaliação do risco de recidiva é a etapa mais importante na estratégia do tratamento após a realização do diagnóstico, já que a intensidade do tratamento será estabelecida essencialmente a partir do risco de recidiva. (RIVERA, 1993).

Existem diversas formas utilizadas atualmente para estratificar o risco de recidiva. Em geral, os protocolos de tratamento da LLA da infância estratificam seus pacientes em dois ou três grupos de risco. Pacientes com baixo risco de recidiva podem receber tratamento com menor toxicidade do que pacientes com risco alto ou intermediário. Alguns dos pacientes classificados como alto risco para recidiva podem ainda ser considerados para transplante de medula óssea em primeira remissão completa, por não responderem a esquemas quimioterápicos intensivos (RIEHM, 1995).

Na proposta do Workshop de 1993 (Smith, 1996) promovido por The Cancer Therapy Evaluation Program (CTEP) do National Cancer Institute (NCI) dos EUA, houve consenso entre os grupos participantes (Children's Cancer Group (CCG), o Pediatric Oncology Group (POG), o Dana Farber Cancer Group e o St. Jude Children's Research Hospital) de que a contagem de leucócitos maior do que 50.000/mm³ no momento do diagnóstico e a idade menor do que 1 ano ou maior do que 10 anos conferem um mau prognóstico (COSTA, 2003).

Apesar da proposta ser interessante pela facilidade com que se pode dispor destes dois parâmetros, as taxas de recidiva não iriam provavelmente baixar dos patamares atuais. Isto porque o poder de predição da combinação das duas variáveis poderia ser dito insuficiente, já que a proposta não incorpora várias informações fundamentais do ponto de vista do prognóstico (COSTA, 2003).

O sistema de estratificação de risco proposto em 1995 pelo grupo alemão para tratamento de LLA na infância - BFM95- é mais complexo, utilizando outras informações além de leucometria global e idade, de estratificar os pacientes em 3 grupos de risco. Para cada grupo de risco definido por estes critérios há um esquema terapêutico distinto (RIEHM, 1995).

Em 2002, o grupo alemão para o tratamento de LLA propôs um novo estudo terapêutico chamado ALL IC-BFM2002, incluindo além de modificações no

tratamento propriamente dito, modificações na estratificação do risco, utilizando uma avaliação da medula óssea no 15º dia de tratamento, além dos mesmos parâmetros do protocolo BFM95 citados acima. Entretanto, os resultados deste protocolo ainda não foram publicados, dado o curto tempo de sua implementação (SCHRAPPE, 2003).

Apesar dos avanços na classificação de risco dos portadores de LLA na infância, cerca de 70% dos pacientes são atualmente classificados como risco intermediário de recidiva. Neste grupo de risco intermediário, cerca de 35% dos pacientes irá recidivar. Portanto, dentro do chamado grupo intermediário de recidiva há um conjunto heterogêneo de pacientes no que diz respeito ao risco real de recaída. Isto indica a necessidade de novas estratégias de classificação de risco de recidiva, sobretudo que discriminem melhor os pacientes a que atualmente atribuí-se um risco intermediário de recidiva (RIEHM, 1995).

O diagnóstico precoce e sem equívocos da LLA implica em maiores chances de cura, diminuição das sequelas causadas pela doença e garante maior sobrevida ao paciente (SARAIVA, 2009).

2.5 PROGNÓSTICO

O bom prognóstico do paciente com LLA é baseado no tempo que a patologia levou para ser detectada, estágio da doença, agressividade da LLA e conduta traçada para o tratamento deste paciente. É relevante ressaltar que pode haver recidivas da doença o que é classificado como episódios graves principalmente se a recidiva ocorrer na medula espinal o quadro clínico é grave, pois afeta diretamente o SNC e suas consequências acarretam em risco eminente á vida do paciente (MERCK, 2008).

O prognóstico da LLA é determinado pela idade, pelo imunofenótipo (LLA pró-B, B comum, pré-B, B madura ou de linhagem T) e pelas alterações citogenéticas da LLA Ph₁ (SCHAFFEL,2008).

Características clínicas e laboratoriais exibidas ao diagnóstico de pacientes com LLA têm valor de prognóstico, delineando-se subgrupos favoráveis e subgrupos desfavoráveis. A identificação desses fatores é um elemento essencial no esboço e

análise dos protocolos terapêuticos, permitindo a discriminação dos pacientes em grupos e programas terapêuticos específicos (SARAIVA, 2009)

Dentre os fatores prognósticos destacam-se as alterações genéticas. Uma das aberrações cromossômicas identificadas como indicativa de prognóstico altamente favorável é a t(12;21), que cria um gene de fusão que inclui a porção 5' do gene *TEL* (*ETV6*) no cromossomo 12 e a região codificante do gene *AML1* (*RUNX1*) no 21 (CHAUFFAILLE, 2009).

.A variável sexo como fator de relevância prognóstica é controversa porém os mais reconhecidos grupos internacionais de tratamento não consideram essa variável na estratificação dos grupos de risco. 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 leucemia ao diagnóstico tenham sido consideradas na estratificação de risco para LLA de precursor B. (LEITE, 2007).

Alguns fatores têm importância na orientação do tratamento, procurando-se identificar os casos em que há alto risco e aqueles para os quais existe risco-padrão. Essa separação se relaciona com o prognóstico da doença. Entre esses fatores há de se analisar:

- 1. Idade:** diferencia-se a LLA da infância e do adulto. A leucemia linfoblástica que incide em crianças com idade entre 2 -10 anos tem melhor prognóstico do que aquela que aparece antes dos 12 meses de idade ou nos indivíduos adultos. Aparentemente, o pior prognóstico nas crianças pequenas corre por conta do maior número das leucemias indiferenciadas ou híbridas, isto é, aquelas com marcadores de linhagem linfóide e mielóide nas células blásticas, leucêmicas (clones leucêmicos híbridos).
- 2. Número de leucócitos:** quanto maior a massa de células leucêmicas, pior é o prognóstico. Quando esse número é elevado, há também grande aumento de lactodesidrogenase no soro.

3. **Citogenética:** conforme foi mencionado, a hiperdiploidia indica sempre melhor prognóstico e resposta à terapêutica.
4. **Sexo:** o prognóstico costuma ser pior no sexo masculino.
5. **Outros fatores de mau prognóstico:** raça negra, presença de infiltração do sistema nervoso central (SNC), adenomegalia e hepatoesplenomegalia volumosa, presença de massa mediastinal ou de rash cutâneo, falta de resposta ao tratamento inicial.
6. **Tipo imunológico:** a LLA tipo B predomina em crianças (80%), sendo maior parte de tipo pré-B indiferenciado, também denominada LLA comum (antígeno CALLA ou CD10 positivo). Em adultos, esse tipo comum incide em menor proporção de casos (50%). A LLA tipo T parece ter pior prognóstico em crianças, nas quais incide em cerca de 15% dos doentes. Nos pacientes adultos (20% dos casos), entretanto, esse tipo de LLA parece ser o que responde de forma melhor à terapêutica intensiva usada atualmente.
7. **Tipo morfológico:** embora não seja constante, há certa correlação entre melhor prognóstico e as LLA tipo L¹ em crianças. As formas L₃ respondem de forma pior ao tratamento (LORENZI, 2003).

Embora a LLA deva sempre ser considerada uma doença grave, a identificação de vários fatores prognósticos permite a estratificação dos pacientes em grupos de risco, o que possibilita uma abordagem terapêutica diferenciada. Os grupos de maior risco são tratados com terapias mais intensas, cada vez mais eficazes, enquanto os grupos de baixo risco apresentam melhor sobrevida, podendo ser poupados dos efeitos deletérios da terapêutica (FARIAS, 2004).

O prognóstico de crianças e adolescentes com leucemias agudas melhorou muito nas últimas décadas e é um grande exemplo do quanto é possível alcançar por meio de estudos colaborativos e protocolos clínicos multicêntricos (SEBER, 2010).

O papel do pediatra oncologista não termina com o tratamento do câncer. Sobreviventes do câncer infantil devem ser acompanhados durante sua adolescência e mesmo na vida adulta. A essência é lembrar que estes pacientes continuam se desenvolvendo tanto física como emocionalmente durante o período pós-terapia (56). Devemos utilizar vários parâmetros clínicos e laboratoriais para acompanhar aspectos ligados aos sistemas endocrinológicos, respiratórios, renal, cardíaco, entre outros, mas também devemos utilizar recursos que avaliem as funções ligadas a aspectos emocionais e sociais (SARAIVA, 2009).

É de responsabilidade da equipe médica e um direito da criança e do adolescente, que seja ofertado um tratamento de qualidade, com pessoas qualificadas a fim de minimizar os danos e sequelas causados em decorrência da LLA a fim de obter um prognóstico positivo e minimizando as chances de recidivas, durante o tempo de internação além de um tratamento humanizado a criança e o adolescente acometido por LLA, deve ter assegurado o direito ao aprendizado. (TERCI, 2003).

A presença de fatores prognósticos desfavoráveis ou a recidiva (recaída) da doença habitualmente levam a uma abordagem terapêutica mais agressiva, podendo ser quimioterapia ou o TCTH. A alta taxa de cura de crianças com leucemia linfóide aguda, tratadas com quimioterapia, reduz a frequência em que se considera a realização de um transplante de células-tronco hematopoiéticas. Uma criança com características que indiquem um bom prognóstico não seria um candidato a um transplante, a menos que a resposta a quimioterapia seja reduzida tratamento ou por recidiva da doença (QUIXABEIRA, 2008).

2.6 DIAGNÓSTICO

É feito primeiramente por hemograma, porém as alterações na quantidade dos leucócitos não são aparentes, por este motivo é de suma importância que outros exames laboratoriais sejam colhidos, a fim de diagnosticar precocemente a doença e dar início ao tratamento (LEITE, 2007).

Para diagnosticar a doença, as células sangüíneas e da medula devem ser examinadas. O exame por coloração das células sangüíneas e sua visualização

através de um microscópio, normalmente irá mostrar a presença de linfoblastos. Isso será confirmado através do mielograma (punção da medula óssea), que quase sempre mostra células leucêmicas. As células sanguíneas e/ou da medula óssea também são utilizadas para determinar o subtipo de leucemia com a realização de exame citogenético (ou cariótipo) e imunofenotipagem e quando necessário, para outras investigações especiais (abrale.com.br)

A citomorfologia, a imunofenotipagem e a citogenética compõem a tríade clássica da abordagem multifacetada indispensável ao diagnóstico das leucemias linfóides agudas (Fleury.com.br).

O diagnóstico precoce e sem equívocos da LLA implica em maiores chances de cura, diminuição das sequelas causadas pela doença e garante maior sobrevida ao paciente (SARAIVA, 2009).

2.6.1 Métodos

Cada método de diagnóstico apresentou contribuições e limitações para a classificação das leucemias. Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), o sistema FAB propunha uma classificação baseada apenas nas colorações habituais. O uso de imunofenotipagem e técnicas de biologia molecular mostraram que as categorias individuais de leucemia eram heterogêneas e ainda verificou-se que a diferenciação de leucemia linfóide (LL) e linfomas era bastante artificial, pois referia-se a padrões de invasão em cada paciente e não se baseava no tipo celular ou nas diferenças clínicas (OMS,2005). Os estudos citogenéticos revelaram a importância das translocações cromossômicas com alterações de genes específicos, na patogênese e no comportamento clínico de vários tipos de leucemias (PELISSARI, 2009).

No mielograma, será detectada a infiltração leucêmica da medula óssea, confirmando o diagnóstico para leucemia (FARIAS, 2004).

Métodos moleculares são mais rápidos, sensíveis e específicos que a cariotipagem na detecção de anormalidades genéticas. Rápidos, pois obtém-se o resultado dentro de poucas horas; sensíveis porque, através de técnicas como a PCR, é possível detectar uma célula leucêmica entre 10⁵ e 10⁶ células normais(21);

e específicos, pois está sendo pesquisado um determinado rearranjo, portanto só ele será identificado. Já as desvantagens resumem-se ao fato de não ser possível a identificação de outras alterações eventualmente presentes ou de algumas translocações apresentarem sítios variáveis, como é o caso da 11q23, levando a resultados falsos positivos (FARIAS, 2004).

Exame de Biologia Molecular do sangue periférico ou da medula óssea tem sido procedido, servindo, posteriormente, como marcador da Doença Residual Mínima (DRM) (INCA,2001).

2.6.1.1 Hemograma

O hemograma é um exame que avalia a quantidade e a qualidade das células sanguíneas, normalmente é requerido para diagnosticar ou controlar a evolução de uma doença. O hemograma completo é constituído por contagem de plaquetas, leucograma e eritograma (SARAIVA, 2009).

O hemograma 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 (FARIAS, 2004)

Tabela 1. Valores de referencia normais para o Hemograma.

Valores normais para eritrócitos, hemoglobina, hematócrito			
Tipo de indivíduo	Eritrócitos (x 10⁶/mm³)	Hemoglobina (g/100mL)	Hematócrito (%)
Recém-nascidos (a termo)	4 - 5,6	13,5 – 19,6	44 – 62
Crianças (3 meses)	4,5 - 4,7	9,5 - 12,5	32 – 44
Crianças (1 ano)	4,0 - 4,7	11,0 – 13	36 – 44

Crianças (10 a 12 anos)	4,5 - 4,7	11,5 – 14,8	37 – 44
Mulheres (gestantes)	3,9 - 5,6	11,5 – 16,0	34 – 47
Mulheres	4,0 - 5,6	12 - 16,5	35 – 47
Homens	4,5 - 6,5	13,5 – 18	40 – 54

Fonte: (FARIAS, 2004 p. 03)

2.6.1.2 Mielograma

O Mielograma exame que analisa e quantifica os componentes da medula óssea é realizado através de uma punção feita no esterno, ossos do quadril e na tíbia quando o paciente é criança, consiste na punção e aspiração da medula óssea a fim de diagnosticar alterações nos componentes da medula óssea (REGO, 2009).

2.6.1.3 Morfológico

A classificação morfológica foi desenvolvida nos anos 70, para as leucemias agudas pelo FAB (BENNETT et al., 1985). O grupo dividiu a LLA em três subtipos morfológicos (L1, L2 e L3), sendo o L1 os linfoblastos (tipo mais comum em crianças), L2 os blastos (10% dos casos) e por último o subtipo L3, blastos mais raros compreendendo de 1 a 2% das LLA (PELISSARI, 2009).

Em relação à morfologia o grupo French American British, classificou as LLA's em três subtipos morfológicos, com base no diâmetro das células, protuberância dos nucléolos e quantidade de citoplasma (LEE, 2004).

Tabela 2. Classificação morfológica (FAB) da leucemia linfóide aguda

Aspecto morfológico	L1	L2	L3
Diâmetro celular	Predominância de células pequenas homogêneas	Grandes heterogêneas	Grandes homogêneas
Cromatina nuclear	Fina ou aglomerada	Fina	Fina

Forma do núcleo	Regular, pode apresentar fenda ou indentação	Irregular, podendo apresentar fenda ou indentação	Regular, redondo ou oval
Nucléolos célula	Indistintos ou não-visíveis	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes
Quantidade de citoplasma	Escassa	Moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligeira	Ligeira	Evidente
Vacúolos citoplasmáticos	Variáveis	Variáveis	Evidente

L1=Leucemia linfóide aguda tipo L1; L2= leucemia linfóide aguda tipo L2; L3=leucemia linfóide aguda tipo L3

Fonte: (FARIAS, 2004 p.92)

2.6.1.4 Citoquímica

As reações auxiliam na detecção da diferenciação entre LLA e LLM. Os linfoblastos T revelam atividade para nuclear inespecífica o que sugere o diagnóstico de LLA já que frequentemente as alterações causadas por esta patologia são: coloração alterada e forma de anéis concêntricos e de granulações grosseiras ou blocos maciços. Uma reação negativa diante da aplicação citoquímica é mais freqüente na leucemia de linhagem T que na linhagem B (FARIAS, 2004).

Tradicionalmente, as leucemias agudas têm sido diagnosticadas pela análise morfológica das células do sangue periférico e da medula óssea, suplementada com algumas reações citoquímicas, principalmente Sudan-Black B (SBB) e mieloperoxidase (MPO) para se identificar as variantes granulocíticas e esterase não-específica para diferenciação monocítica (LORENZI, 2003).

2.6.1.5 Citogenética

A análise cromossômica (cariótipo) das doenças hematológicas é de extrema relevância para que seja feito um diagnóstico mais refinado da malignidade das LLA's e do mecanismo de ação da patologia assim como a importância biológica (NAOUM, 2001). A combinação de citogenética com outros métodos moleculares

tem como principal objetivo identificar anomalias cromossômicas em aproximadamente 80% dos casos de leucemia aguda em crianças (PELISSARI, 2009).

Tabela 3. Anormalidades estruturais nos cromossomos acometidos na LLA.

Anormalidade cromossômica	Genes envolvidos	Proteína	Função	Imunofenótipo	FAB
t(9;22)(q34;q11)	BCR/ABL	p190,p210,p230	Atividade tirosinaquinase ciclina-dependente	LLA pré-B	L1/L2
t(4;11)(q21;q23)	AF4/MLL	Fusão de proteínas MLL com conservação da sequência 5-N-terminal incluindo AT-Hooxe DNA metiltransferase	Regulação da transcrição	LLA pré-B e expressão simultânea de marcadores mielóides	L1/L2
t(1;19)(q23;p13)	E2A/PBX1	Fusão de proteínas com preservação do domínio de ativação E2A	Fator de transcrição	LLA pré-B	L1/L2
t(12;21)(p12;q22)	TEL/AML1	Tirosinaquinas e	Regulação da transcrição e fosforilação	LLA pré-B	L1/L2
t(8;14)(q24;q32)	MYC/IgH	Proteína HLH	Fator de transcrição	LLA B	L3
t(1;14)(p32;q11)	TCR/TAL1		Fator de transcrição	LLA T	
Del 9p(21-22)	p16 ^{INK4A} /p15 ^{INK4B}	p16 e p15	Inibidor quinase-dependente	LLA B ou T	L1/L2

Fonte: (FARIAS, 2004 p.95)

2.6.1.6 Citometria de fluxo

A citometria de fluxo é uma técnica que permite a análise multiparamétrica das células sanguíneas, individualmente. Esta técnica, introduzida na metade do século XX, era utilizada apenas na contagem de células e na análise do tamanho celular. Posteriormente, Fulwyler (1965) idealizou o primeiro aparelho que visava à seleção de células específicas (cell sorter). Esses instrumentos foram aperfeiçoados na década de 1970, com a combinação de sondas fluorescentes e a separação de células específicas. Iniciava-se então a era da separação de células ativadas por fluorescência (fluorescence activated cell sorting – FACS), a princípio restrita à área de pesquisa. Nas últimas duas décadas, a análise celular tornou-se o principal objetivo da citometria de fluxo, sendo hoje uma técnica de uso rotineiro, tanto em pesquisa quanto na área clínica (LORENZI, 2003).

A CMF tem se desenvolvido rapidamente nos últimos anos e suas aplicações são amplas, tanto em laboratórios de pesquisa quanto nos laboratórios clínicos. A técnica oferece objetividade, sensibilidade, rapidez e precisão na análise das características celulares, incluindo o conteúdo de DNA/RNA, a detecção e quantificação de antígenos celulares, a análise de resistência celular a drogas e a análise de conteúdo citoplasmático (QUIXABEIRA, 2008).

A CMF avalia as propriedades celulares, na medida em que as células se movem em uma solução isoeletrolítica, através de um conjunto de detectores de fluorescência. Foi definida por Mendelsohn em 1979, como sendo o movimento de uma suspensão celular, que atravessa um canal de fluxo, uma a uma, promovendo o desvio da luz incidente que é medido por um detector (QUIXABEIRA, 2008),

Em 1975, Köhler e Milstein publicaram um estudo clássico sobre a produção de anticorpos monoclonais (AcMo), com alta especificidade para determinantes antigênicos encontrados nas células. A utilização de AcMo conduziu à categorização de inúmeras moléculas encontradas na superfície celular, intracitoplasmáticas ou nucleares. Esta identificação contribuiu de modo marcante para o entendimento das alterações fisiológicas que ocorrem durante a diferenciação e maturação dos componentes normais do sistema hematopético, assim como daquelas que ocorrem

durante o desenvolvimento de processos patológicos, malignos ou não. Esse avanço tecnológico foi determinante na evolução da citometria de fluxo para o estágio atual (LORENZI, 2003).

A necessidade da imunofenotipagem em subpopulações linfocitárias após o aparecimento da epidemia causada pelo vírus da imunodeficiência adquirida (HIV) foi fundamental para o avanço da citometria de fluxo (LORENZI, 2003).

A citometria de fluxo permite descrever as populações celulares, orientando o médico nas suas decisões terapêuticas. Isto se deve principalmente ao fato de essa técnica fornecer informações rápidas, sensíveis e quantitativas de componentes celulares que possam ser marcados, de modo específico, com AcMo e substâncias fluorescentes (LORENZI, 2003).

Com a citometria de fluxo, pode-se ainda investigar o conteúdo do DNA e do RNA celular e obter-se medidas da função celular. Por exemplo, em uma mesma suspensão celular é possível determinar a expressão de antígenos de membrana, de proteínas citoplasmáticas ou nucleares e quantificar o DNA nuclear (LORENZI, 2003).

Desde sua introdução, a citometria de fluxo é um instrumento de auxílio diagnóstico imprescindível, porém o uso adequado dessa técnica complexa, somado à disponibilidade de um crescente número de reagentes, requer pessoal especializado na realização e interpretação dos resultados obtidos (LORENZI, 2003).

2.6.1.7 Citômetro de fluxo

O citômetro de fluxo permite a obtenção simultânea de várias informações celulares em uma amostra. Estas incluem as propriedades intrínsecas ou físicas das células, tais como tamanho celular e sua complexidade interna (granulosidade e configuração nuclear), e as propriedades relacionadas com a detecção de um ou mais antígenos, que podem estar dentro da célula (antígenos citoplasmáticos e nucleares) ou na sua superfície. Portanto, esta tecnologia possibilita a aquisição e a análise simultânea de várias informações que correspondem a compartimentos celulares distintos (LORENZI, 2003).

Os citômetros de fluxos são constituídos de quatro sistemas principais: (1) fluido – permite a introdução das células a serem estudadas em fila única circundadas por uma solução salina isotônica; (2) óptico – capaz de gerar e coletar os sinais de luz; (3) eletrônico – converte os sinais ópticos em eletrônicos; (4) microcomputador. Assim, todos os atributos celulares são medidos por um sistema óptico, e o sinal de luz gerado é registrado em um sistema eletrônico. O sistema de computador acoplado, por sua vez, é responsável pela aquisição, armazenamento e análise dos dados obtidos (LORENZI, 2003).

Atualmente os citômetros de fluxo utilizam um *laser* como fonte monocromática de luz, o que permite a emissão de picos de comprimento de ondas específicos que proporcionam baixa divergência e alta fluorescência dos sinais emitidos. Devido a esta característica, os fluorocromos ou corantes utilizados para identificar as células necessitam ser compatíveis com o *laser* do citômetro (LORENZI, 2003).

O sistema de computador acoplado ao citômetro, além de controlar todas as operações instrumentais, possibilita o armazenamento, a apresentação e análise dos dados coletados, utilizando programas (softwares) especiais. Na análise dos dados cabe destacar o papel da janela eletrônica (*gate*). Esta janela, criada em um grupo de células com características semelhantes, permite o isolamento e análise desse grupo de células. Considerando-se o tamanho celular, a granulosidade citoplasmática, são discriminados três grupos distintos de células em amostras de sangue periférico: os linfócitos, os monócitos e os granulócitos (LORENZI, 2003).

2.6.1.8 Imunofenotipagem

A classificação por imunofenotipagem utiliza um painel de associações lineares monoclonais pelo qual a maioria dos casos de LLA podem ser subdivididos em precursores de célula B e subgrupo de precursores de célula T (WEINSTEIN e TARBELL, 2001). Os precursores de célula B são ainda subdivididos em pré-B, prematuros pré-B, e as células T de acordo com os níveis de diferenciação das células (PELISSARI, 2009).

Considerando a classificação pela técnica de imunofenotipagem, as leucemias são divididas pela positividade de marcadores específicos, podendo ser classificadas em pré-B, B e T. Além disso, os blastos linfóides são caracterizados por marcadores de membrana como CD7, CD10, CD19 e CD20 e por marcadores citoplasmáticos com TdT. A análise citogenética permite observar alterações pelo número cromossomal, translocações, inversões e deleções (COUTO, 2010)

A imunofenotipagem das doenças malignas do sistema hematopoético fundamenta-se na investigação da presença ou ausência de antígenos encontrados na superfície ou no citoplasma celular. Cabe ressaltar que o diagnóstico de uma doença maligna hematopoética não se baseia em um único marcador específico, mas essa análise deve ser realizada utilizando-se um painel de AcMo adequadamente selecionado para a determinação das linhagens celulares B, T, NK e de células mielomonocíticas. Ainda, a imunofenotipagem visa a determinar o grau de diferenciação celular (imatura ou madura), a expressão antigênica aberrante nas populações celulares malignas e a presença ou não de clonalidade (apenas na células da linhagem linfóide B) (LORENZI, 2003).

A técnica da imunofenotipagem possibilita a classificação das LLA's fazendo a análise das características imunofenotípicas dos linfoblastos, além da detecção da leucemia através deste método é possível classificar o grau de diferenciação das células leucêmicas possibilitando um diagnóstico com maior especificidade (TERCI, 2003).

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 (QUIXABEIRA, 2008).

Tabela 4. Perfil Imunofenotípico das Leucemias Linfóides

Marcador	pró-B	Comum	Pré-B	B	Pré-T	Intermediário	T
HLA-DR	+	+	+	+		-	-
TdT	+	+	+		+	+	+
CD19	+	+	+	+	-	-	-
CD22(C)	-	+	+	+	-	-	-
CD10	-	+	+				

CD20	-	/+	+	+	-	-	-
CU		-	+	-	-	-	-
SMIG	-	-	-	+	-	-	-
CD7	-	-		-	+	+	+
CD2	-	-	-	-	-	+	+
CD3©	-	-	-	-		+	+
CD1a	-	-	-	-	-		-
CD3	-	-	-	-	-	-	+
CD4/CD8	-	-	-	-	-		+

TDT=Terminal desoxinucleotidil transferase ;CD22(C) =CD22 intracitoplasmático;CU= cadeia u. Citoplasmática, SMLG= imunoglobina de superfície +;expressão do antígeno; +/- expressão variável, frequentemente positiva; ausência de expressão do antígeno; -/+ expressão variável frequentemente negativo.

Fonte: (FARIAS, 2004 p.94)

Com o advento da imunofenotipagem, foi possível obter uma distinção clara entre as leucemias linfoblásticas agudas (LLA) e as leucemias mielóides agudas (LMA) (LORENZI, 2003).

Hoje é consenso que as LLA só podem ser adequadamente definidas como da linhagem T ou B por meio desta técnica (LORENZI, 2003).

2.6.1.9 Hibridação *in situ* por fluorescência (Fish)

A Hibridação *in situ* por fluorescência (FISH) é um método citogenéticomolecular , contempla as mutações de maior importância nas leucemias agudas. A técnica possibilita a investigação de diversas alterações genéticas numa única reação por meio de uma plataforma abrangente de sondas (Fleury.com.br).

A detecção de anormalidades por FISH e a ampliação do painel de marcadores imunofenotípicos melhoram a estratificação prognóstica e ajudam a identificar a doença residual pós-tratamento (Fleury.com.br)

2.6.2 Especificidade e sensibilidade dos testes diagnósticos

A sensibilidade clínica é classificada como a capacidade do teste identificar indivíduos portadores de agentes infectocontagiosos, sendo sua sensibilidade alta à medida que o número de exames com resultados falso-negativos seja sempre em

quantidades não significativas em relação à quantidade de testes produzidos pelo kit, excepcionalmente testes altamente sensíveis não vai reagir com amostras de indivíduos portadores de doença e/ou infecção. Assegurando as duas características inerentes ao teste, que são sensibilidade e especificidade, os outros parâmetros deverão ser analisados como a reprodutibilidade, objetividade de interpretação dos resultados, capacidade de automação, rapidez na execução do ensaio, dentre os quais, o custo também deve ser considerado (LIMA, 2011).

A especificidade pela eficácia de um teste identificar os indivíduos que não são portadores de uma doença, obtendo-se melhores resultados dessa especificidade, quanto maior for a capacidade, menor são as probabilidades de produzir resultados falso-positivos. O diagnóstico feito por testes apresentam eficácia relevante, porém, é de extrema importância a realização dos testes confirmatórios, o ideal seria a existência de testes 100% específicos e sensíveis, por este motivo é importante que haja associação entre uma triagem correta e a aplicação dos testes já que um teste falso-negativo certamente acarreta em danos para o receptor do sangue, decorrente da preocupação em assegurar a hígidez do sangue que será transfusionado, é essencial que os testes de fato assegurem a eficácia em detectar agentes virais, o NAT tem este perfil além de ser mais específico e sensível, diminui a janela de tempo enquanto o teste é realizado, podendo fazer a detecção com maior precisão (GARCIA, 2008).

Apesar da sensibilidade e a especificidade serem características fixas de um teste, podem ocorrer algumas variações nos resultados decorrentes da falta de preparo dos profissionais da área no momento da aplicação do teste. Assim, cada teste deve ter seu controle de qualidade, para se ter um melhor desempenho dos reagentes, e técnicas para que possamos ter um melhor diagnóstico sorológico. Promover a capacitação de profissionais da área, potencializar diminuição dos riscos de contaminação e/ou falso-negativo (BORDIN, 2007).

2.6.3 Avanços no diagnóstico

Durante as últimas três décadas ocorreu importante desenvolvimento no diagnóstico das doenças malignas do sistema hematopoiético devido principalmente

a progressos no campo da imunologia, citogenética e biologia molecular. Esses avanços permitiram o aprimoramento na classificação dessas patologias, um melhor acompanhamento clínico e a identificação de fatores prognósticos relativos a essas doenças (LORENZI, 2003).

A CMF tem se desenvolvido rapidamente nos últimos anos e suas aplicações são amplas, tanto em laboratórios de pesquisa quanto nos laboratórios clínicos. A técnica oferece objetividade, sensibilidade, rapidez e precisão na análise das características celulares, incluindo o conteúdo de DNA/RNA, a detecção e quantificação de antígenos celulares, a análise de resistência celular a drogas e a análise de conteúdo citoplasmático (QUIXABEIRA, 2008).

Os avanços da genética molecular e da citogenética aumentaram significativamente a capacidade de diagnóstico das alterações neoplásicas em células hematopoiéticas, possibilitando, em muitos casos o esclarecimento dos mecanismos responsáveis pela etiologia e patogênese destas neoplasias (QUIXABEIRA, 2008).

Assim, o desenvolvimento dessas técnicas tem permitido muitos avanços, os quais têm levado à descoberta de novos genes e anormalidades. Esses genes implicados na leucemogênese incluem oncogênese, genes supressores de tumor, genes que atuam como fatores reguladores da transcrição, genes que são envolvidos na regulação da apoptose e diferenciação celular. O estudo desses genes aumenta o entendimento na trajetória crucial da transformação leucêmica (18), contribuindo, assim, para a melhoria do diagnóstico e do entendimento na biologia molecular da LLA (FARIAS, 2004).

Os avanços tecnológicos direcionados a identificação imunohematológica de células, antígenos de membrana de leucócitos e de células precursoras hematopoiéticas, promovem um diagnóstico laboratorial de diversas doenças que acometem o sangue e seus hemoderivados principalmente a LLA (NAOUM, 2001).

A disponibilidade de um grande número de AcMo com especificidade para linfócitos B, T e células NK e a possibilidade de se estudar as células por citometria de fluxo, imunocitoquímica e imuno-histoquímica, permitindo uma melhor

caracterização celular, têm contribuído de modo significativo para o diagnóstico e classificação dessa patologia (LORENZI, 2003).

A chance de cura na LLA tem aumentado e aproxima-se de 80%, sendo este avanço decorrente da melhora no diagnóstico, identificação de fatores prognósticos e utilização de tratamentos adaptados ao grupo de risco de cada paciente (LEITE, 2007).

A melhoria nas técnicas de estudo proporciona agora a oportunidade de obter informações biológicas clinicamente relevantes que poderão explicar as respostas aparentemente anômalas ao tratamento. Anormalidades cromossômicas específicas, tais como as translocações recíprocas, foram atribuídas ao êxito da quimioterapia combinada para a leucemia infantil, possibilitando o planejamento de tratamento individualizado, tomando como base a citogenética característica dos blastos malignos de um paciente (13,9,54) (SARAIVA, 2009)

Alguns dos elementos de maior impacto para se alcançarem maiores taxas de curas são: educação da comunidade médica para o diagnóstico precoce do câncer, melhor caracterização biológica da leucemia por meio da imunofenotipagem e da citogenética clássica e molecular, rigor dos protocolos quimioterápicos, avaliação precoce e sistemática da resposta à quimioterapia e tratamento de suporte adequado (SEBER, 2010).

O crescente desenvolvimento da genética molecular e da biotecnologia permitiu o conhecimento da estrutura, composição e função do DNA e RNA, o que tornou possível o esclarecimento da patogenia de inúmeras doenças. Seus avanços são notáveis e alguns deles marcantes e decisivos para o futuro (JUNQUEIRA, 2005).

A renovação dos equipamentos é constante e crescente. Acredita-se que o crescimento de novos equipamentos de alta tecnologia seja da ordem de 30% ao ano (JUNQUEIRA, 2005).

O diagnóstico precoce e sem equívocos da LLA implica em maiores chances de cura, diminuição das sequelas causadas pela doença e garante maior sobrevida ao paciente (SARAIVA, 2009).

A LLA evoluiu de uma neoplasia mal definida e intratável na metade do século passado para uma doença bem relatada na literatura e com resultados relevantes de cura no início deste século (COUTO, 2010)

Mesmo com os avanços atingidos nos esquemas de tratamento e nas medidas de suporte, a expectativa de sobrevida livre de doença ainda varia entre 35% a 60% (MORANDO, 2010).

CONCLUSÃO

Os métodos de diagnóstico laboratorial das LLA's são revisados e atualizados periodicamente para que o diagnóstico precoce faça parte da realidade de todos os pacientes com suspeita de patologias oncológicas.

Como a causa da LLA é desconhecida, o tratamento tem por objetivo destruir as células leucêmicas para que a medula óssea possa voltar a produzir células normais e com qualidade. Entretanto é necessário que haja uma avaliação criteriosa do quadro clínico do paciente para que o tratamento administrado seja o mais eficaz.

A LLA na maioria das vezes é diagnosticada em pacientes pediátricos, por este motivo é necessário que se ofereça suporte psicológico à família e psicopedagógico à criança, pois a sua rotina de atividades de vida diárias são interrompidas abruptamente diante do diagnóstico de LLA e início do tratamento.

Apesar dos avanços alcançados em muitos países no que diz respeito à qualidade do diagnóstico e ao registro de óbitos, ainda há informações imprecisas o que influencia significativamente as taxas de incidência e de mortalidade.

O Brasil busca o aperfeiçoamento da hematologia para que ela seja utilizada como modelo em outros países, uma das principais metas é baratear o custo do kit, fabricando-o com produtos nacionais. É importante que buscar alternativas para tornar economicamente viável a aplicação do teste, pois a segurança da transfusão sanguínea deve ser tratada como prioridade e sua importância esta acima de questões governamentais e econômicas.

Portanto, é inquestionável a relevância e necessidade da utilização de exames que apresentem o maior grau de sensibilidade e especificidade para diagnóstico a fim de ocorrer à intervenção precoce no tratamento da LLA proporcionando ao individuo maior qualidade de vida.

Em consequência dos desdobramentos e avanços dos profissionais da biologia molecular, o embasamento científico em relação aos testes de diagnóstico de leucemias estão em constante processo de modernização tecnológica, proporcionando um leque amplificado de técnicas diagnósticas aos profissionais da

oncologia tais como: transcriptoma, metaboloma, proteômica, genômica, bioinformática e nanotecnologia.

A modernização da biologia molecular, bioquímica e até o setor de informática permitem uma análise mais fidedigna do genoma humano, possibilitando o diagnóstico de patologias tumorais, pois os seus genes são rapidamente detectados.

Atualmente muito se fala em medicina genômica que nada mais é um ramo da genética que estuda a origem e a ação do material genético contido juntamente com os cromossomos de cada espécie. Esta técnica facilita a detecção precoce de mutações genéticas em humanos, as quais são causa de inúmeros tipos de patologia.

Diante dos fatores supracitados percebe-se que apesar do exame mielograma confirmar o diagnóstico de LLA, é necessário que se faça um refinamento do material genético colhido do paciente a fim de se aplicar o tratamento correto.

O progresso terapêutico associado aos avanços no diagnóstico das leucemias, vem resultando em um aumento na sobrevida, e uma redução nas taxas de mortalidade, evidenciando melhorias nos serviços de diagnóstico e tratamento de portadores de leucemia linfocítica aguda.

Espera-se que surjam novas formas de diagnóstico e tratamento menos agressivos, menos invasivos e mais eficazes para a cura da Leucemia Linfocítica Aguda, que ataca de forma mais severa o adulto.

REFERÊNCIAS

ALMEIDA, T. J. B. **Avanços e perspectivas para o diagnóstico da leucemia linfóide aguda**. UNIJORGE- Centro Universitário Jorge amado. Candombá. Revista Virtual, volume 05, nº01, 2009.

AMARAL, T. C. L. **Mortalidade Hospitalar na Rede SUS: Espelho dos óbitos ocorridos na população Brasileira?** Dissertação de Mestrado apresentada para obtenção do título de mestre em Administração de Saúde. Instituto de Medicina Social. Universidade Federal do rio de Janeiro, 2002

BORDIN, J. O; JÚNIOR, L. M. D; DIMASS. C. T.. **Hemoterapia Fundamentos e Práticas**, São Paulo, ed. Atheneu, 2007.

BARRETO, J. H.; MENDONÇA, N. **Diagnóstico precoce do câncer na criança e no adolescente**. Clínica ONCO um recurso da vida, Salvador- Bahia, 2001.

BENETTI, D. R. S.; LENARDT, h. M.. **SIGNIFICADO ATRIBUÍDO AO SANGUE PELOS DOADORES E RECEPTORES**. Artigo extraído da Dissertação de Mestrado em enfermagem do Curso de Pós Graduação em enfermagem da Universidade Federal do Paraná (UFPR): "Vida e medo: significado atribuído ao sangue pelos doadores e receptores". Florianópolis, 2006, p. 43-50.

BBC. **Biologia do HIV - Estágios Iniciais**. Disponível em:< http://www.bbc.co.uk/portuguese/especial/1357_biologia_aids/page4.shtml >, Acessado em: 21/10/2011.

BARBOSA, H. M.; MENDES, A. M.; AMARAL, B. J.; MATTIA, L. A.. **Ocorrência de infecção de sitio cirúrgico de um hospital universitário de Minas Gerais**. Revista Mineira de Enfermagem, p. 423-427, 2009.

CAIRUTAS, C. M.. **O que corre em nossas veias**. Fragmento de sua História. EBGE, 2001.

CAMPOS, L.M.A. *et al.* **Comprometimento musculoesquelético como primeira manifestação de neoplasias**. Revista da Associação Médica Brasileira, vol 54, n.2, 2008

CHAUFFAILLE, L. F.; **LLA em portadores de Síndrome de Down e TEL/AML1(ETV6/RUNX1)**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, volume 31, nº 05, 2009.

COUTINHO, B. B.; TRINDADE, A. A.. **As representações sociais de saúde no tratamento da leucemia e linfoma**. Periódicos de Psicologia, volume 07, nº01, 2006.

COSTA, F. R.; SANTOS, A. L. C.; LARRAZÁBAL, B. R.; SILVA, G. A.; BRITO, A. E.; NEVES, M. A. B.; MACHADO, C. G. F. **Identificação de antígenos aberrantes na leucemia linfóide aguda: frequência e perfil do hemograma.** NewsLab, edição 104, 2011.

FAILACE, R. **Hemograma: manual de interpretação**, Ed. Artemed, Porto Alegre, 2003.

FARIAS, M. G.; CASTRO, S. M. **Diagnóstico Laboratorial das leucemias linfóides agudas.** Jornal Brasileiro de Patologia Médica e Laboratorial, volume, 40, nº02, Rio de Janeiro, Brasil, 2004.

INCA, Instituto Nacional de Câncer. **Leucemia Aguda.** Ministério da saúde, 2008.

JORGE, F. M. G.; Hematogônias: **distinção com blastos da leucemia linfóide aguda de células B por citometria de fluxo.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia., São José do Rio Preto, volume 28, n. 4, Dec. 2006

JUNQUEIRA, P. C.; ROSENBLIT, J.; HAMERSCHLAK, N. **História da Hemoterapia no Brasil.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, volume 27, n. 3, 2005.

LAMEGO, R.M.; **Transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas em leucemias agudas: a experiência de dez anos do Hospital das Clínicas da UFMG.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, volume 32, nº02, 2010

LEE, M. L. M.; PETRILLI, A. S. **O Tratamento da criança com câncer no Brasil: o debate da migração.** Editorial de Pediatria de São Paulo, Volume 26, nº01, 2004.

LEITE, E. P.; MUNIZ, M. T. C.; AZEVEDO, A. C. A. C.; SOUTO, F. R.; MAIA, A. C. L.; GONDIM, C. M. F.; BANDEIRA, F. M. G. C.; MELO R. A. M. **Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com leucemia linfóide aguda.** Revista Brasileira de Saúde Materno-Infantil, volume 07, nº04, Recife, 2007.

LORENZI, T.F.; D'AMICO, E.; DANIEL, M. M.; SILVEIRA, P.A.A.; BUCCHERI, V.; **Manual de Hematologia-Propedêutica e Clínica**, Ed. Medsi, São Paulo- Brasil, 2005.

MERCK, R. B. **Diagnóstico e Tratamento**, Ed. Roca, São Paulo- Brasil, 2008.

MACHADO, J. A. **Políticas públicas descentralizadas e problemas de coordenação: o caso o sistema único de saúde.** Tese de doutorado apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de doutor em ciências humanas pela faculdade de Filosofia e Ciências Humanas da Universidade Federal de Minas Gerais, 2007.

MONTEIRO, IMU. **Tratamento da leucemia linfóide aguda em meninas: repercussões sobre o desenvolvimento puberal e o crescimento.** Dissertação de Mestrado. Unicamp, 1994.

MONTEIRO, I.M.U. **Tratamento de leucemia linfóide aguda e crescimento.** Revista da Associação Médica Brasileira., São Paulo, v. 44, n. 2, jun. 1998.

MORANDO, J. **Transplante de células-tronco hematopoéticas em crianças e adolescentes com leucemia aguda: experiência de duas instituições Brasileiras.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, São Paulo, volume 32, nº. 05, 2010

NAOUM, P. C. **Avanços tecnológicos em hematologia laboratorial.** Revista Brasileira de Hemoterapia, volume 23, nº 02, 2001.

NÓBREGA, A. K. **Vigilância Sanitária em Serviços de Hemoterapia: Avaliação e Controle de Risco de Infecções Virais de HIV/HBV/HCV Transmissíveis por Transfusão.** Dissertação (Mestrado Profissionalizante). Instituto de Saúde Coletiva - Programa de Pós-Graduação em Saúde Coletiva da Universidade Federal da Bahia, 2009.

PEDROSA, Francisco; LINS, Mecneide. **Leucemia linfóide aguda: uma doença curável.** Revista Brasileira de Saúde Materno Infantil., Recife, volume 2, , Nº01, 2002 .

PELLISSARI, D. M. **Campos eletromagnéticos e leucemia linfocítica aguda em crianças residentes na Região Metropolitana de São Paulo.** Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde Pública, São Paulo, 2009.

QUIXABEIRA, V. B. L.; SADDI, V. A.. **A importância da imunofenotipagem e da citogenética no diagnóstico das leucemias: uma revisão da literatura.** RBAC, volume 40, Nº03, 2008.

REGO, E. M.; SANTOS, G. A. S.. **Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 2009.

ROCHA, H. H. A. G.; SANTOS, I. B.; COELHO, R. C. A.; SILVA, E. M.. **Leucemia Linfóide Aguda (LLA)- comparação entre Esquema Clássico e BFM.** Revista Instituto de Estudos de Hematologia, volume 11, nº 2, 1994.

SARAIVA, P. C. J.. **A HISTÓRIA DA HEMOTERAPIA NO BRASIL.** Revista Brasileira de Hematologia, p. 153-158, 2005.

SARAIVA, F. V.; PALMA, M.C.. **Leucemia Linfoblástica Aguda.** Instituto Nacional de Câncer- INCA, 2009.

SCHAFFEL, R. **Leucemia Linfoblástica Aguda Filadélfia positiva.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia; volume 30, nº 01, 2008

SEBER, A.. **Transplante de células-tronco hematopoéticas em crianças e adolescentes com leucemias agudas.** Revista Brasileira Hematologia e Hemoterapia., São Paulo, volume 32, nº 05, 2010

SILVA, N. F. K.; SHEILA, S.; IWAMOTO, H. H..**A prática transfusional e a formação dos profissionais de saúde.** Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, 2009.

SILVA, P. L. B..**Serviços de Saúde: o dilema do SUS na nova década.** São Paulo em Perspectiva, volume 17, nº 01,são Paulo-SP, 2003.

TERCI, V. E.. **Estudo dos genes de resistência a drogas MDR-1 e LRP em crianças portadoras de leucemia linfoblástica aguda através da reação em cadeia da polimerase da transição reversa (RT_PCR).** Departamento de Patologia. Universidade da Carolina do Norte, Estados Unidos, 2003.

TRAVASSOS, C..**Eqüidade e o Sistema Único de Saúde: uma contribuição para debate.** Caderno de Saúde Pública, volume 13, nº 02, Rio de Janeiro-RJ, 1997.

VERTCHENKO, S. B. **Doação de sangue: aspectos socioeconômicos, demográficos e culturais na região metropolitana de Belo Horizonte.** Belo Horizonte – MG, 2005.