



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

**TRABALHO FINAL DO 6º ANO MÉDICO COM VISTA À ATRIBUIÇÃO DO
GRAU DE MESTRE NO ÂMBITO DO CICLO DE ESTUDOS DE MESTRADO
INTEGRADO EM MEDICINA**

JOANA VANESSA SOARES SILVA

***CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR E CLÍNICA DAS
LEUCEMIAS LINFOBLÁSTICAS AGUDAS B
– IMPLICAÇÕES NO DIAGNÓSTICO E
TERAPÊUTICA***

ARTIGO REVISÃO

ÁREA CIENTÍFICA DE HEMATOLOGIA

**TRABALHO REALIZADO SOB A ORIENTAÇÃO DE:
PROFESSORA DOUTORA ANA BELA SARMENTO RIBEIRO
MESTRE EMÍLIA NOBRE CORTESÃO**

MARÇO 2013

“ A sabedoria não nos é dada. É preciso descobri-la por nós mesmos,
depois de uma viagem que ninguém nos pode poupar ou fazer por nós.”

Marcel Proust

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, quero agradecer à minha orientadora Professora Doutora Ana Bela Sarmiento Ribeiro e à minha co-orientadora Mestre Emília Cortesão, por todo o apoio, orientação e bem como pela total disponibilidade.

À minha família, em especial aos meus pais , irmã, sobrinha e cunhado por toda a força, incentivo e apoio, bem como pelo esforço que fizeram para me proporcionar esta oportunidade e por acreditarem sempre em mim.

O meu agradecimento especial ao Mário pelo grande apoio, compreensão, estímulo e carinho que teve no decorrer da realização desta dissertação.

A todos os meus amigos que me ajudaram ao longo deste trabalho e a todos que de alguma forma o tornaram possível.

ÍNDICE

I - Lista de abreviaturas	viii
II - Resumo.....	xi
III - Abstract.....	xiii
1. Introdução.....	- 1 -
2. Incidência e epidemiologia.....	- 3 -
3. Classificação.....	- 5 -
4. Etiologia e patogênese.....	- 7 -
4.1 Leucemogênese	- 8 -
4.2 O papel do microambiente.....	- 10 -
4.3 Origem pré-natal das translocações	- 12 -
4.4 Alterações moleculares.....	- 16 -
4.5 Alterações epigenéticas	- 26 -
4.6 O papel dos microARN	- 29 -
5. Apresentação clínica	- 31 -
6. Diagnóstico.....	- 34 -
6.1 Morfologia.....	- 35 -
6.2 Citoquímica	- 37 -
6.3 Imunofenotipagem.....	- 37 -
7. Diagnóstico diferencial	- 39 -
7.1 Proliferações benignas	- 39 -

7.2 Neoplasias hematológicas.....	- 40 -
7.3 Neoplasias não hematológicas.....	- 41 -
8. Factores de prognóstico.....	- 42 -
9. Tratamento	- 48 -
9.1 Tratamento de suporte	- 50 -
9.2 Tratamento da LLA na infância.....	- 50 -
9.2.1 Indução.....	- 51 -
9.2.2 Intensificação/Consolidação	- 52 -
9.2.3 Tratamento dirigido ao SNC.....	- 52 -
9.2.4 Manutenção.....	- 53 -
9.3 Tratamento da LLA no adulto	- 54 -
9.3.1 Indução.....	- 54 -
9.3.2 Consolidação.....	- 56 -
9.3.3 Tratamento dirigido ao SNC.....	- 56 -
9.3.4 Manutenção.....	- 58 -
9.4 Tratamento do idoso	- 58 -
9.5 Tratamento na LLA-Ph+	- 59 -
9.6 Transplante de células estaminais.....	- 60 -
9.7 Tratamento das recidivas	- 61 -
9.8 Novos agentes terapêuticos	- 62 -
10. Efeitos secundários da terapêutica	- 63 -
11. Conclusão.....	- 66 -

I - LISTA DE ABREVIATURAS

ABL – *Ableson leukemia virus*

ADN – Ácido desoxirribonucleico

ARN – Ácido ribonucleico

BAD - *Bcl-2-associated death promoter*

b-FGF – Factor de crescimento de fibroblastos básico

BCR – *Breakpoint cluster region*

BFM – *Berlin-Frankfurt-Muenster*

BIM – *BCL-2 interacting mediator of cell death*

BiTEs – *bi-specific T-cell engagers*

CID – Coagulação intravascular disseminada

CD – *Cluster differentiation*

CDKI – Proteína inibidora das cinases dependentes de ciclina

CMV – Citomegalovírus

CpG – Dinucleótido citosina-guanina

CXCR4 – *CXC chemokine receptor 4*

CXCL12 – *CXC chemokine ligand 12*

DRM – Doença residual mínima

FAB – *French-American-British*

FAK – *Focal Adhesion Kinase*

FISH – *Fluorescence in situ hybridization*

G-CSF – *Granulocyte Colony-Stimulating Factor*

HAT – Histona acetiltransferase

HDAC – Desacetilase das histonas

HLA-DR – *Human Leukocyte Antigen-DR*

iAMP21 – Amplificação intracromossômica no cromossoma 21

IGH – *Immunoglobulin Heavy Chain*

IL – Interleucina

ITK – Inibidores da tirosina cinase

LA – Leucemia Aguda

LCR – Líquido cefalorraquidiano

LDH – Desidrogenase do lactato

LFA-1 – *Lymphocyte Function-Associated Antigen 1*

LLA-B – Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B

LLA-T – Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem T

LMA – Leucemia Mieloblástica Aguda

M-BCR – *Major cluster region*

m-BCR – *Minor cluster region*

miR – micro - Ácido Ribonucléico

MMP – Metaloproteinase da matriz

MPO – Mieloperoxidase

MLL – *Mixed-lineage leukemia*

NCBP – Neoplasias de células B precursoras

OMS – Organização Mundial de Saúde

PAS – Ácido periódico de *Schiff*

PCR – *Polymerase chain reaction*

PI3K – Fosfatidilinositol-3 cinase

Ph – Cromossoma Filadélfia

RT-PCR – *Transcriptase Reverse polymerase chain reaction*

SFKs – Cinases da família SRC

SNC – Sistema Nervoso Central

STAT – Transdutor de sinal e activador da transcrição

SLTA – Síndrome de lise tumoral aguda

t – Translocação

TRAIL – *TNF-related apoptosis-inducing ligand*

VCAM-1 – *Vascular cell adhesion molecule 1*

VEGF – Factor de crescimento endotelial vascular

VLA-4 – *Very Late Antigen 4*

II - RESUMO

As neoplasias de células B precursoras (NCBP) são doenças clonais da célula B nos vários estádios da sua maturação. São doenças muito heterogêneas, caracterizadas pela acumulação de blastos ou células hematopoiéticas imaturas na medula óssea numa percentagem superior a 20%. De acordo com a classificação da Organização Mundial de Saúde (OMS), revista em 2008, reconhecem-se dois subgrupos principais de NCBP, a Leucemia/Linfoma Linfoblástico B, sem outra especificação, e a Leucemia/Linfoma Linfoblástico B com alterações genéticas recorrentes.

A Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B (LLA-B) é a forma de leucemia mais comum na infância, representando cerca de 75% dos casos de leucemias agudas, com pico de incidência entre os 2-5 anos e, posteriormente, após os 50 anos.

Vários factores genéticos e ambientais constituem factor de risco e/ou de susceptibilidade para este tipo de leucemias.

A maioria dos casos tem início agudo, embora numa pequena percentagem possa ser insidioso, constituindo a falência da medula óssea e a infiltração de órgãos os principais efeitos, que justificam o quadro clínico.

A classificação destas neoplasias hematológicas baseia-se na morfologia dos blastos, em marcadores citoquímicos, imunofenotípicos e citogenéticos/moleculares. Além disso, a identificação de alterações genéticas recorrentes é importante para o prognóstico dos doentes com LLA-B.

A LLA é considerada uma história de sucesso da Oncologia pediátrica com melhorias significativas nas taxas de sobrevivência a longo prazo, o que não se tem verificado nos adultos.

Apesar dos protocolos terapêuticos utilizados nos adultos com LLA não oferecerem um aumento significativo da sobrevivência livre de doença, tal como se verifica na maioria

das crianças, têm-se registado, no entanto, um aumento das taxas de resposta nas últimas décadas.

Desta forma, considera-se que a LLA em adultos e crianças contrasta não só em termos de características da doença mas, também e sobretudo, no prognóstico. A análise citogenética mostra alguns desses diferentes aspectos consoante o grupo etário, que explicam parcialmente as diferenças de prognóstico observadas.

Este trabalho pretende fazer uma revisão da literatura actual relativamente à abordagem da LLA-B nas suas várias vertentes: epidemiologia, biologia, citogenética/genética, clínica, diagnóstico e tratamento, bem como analisar as características destas neoplasias em diferentes grupos etários com implicação a nível do prognóstico.

Para tal, será recolhida informação proveniente de artigos recentes publicados em revistas indexadas na área da Hematologia/Oncologia e outras referências bibliográficas actualizadas.

Palavras-chave: Leucemia linfoblástica aguda, epigenética, miARN, cromossoma Filadélfia, TEL/AML1.

III - ABSTRACT

Precursor B-Cell Neoplasms (PBCN) are clonal diseases of the B-cell in the different stages of its maturation. These diseases are largely heterogeneous, being characterized by the accumulation of blasts or immature hematopoietic cells on the bone marrow in a percentage over 20%. According to the classification of the World Health Organization (WHO), reviewed in 2008, it is recognized that there are two main subgroups of PBCN, the B- Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma, not otherwise specified, and the B- Lymphoblastic Leukemia/Lymphoma with recurrent genetic abnormalities.

B-Acute Lymphoblastic Leukemia (B-ALL) is the most common type of leukemia on childhood, representing around 75% of the cases of acute leukemia, with a peak incidence between the 2-5 years, and, later on, after the age of 50.

Several genetic and environmental factors constitute risk factors and/or susceptibility to this type of leukemia.

Most cases have an acute onset, although it can be insidious in a small percentage, being the failure of the bone marrow and the organs infiltration the main effects, justifying the clinical picture.

The classification of these hematologic neoplasms is based on the morphology of the blasts, in cytochemical, immunophenotypic and cytogenetic/molecular markers. In addition, the identification of recurrent genetic changes is important for the prognosis of patients with B-ALL.

B-ALL is considered a success in the history of Pediatric Oncology with significant improvements in long-term survival rates, which has not been observed in adults.

Although the therapeutic protocols used in adults with B-ALL haven't offered a significant increase in disease-free survival, as it is verified in most of the children, an increase in the response rates has been registered, in recent decades.

In that sense, it is considered that B-ALL in adults and children contrasts not only in terms of the characteristics of the disease but, also and above all, on the prognosis. Cytogenetic analysis shows some of those different aspects according on the age group, which partly explains the differences in prognosis that have been observed.

This paper aims to make a review of the current literature regarding the approach of B-ALL in its various aspects: epidemiology, biology, cytogenetic/genetic, clinic, diagnosis and treatment, as well as to analyze the characteristics of these neoplasms in different age groups with implication in terms of prognosis.

To do so, information from recently published articles in indexed journals, in the area of Hematology/Oncology, and from other updated bibliographic references will be collected.

Keywords: Acute lymphoblastic leukemia, epigenetic, miRNA, Philadelphia chromosome, TEL/AML1

1. INTRODUÇÃO

Apesar da primeira descrição de um caso de leucemia ter sido publicada em 1827, só em 1845 Virchow, na Alemanha, e Bennett e Craigie, na Escócia, em relatos de casos clínicos independentes, a reconheceram como uma doença das células brancas distinta das outras, “white blood disease”. Dois anos mais tarde, Virchow introduziu o termo “leucemia” para esta entidade.¹

Por volta de 1913, a leucemia passou a ser classificada como crônica, linfóide e mielóide, e aguda, linfoblástica, mieloblástica ou monoblástica, ou eritroleucemia. Em 1917, a existência e prevalência de leucemia aguda durante a infância, especialmente entre as idades de 1 e 5 anos, foi documentada.¹

A leucemia aguda (LA) é uma doença maligna caracterizada pela proliferação clonal de células precursoras da linhagem linfóide ou mielóide, linfoblastos e/ou mieloblastos, respectivamente, com a sua conseqüente acumulação na medula óssea, sendo por isso classificada em duas grandes categorias: a leucemia mieloblástica aguda (LMA) e a LLA.²

A LLA é a neoplasia mais comum na infância em todo o mundo³⁻⁵ e representa uma doença heterogênea, tanto em termos da sua patologia, como das populações em que incide.⁶

A LLA é uma doença maligna caracterizada pela proliferação clonal de células precursoras hematopoiéticas da linhagem B ou T (LLA-B e Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem T (LLA-T), respectivamente), cuja diferenciação é bloqueada num estágio precoce⁷ com conseqüente acumulação de linfoblastos na medula óssea, resultando na supressão da hematopoiese normal. Cerca de 80-85% dos casos de LLA são de células da linhagem B e 15-20% são de células da linhagem T.⁸

A forma de apresentação deste tipo de leucemias é predominantemente leucêmica, com infiltração maciça da medula óssea e sangue periférico, podendo infiltrar vários órgãos, principalmente o fígado, baço, gânglios linfáticos, timo, meninges e gônadas.⁹ Além disso,

pode limitar-se à infiltração tecidual, com ausência ou apenas envolvimento limitado da medula óssea (inferior a 20%), sendo estes últimos casos tipicamente designados como linfomas linfoblásticos.¹⁰

A patogénese destas doenças envolve a desregulação de várias vias de sinalização responsáveis pelo controlo da proliferação, diferenciação e sobrevivência celulares que são factores determinantes da resposta ao tratamento.⁶ No entanto, as LLA-B e -T são doenças heterogéneas, sendo esta heterogeneidade consequência da complexidade e diversidade das alterações genéticas e/ou epigenéticas subjacentes, mas reflectindo também a desregulação nas diferentes fases do processo de diferenciação dos progenitores hematopoiéticos.⁸

A OMS reconheceu recentemente três subgrupos principais de LLA: a Leucemia/Linfoma Linfoblástico B, sem outra especificação; a Leucemia/Linfoma Linfoblástico B com alterações genéticas recorrentes e a Leucemia/Linfoma Linfoblástico-T.³⁻⁵

Na proposta recente da *WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues (2008)*, a percentagem de blastos requerida para estabelecer o diagnóstico de leucemia linfoblástica aguda deve ser superior a 20% de blastos.⁵

2. INCIDÊNCIA E EPIDEMIOLOGIA

A LLA é a neoplasia mais frequente na infância (mais de 60% dos casos diagnosticados com LLA são crianças), representando aproximadamente 25% de todas as neoplasias na infância e cerca de 80% das leucemias nesta faixa etária.⁷ Esta percentagem é menor nos adultos, sendo mais comuns os casos de leucemias mieloblásticas agudas e de leucemias linfóides crónicas.¹⁰

A taxa de incidência anual da LLA na infância varia mundialmente entre aproximadamente 1 e 4 novos casos por 100 000 crianças com idades inferiores a 15 anos, com um pico de incidência entre os 2 e os 5 anos de idade.^{7,10} Um segundo pico de incidência ocorre depois dos 50 anos de idade.¹¹

A incidência de LLA diminui com a idade, passando de 9-10 casos/100 000 pessoas por ano durante a infância para 1-2 casos/100 000 pessoas por ano no adulto. Nos adolescentes, a incidência é de 3 casos/100 000 pessoas por ano, representando 6% de todas as neoplasias nesta idade.¹²

As diferenças observadas entre os adolescentes e os doentes de outras faixas etárias poderão estar relacionadas com factores relacionados com a biologia da doença e com o hospedeiro. Estes incluem: diferente metabolismo dos agentes de quimioterapia; diminuição da reserva medular e aumento da toxicidade extramedular. Todos estes factores aumentam a susceptibilidade a infecções, a falência orgânica, os atrasos no tratamento e a redução das doses de quimioterapia prevista. Contudo, as diferenças mais importantes estão relacionadas com as características moleculares e citogenéticas.¹²

A LLA é mais frequente entre os caucasianos, nas sociedades afluentes e em áreas urbanas, dando origem a especulações sobre a influência de factores socioeconómicos na sua etiologia.¹³ De facto, os países mais ricos têm taxas de incidência mais elevadas. Contudo, a

taxa de incidência não varia apenas entre os diferentes países, mas também segundo a etnia dentro do mesmo país.⁷

3. CLASSIFICAÇÃO

O desenvolvimento da classificação FAB (*French-American-British*) para as leucemias agudas e, subsequentemente, para outros tipos de leucemias e condições relacionadas, através da colaboração de um grupo de hematologistas franceses, americanos e britânicos, foi o maior avanço na classificação das leucemias, permitindo um diagnóstico e classificação uniformes destas doenças durante mais de três décadas.¹⁴

A classificação FAB baseava-se essencialmente na morfologia, complementada pela citoquímica e, até certo ponto, pela imunofenotipagem. Na última década a classificação FAB tem sido cada vez mais complementada ou, mesmo, substituída pela classificação da OMS.¹⁴

A classificação da OMS considera a morfologia, mas baseia-se fundamentalmente na imunofenotipagem, na citogenética e na análise genética molecular. De acordo com esta classificação são reconhecidos três subgrupos principais de LLA: a Leucemia/Linfoma Linfoblástico B sem outra especificação; a Leucemia/Linfoma Linfoblástico B com alterações genéticas recorrentes e a Leucemia/Linfoma Linfoblástico T (Tabela 1).³⁻⁵

No entanto, a classificação FAB continua a ser de grande valor para a avaliação morfológica preliminar, uma vez que uma cuidadosa avaliação da morfologia celular pode indicar quais os testes complementares mais indicados. Mantém a sua utilidade sobretudo quando a análise imunofenotípica e genética não estão disponíveis e nesta circunstância é importante que a citoquímica não seja negligenciada.¹⁴

Tabela 1. Classificação das neoplasias de precursores linfóides segundo a OMS, 2008.

NEOPLASIAS DE PRECURSORES LINFÓIDES
- Leucemia/linfoma linfoblástico B
- Leucemia/linfoma linfoblástico B sem outra especificação
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com anomalias genéticas recorrentes
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(9;22)(q34;q11.2); <i>BCR-ABL1</i>
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(v;11q23); rearranjo <i>MLL</i>
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(12;21)(p13;q22); <i>TEL-AML1 (ETV6-RUNX1)</i>
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com hiperdiploidia
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com hipodiploidia
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(5;14)(q31;q32); <i>IL3-IGH</i>
- Leucemia/linfoma linfoblástico B com t(1;19)(q23;p13.3); <i>TCF3-PBX1</i>
- Leucemia/linfoma linfoblástico T

(Adaptado de Paolini *et al.*,2011)

4. ETIOLOGIA E PATOGÊNESE

Os mecanismos envolvidos na patogênese da LLA não são totalmente conhecidos.¹⁵

Apenas uma pequena percentagem dos casos (menos de 5%) está associada a hereditariedade, nomeadamente a síndromes genéticas, tais como a síndrome de Down, a síndrome de Bloom, a Ataxia-telangiectasia, a síndrome de Nijmegen Breakage, ou a radiações ionizantes e/ou a exposição a determinados citostáticos.¹⁵

A exposição *in útero* a radiação ionizante, pesticidas e solventes tem sido associada a um aumento do risco de leucemia na infância.¹⁶ Contudo, a radiação ionizante parece ser o principal factor de risco ambiental associado à leucemia na infância.¹⁷

A síndrome de Down é a síndrome genética mais comum em crianças com leucemia e estima-se que 1 em 100 crianças desenvolve leucemia, o que representa um risco de 10 a 20 vezes superior ao que ocorre nas crianças sem esta síndrome. No entanto, a trissomia 21 pode ser encontrada nas células leucémicas em crianças sem síndrome de Down. As translocações que envolvem o gene *AML1* localizado no cromossoma 21, incluindo a t(12;21) na LLA e a t(8;21) na LMA, têm sido identificadas em crianças com leucemia. Contudo, apenas uma pequena minoria das crianças com síndrome de Down vêm a desenvolver leucemia. Deste modo, a leucemia em crianças com esta síndrome deve ser encarada como um processo em várias etapas, que envolve factores genéticos e/ou factores ambientais.¹⁸

Outras síndromes que podem aumentar o risco de leucemia infantil são a neurofibromatose tipo 1,¹⁰ a síndrome de Schwachman (tanto para LLA, como para LMA), a síndrome de Klinefelter, a histiocitose de células de Langerhans (para LLA), a monossomia do cromossoma 7, o síndrome de Kostmann e a anemia de Fanconi (para LMA).¹⁸

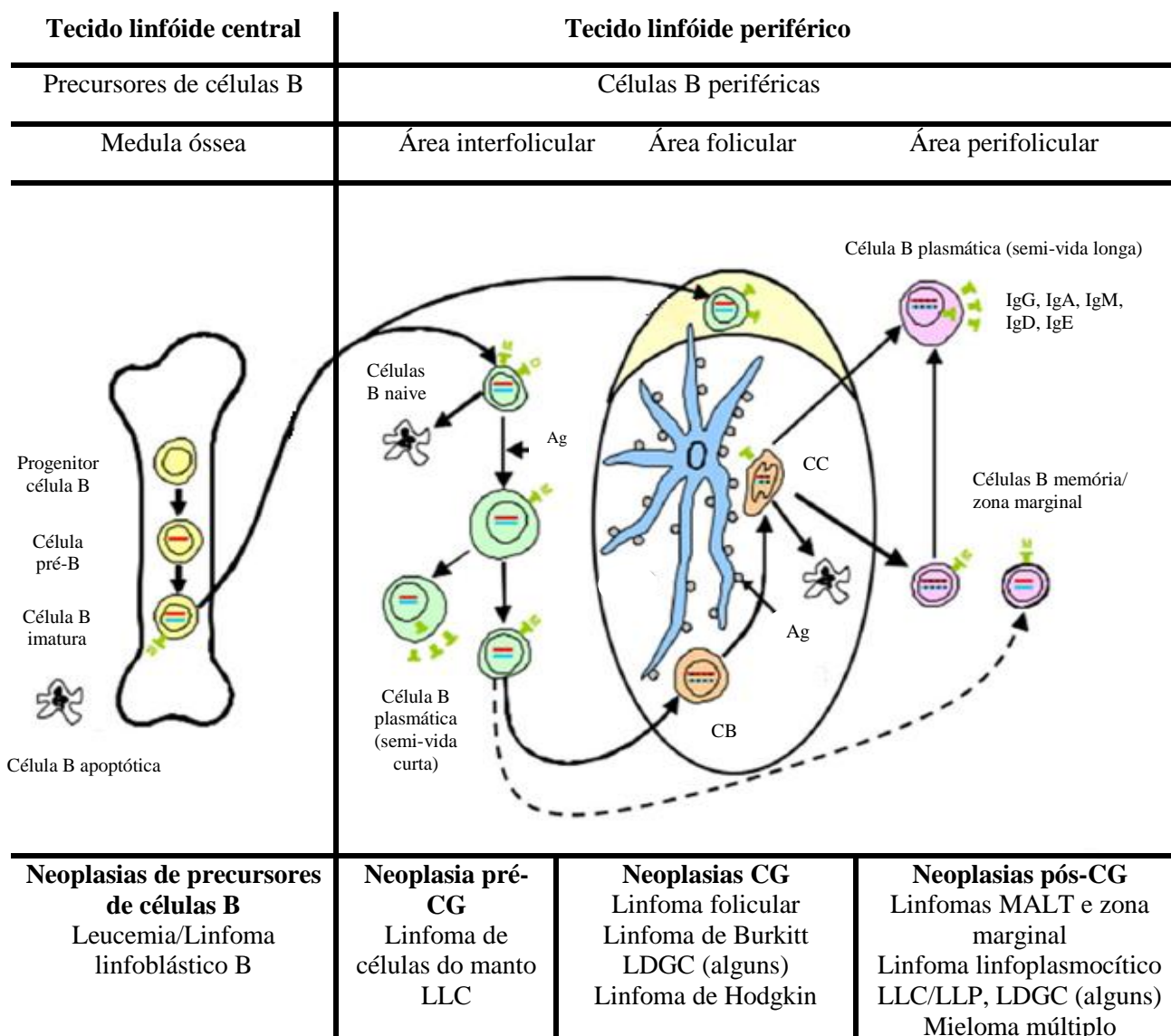
4.1 LEUCEMOGÉNESE

O desenvolvimento do linfócito normal tem lugar nos órgãos linfóides primários: na medula óssea, no caso das células B, e no timo, no caso das células T. Durante o processo de maturação, receptores específicos da superfície celular (receptor interleucina 7 (IL-7) e receptores NOTCH) são activados de forma a iniciar um programa sequencial de expressão genética que terá implicações no desenvolvimento celular em células B e T, ao conduzir o processo de proliferação dos progenitores e ao iniciar o rearranjo de genes dos receptores de antígenos. A aquisição e expressão de receptores de antígenos únicos e maduros constitui um aspecto central no processo de maturação de ambas as células B e T.⁸

O desenvolvimento dos linfócitos B segue uma evolução diferente mas em certa medida comparável ao observado nas células T.⁸

As neoplasias de células B tendem a imitar os estádios de diferenciação das células B normais e a semelhança com os estádios das células normais é a base principal para a sua classificação e nomenclatura (Figura 1).¹⁹

A leucemogénese é um processo que envolve múltiplas etapas de iniciação e , também, manutenção tumoral e é conduzido por alterações intrínsecas e extrínsecas na regulação do genoma. As modificações intrínsecas no genoma incluem mutações, amplificações, deleções e translocações. As modificações extrínsecas ou epigenéticas incluem a metilação do dinucleótido citosina-guanina (CpG) e a metilação e acetilação das histonas, que podem silenciar regiões específicas do genoma.²⁰



Legenda:

Ag – Antígeno ; CB – Centróblastos; CC – Centrócito; CG – Centro germinativo; LDGC – Linfoma difuso de células grandes; LLC/LLCP – Leucemia linfocítica crônica/ Linfoma linfocítico de células pequenas.

Figura 1. Representação da diferenciação das células B e relação com as principais neoplasias de células B. As neoplasias de células B correspondem às fases da maturação das células B normais, embora os homólogos celulares precisos não sejam conhecidos em todos os casos. Os precursores de células B que amadurecem na medula óssea podem sofrer apoptose ou desenvolver células B *naive*, que após a exposição a antígenos e transformação blástica, podem originar plasmócitos ou entrar no centro germinativo (CG) onde ocorre a hipermutação somática e a mudança de classe das cadeias pesadas. Os centróblastos, as células transformadas no CG, podem sofrer apoptose ou originar centrócitos. As células pós-CG incluem os plasmócitos com semi-vida longa e as células B da zona marginal/memória. A maioria das células B são activadas no interior do CG, mas a activação independente das células T pode ter lugar fora do CG e também conduzir, provavelmente, a células B de memória. (Adaptado de Jaffe ES *et al.*, 2008)

4.2 O PAPEL DO MICROAMBIENTE

O papel da angiogênese nas neoplasias hematológicas permaneceu controverso durante algum tempo, mas evidências recentes têm emergido de forma a suportar o seu papel na leucemogênese, progressão leucêmica e tratamento.²¹

O aumento da vascularização não é só visível na LMA e LLA, mas também em diversas patologias pré-leucêmicas, como a síndrome mielodisplásica, e as neoplasias mieloproliferativas.²¹

Os blastos leucêmicos e o microambiente da medula óssea (Figura 2) contribuem de forma igual para o processo de neoangiogênese através da secreção de diferentes factores de crescimento e mediadores angiogénicos. Verifica-se a produção de factor de crescimento endotelial vascular (VEGF), factor de crescimento de fibroblastos básico (b-FGF) e outros mediadores pró-angiogénicos, os quais têm também efeitos pró-tumorais parácrinos e autócrinos.²¹

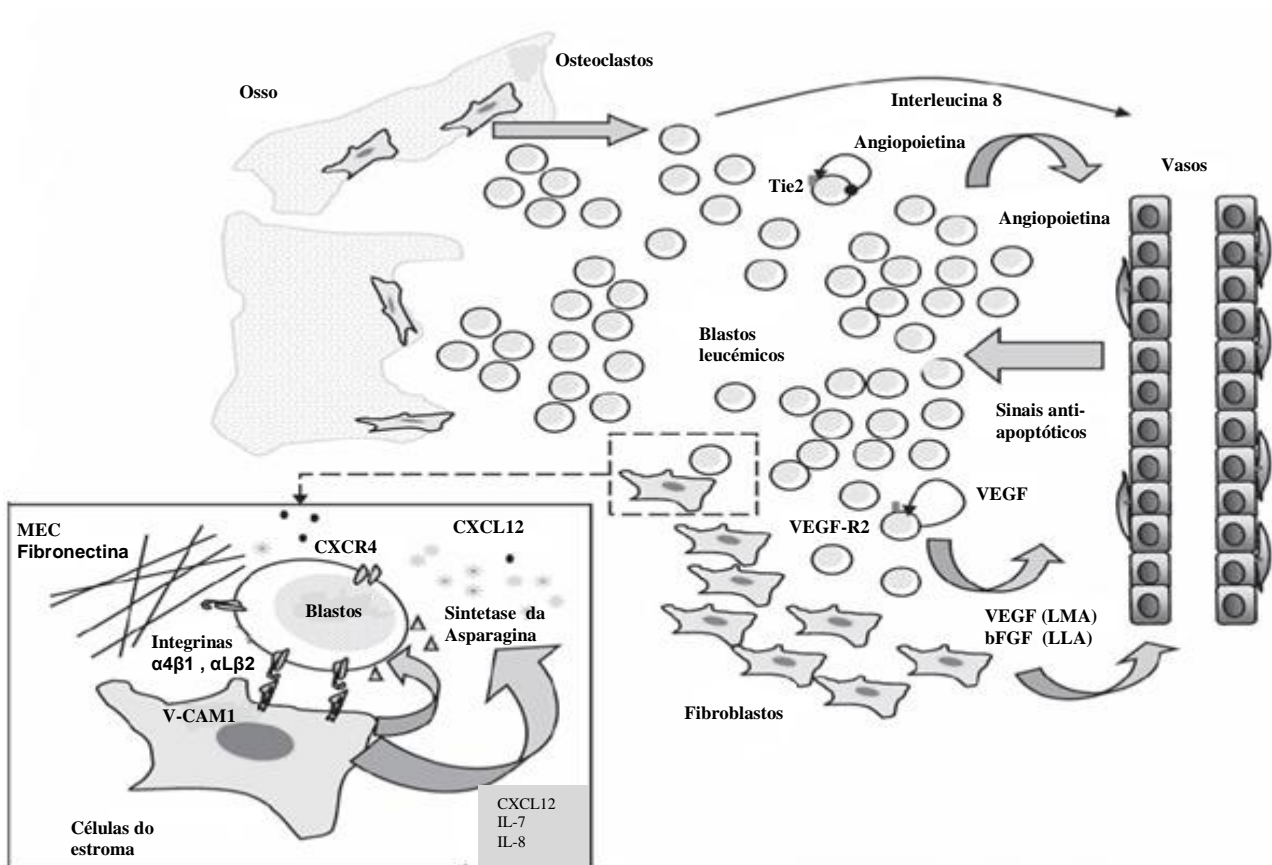
As integrinas e o CXCR4 (*CXC chemokine receptor 4*) são fundamentais para a adesão blasto-estroma e medeiam a localização secundária (*homing*) dos blastos e a persistência de doença residual após o tratamento. As integrinas dos blastos leucêmicos interagem com ligantes estromais tais como o VCAM-1 (*vascular cell adhesion molecule 1*) ou fibronectina, na matrix extracelular. No caso dos blastos na LLA verifica-se uma expressão variável das integrinas LFA-1 (*lymphocyte function-associated antigen 1*) ($\alpha L\beta 2$) na LLA-T e VLA-4 (*very late antigen-4*) ($\alpha 4\beta 1$) na LLA-B.²¹

Têm sido descritos diferentes mecanismos para a LLA, sendo esta patologia mais dependente do b-FGF do que do VEGF como mediador pró-angiogénico.²¹

O microambiente da LLA é também rico em interleucinas e sintetase da asparagina, o que pode contribuir para a resistência ao tratamento.²¹

A interacção CXCR4-CXCL12 (*CXC chemokine ligand 12*) participa na regulação positiva da IL-8 pelas células leucémicas, através do factor nuclear-kB e JNK /AP-1, e os altos níveis de IL-8 podem aumentar a angiogénese no microambiente da medula óssea.²¹

A IL-7 é também um importante mediador na indução precoce da sobrevivência das células da LLA-T no estroma da medula óssea. Foram demonstrados efeitos similares de IL-7 e IL-3 demonstrados para a LLA-B.²¹



Legenda :

b-FGF – Factor de crescimento de fibroblastos básico; CXCL12 – *CXC chemokine ligand 12*; CXCR4 – *CXC chemokine receptor 4*; MEC – Matrix extracelular; LMA – Leucemia mieloblástica aguda; LLA – Leucemia linfoblástica aguda; Tie2 – Receptor da angiopoietina; V-CAM1 - *Vascular cell adhesion molecule 1*; VEGF – Factor de crescimento endotelial vascular.

Figura 2. Interações entre blastos leucémicos e células do estroma da medula óssea. Os blastos leucémicos e as células que compõem o estroma da medula óssea (fibroblastos, adipócitos, células endoteliais e osteoblastos) são responsáveis pela produção de factores de crescimento, tais como VEGF e bFGF, e outros mediadores pró-angiogénicos. A LLA é mais dependente do bFGF do que do VEGF como mediador pró-angiogénico. As integrinas e o CXCR4 são fundamentais para a adesão blasto-estroma e medeiam a localização secundária

(*homing*) dos blastos e a persistência de doença residual após o tratamento. O microambiente é também rico em interleucinas e em sintetase da asparagina. (Adaptado F Ayala *et al.*, 2009)

As metaloproteinases da matriz (MMPs) estão envolvidas na regulação da angiogénese e na progressão tumoral, e são produzidas pelas células leucémicas e estromais. Nas LMA e LLA-B tem sido descrito um padrão anormal de expressão de MMP, verificando-se níveis baixos de MMP-2 e -9 comparativamente ao que se observa em amostras normais de medula óssea.²¹

A participação do microambiente da medula óssea tem relevância na resistência da leucemia aguda à quimioterapia. Os níveis elevados de sintetase da asparagina é um dos mecanismos que participam na resistência da LLA à asparaginase, como mencionado.²¹

4.3 ORIGEM PRÉ-NATAL DAS TRANSLOCAÇÕES

Para compreender a etiologia da leucemia infantil é necessário conhecer os mecanismos inerentes às mutações que ocorrem na célula, a sua origem e o momento na fase de desenvolvimento da vida da criança.²²

Existem evidências para a origem *in útero* de várias translocações que ocorrem na leucemia incluindo as translocações TEL-AML1, AML1-ETO, PML-RARA, e CBFβ-MYH11 (Figura 3).²²

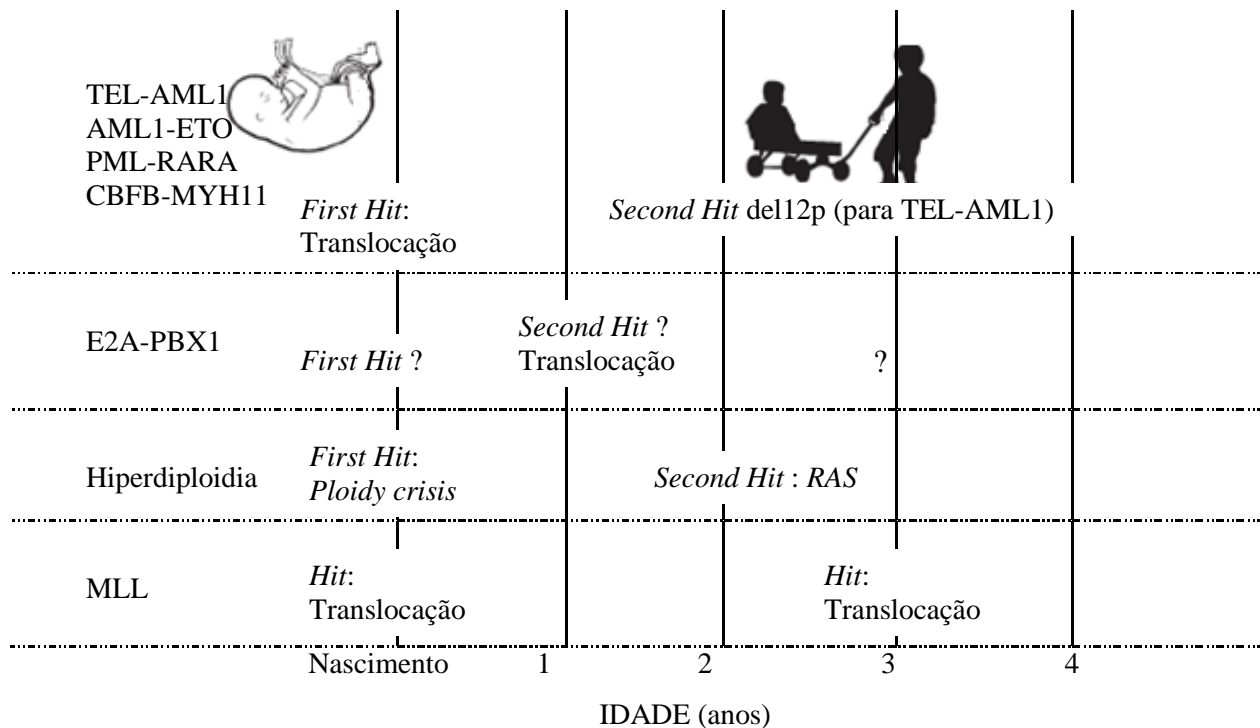


Figura 3. Identificação e *timing* das alterações moleculares na leucemogênese pediátrica. Eventos pré-natais e pós-natais são demonstrados. As translocações são de origem pré-natal, com exceção da *E2A/PBX1*. As alterações que envolvem o gene *MLL* mostram a origem pré-natal em crianças até aos 2 anos de idade, mas não demonstra esta origem em crianças com idade mais avançada. (Adaptado de Wiemels J. , 2008)

Várias outras mutações incluindo a t(1,19) (*E2A-PBX1*) e as mutações dos genes *FLT3* e *RAS* são claramente pós-natais. As translocações envolvendo o gene *MLL* (*mixed-lineage leukemia*) (11q23) parecem ocorrer com uma proximidade temporal com o diagnóstico, o que significa que lactentes (<1 ano de idade) têm translocações pré-natais, e crianças com mais de 2 anos de idade no momento do diagnóstico têm translocações pós-natais.²³

A maioria das translocações não é suficiente para a doença, mas pode ser preditiva para o risco futuro de leucemia nas crianças portadoras das mutações.²²

Compreender as causas da leucemia não termina no evento inicial, mas sim com a compreensão da avaliação dos eventos subsequentes que conduzem ao diagnóstico de leuce-

mia. Alguns subtipos da leucemia têm uma associação clara com eventos secundários – por exemplo a translocação *TEL-AML1* e a deleção do braço contralateral 12p , as alterações do gene *MLL* e a hiperdiploidia com as mutações na via do gene *RAS* incluindo *KRAS2*, *NRAS*, *FLT3* e *BRAF*.²²

Greaves elaborou uma hipótese em que considera que a maioria dos casos de LLA-B comum começa com a alteração na proliferação da célula progenitora B no útero, mas que um ou mais eventos adicionais são necessários para a progressão da leucemia. O evento ou eventos adicionais provavelmente ocorrem após o nascimento, pois a taxa de concordância temporal para o desenvolvimento da LLA comum em gémeos é de somente 5%.²⁴

Muitos subtipos de leucemia infantil têm as suas mutações genéticas iniciais antes do nascimento, mas apenas uma fracção destes clones pré-leucémicos “iniciados” irão progredir para leucemia .²³

O papel da infecção e os mecanismos imunológicos na etiologia da LLA em crianças têm sido alvo de discussão, mas o envolvimento de agentes infecciosos específicos ainda não foi demonstrado.²⁵

A ideia de que a exposição às infecções e o desenvolvimento do sistema imunitário possa influenciar a etiologia de leucemia em crianças surgiu de duas observações e levou a duas hipóteses relacionadas: a hipótese de Kinlen “*population-mixing*” e a hipótese de Greaves “*delayed-infection*” (Figura 4) .^{15,23}

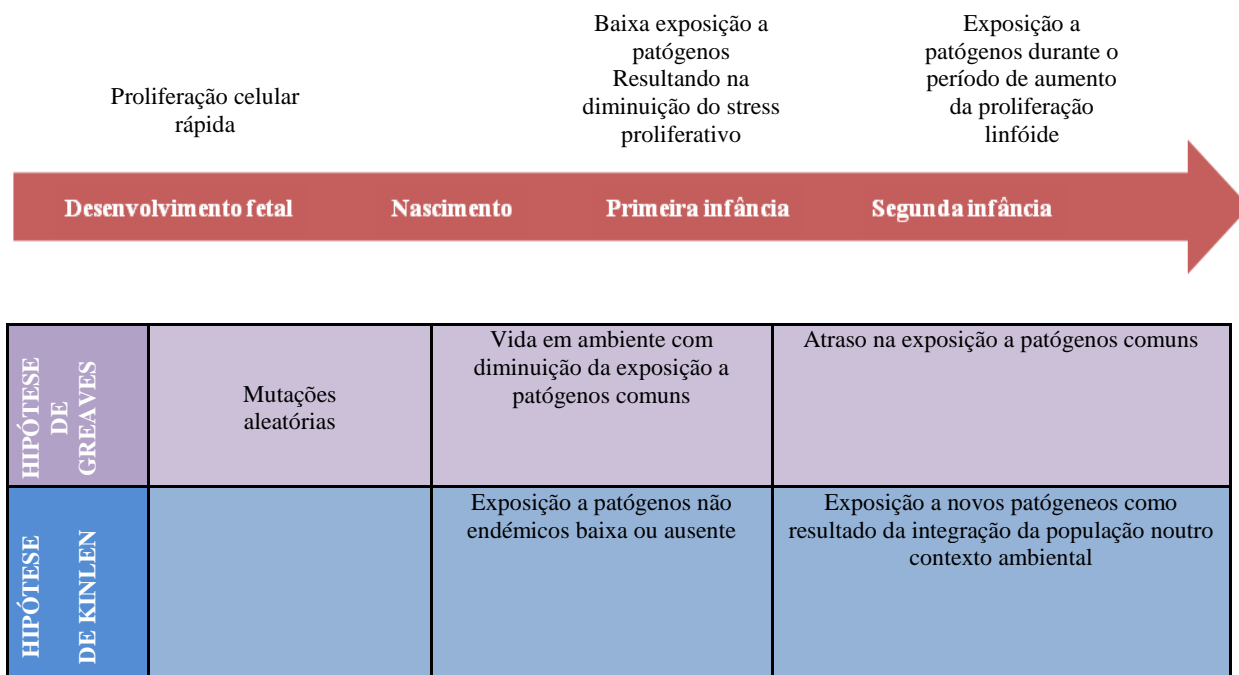


Figura 4. Modelos baseados na relação da infecção com o desenvolvimento da leucemia. (Adaptado de Pui CH *et al.*, 2008)

Kinlen verificou que a incidência de leucemia estava aumentada quando as crianças e famílias eram integradas noutra contexto ambiental. Propôs a hipótese “*population mixing*” sobre as origens da leucemia e considerou uma infecção viral específica como potencial causador de “surtos” de leucemia que ocorreram no novo contexto ambiental.²³

Greaves notou que as crianças que receberam níveis mais baixos de estimulação imune durante a infância desenvolveram um elevado risco para leucemia e considerou que um curso normal de infecções através de contactos no início da infância eram protectores. Uma causa viral específica não está envolvida nesta hipótese.²³

A falta de estimulação imunológica em crianças que estão relativamente isoladas seguida por uma resposta aberrante perante infecções comuns da infância induz leucemia em crianças que apresentam mutações pré-leucémicas. Várias mutações comuns na leucemia infantil têm origem pré-natal e ocorrem com maior frequência do que a doença. Assim, as crianças que têm mutações pré-leucémicas combinadas com um desenvolvimento imune anómalo poderão estar em maior risco.²³

4.4 ALTERAÇÕES MOLECULARES

A LLA é composta por vários subtipos que variam no fenótipo e nos padrões de incidência com a idade (Figura 5).²³

As leucemias nos lactentes (com menos de 1 ano de idade) exibem predominantemente alterações do gene *MLL* no cromossoma 11q23 e podem ter características linfóides (pró-B), mielóides ou indiferenciadas. A leucemia entre as crianças (2-10 anos) é dominada pelo fenótipo linfóide pré-B, principalmente o subtipo LLA-B comum. Os adolescentes seguem a tendência das leucemias no adulto, com um aumento da frequência dos tipos mielóides e o desaparecimento da LLA-B comum com o aumento da idade.²³

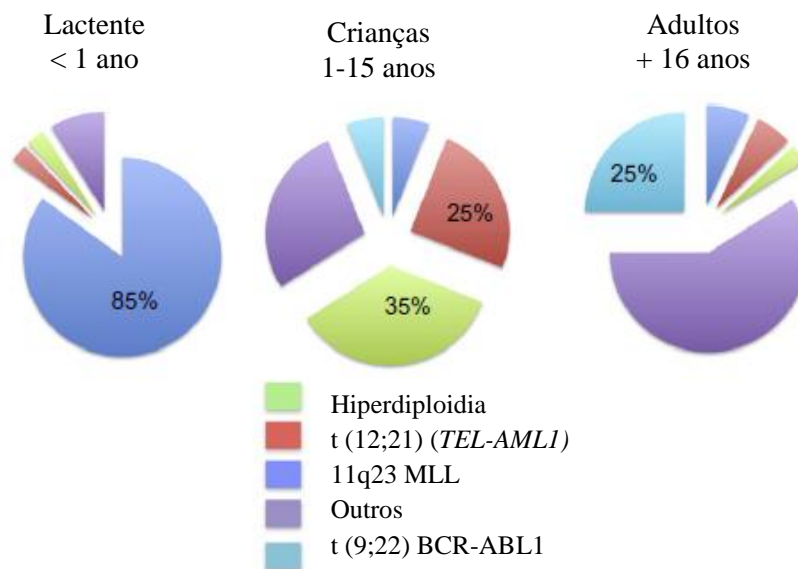


Figura 5. Distribuição dos subtipos de leucemia linfoblástica aguda por idade. A figura demonstra diferenças notáveis nas frequências do perfil citogenético das leucemias de acordo com a idade. (Adaptado de Wiemels J. , 2012)

As alterações estruturais cromossômicas, nomeadamente as translocações, representam as alterações genéticas mais comuns na criança e no adulto com LLA (Tabela 2).²⁶

A translocação $t(12, 21)(p12; q22)$ é a alteração cromossômica mais frequentemente observada na LLA e é considerada a anomalia específica mais comum na LLA na infância. Representa cerca de 30 % dos casos, sendo frequente em crianças entre 1 e 12 anos com um

pico de incidência entre os 2 e 5 anos. Está praticamente ausente em crianças com idade inferior a 1 ano e é rara nos adultos (1 a 3%). Está associada a um prognóstico favorável e a uma boa resposta ao tratamento inicial.²⁶⁻²⁸

Aproximadamente 25% dos casos de LLA-B associam-se à proteína de fusão TEL-AML1 (também designada ETV6-RUNX1), resultante da translocação cromossômica t(12;21)(p13;q22) (Figura 6).²⁶⁻²⁸

O gene *TEL* (também chamado *ETV6*), localizado no cromossoma 12p13, é membro da família de factores de transcrição Ets, necessários para o desenvolvimento e resposta da célula ao estímulo extracelular (Figura 6). Foi reconhecido como um importante regulador do desenvolvimento da hematopoiese.²⁶⁻²⁸

O gene *AML1*, também conhecido como *RUNX1* ou *CBFA2*, está localizado no cromossoma 21q22 (Figura 6). É essencial para a hematopoiese embrionária.²⁶⁻²⁸

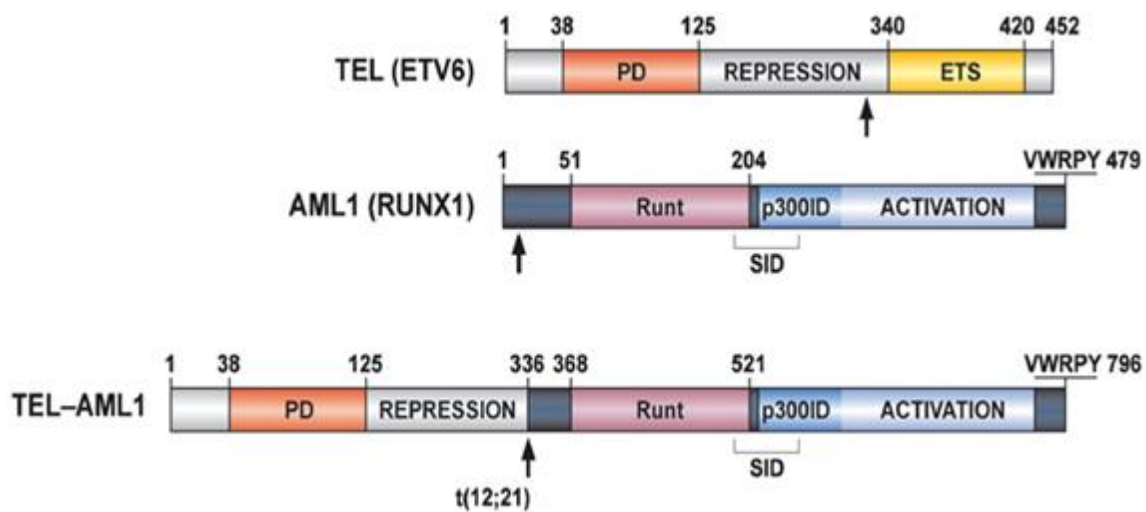


Figura 6. Representação esquemática dos genes *TEL* (*ETV6*), *AML1* (*RUNX1*) e da proteína de fusão *TEL-AML1*. (Adaptado de Zelent A., 2004)

A proteína de fusão resultante liga-se ao ADN (Ácido desoxirribonucleico) e recruta as desacetilases das histonas, responsáveis pela condensação da cromatina e inibição da transcrição.²⁶⁻²⁸ Provavelmente, inibe a actividade de transcrição do gene *AML1* normal,

envolvido na proliferação e diferenciação das células hematopoiéticas.²⁹ Consequentemente, a presença desta proteína de fusão nas células progenitoras da célula B perturba o seu desenvolvimento numa fase inicial.²⁶⁻²⁷

Esta translocação associa-se a uma elevada quimiosensibilidade, especialmente para a L-asparaginase. Também poderá associar-se a elevada sensibilidade a outros fármacos, como as antraciclinas e o etoposido.²⁹

No que se refere ao imunofenótipo de células com a t(12; 21) (p12; q22), comprovou-se a presença dos antígenos de superfície CD10, CD19 e CD22, mostrando que apresentam o imunofenótipo precursor de células B, em particular de LLA-B comum e pré-B e, muito raramente, da LLA pró-B. A expressão de CD10 e HLA-DR (*Human Leukocyte Antigen-DR*) é bastante intensa, e fraca para CD20, CD45 e CD34. Muitos casos têm expressão simultânea de marcadores mielóides CD13, CD33 e CD65.²⁷ A detecção desta translocação é conseguida através da análise por FISH (*Fluorescence in situ hybridization*) ou RT-PCR (*Transcriptase Reverse polymerase chain reaction*).³⁰

No entanto, a mutação genética mais frequente da LLA no adulto é a translocação t(9;22), que cursa com a formação do cromossoma Filadélfia (Ph), presente em 20-30% dos casos. A sua incidência aumenta com a idade, sendo aproximadamente 5% em crianças e cerca de 50% em adultos com mais de 50 anos.²⁶

O cromossoma Ph é um pequeno cromossoma derivado do cromossoma 22 (der(22)) que resulta da translocação recíproca que funde o proto-oncogene *ABL* (*Ableson leukemia virus*) do cromossoma 9 com a região *BCR* (*Breakpoint cluster region*) do cromossoma 22. O gene *BCR-ABL* resultante codifica uma proteína de fusão que reforça a actividade tirosina cinase levando à activação constitutiva de várias vias de sinalização pró-proliferativas e pró-sobrevivência (Figura 8) e, consequentemente, à leucemogénese.^{26,31-32}

Enquanto no cromossoma 9 o ponto de quebra ocorre na região 5' do gene *ABL*, no cromossoma 22 pode ocorrer na *major cluster region (M-BCR)* ou na *minor cluster region (m-BCR)* do gene *BCR*. Como tal, formam-se duas variantes da proteína de fusão *BCR-ABL*, a p210 ou a p190, consoante o peso molecular dos respectivos produtos proteicos. As proteínas quiméricas p210 e p190 resultam dos rearranjos *M-BCR/ABL* e *m-BCR/ABL*, respectivamente (Figura 7).³² O transcrito *BCR-ABL* p210 é característico da LMC e pode ser observado em 24-50% dos casos de LLA Ph+ em adultos, sendo raro em crianças com LLA Ph+. O transcrito *BCR-ABL* p190 predomina em crianças com LLA Ph+ e está presente em 50-77% dos adultos com LLA Ph+.²⁸

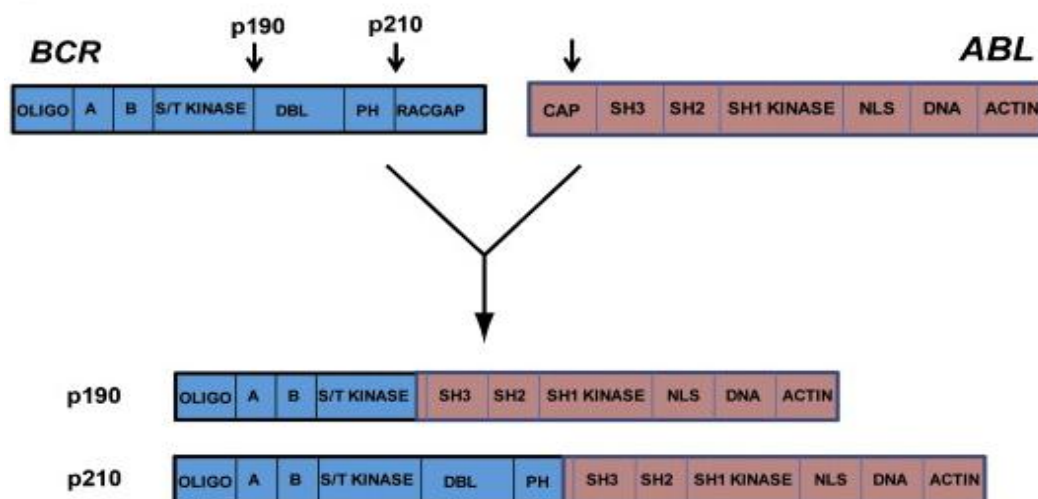


Figura 7. Representação esquemática dos genes *BCR*, *ABL* e das duas variantes da proteína de fusão *BCR-ABL* (*BCR-ABL* p190 e *BCR-ABL*-p210). (Adaptado de Sullivan C. *et al*, 2010)

Os doentes com LLA Ph+ são tipicamente idosos e têm frequentemente um elevado número de leucócitos e blastos ao diagnóstico. No caso da LLA de precursores de células B observa-se um imunofenótipo típico CD34+/CD10+/CD19+.²⁸ Muitas vezes podem apresentar marcadores mielóides. O prognóstico tende a ser reservado e com reduzida hipótese de cura na ausência de transplante de células pluripotenciais hematopoiéticas.¹³

A proteína ABL é uma tirosina cinase não receptora presente predominantemente no núcleo. Quando se funde com a proteína BCR verifica-se a sua transferência para o citoplasma e activa várias vias de sinalização intracelular que conduzem ao bloqueio da diferenciação, proliferação e inibição da apoptose, à alteração da adesão celular e à instabilidade genómica (Figura 8).³²

A activação da fosfatidilinositol-3 cinase (PI3K) é necessária para a transformação maligna veiculada pela BCR-ABL, sendo a proteína AKT o seu principal alvo e cuja activação resulta na inibição das moléculas pró-apoptóticas BIM (*BCL-2 interacting mediator of cell death*), TRAIL (*TNF-related apoptosis-inducing ligand*) e BAD (*Bcl-2-associated death promoter*).³²

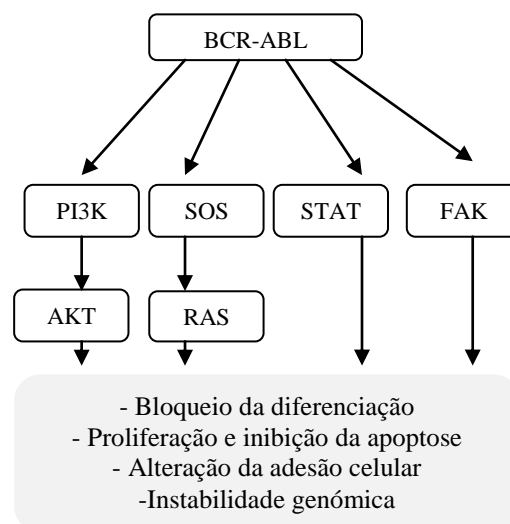


Figura 8. Esquema de representação das vias de sinalização activadas pela proteína quimérica BCR-ABL. (Adaptado de Sala O. e Radich J.P. , 2011)

A expressão de BCR-ABL também será responsável pela activação da proteína RAS através de proteínas específicas, da qual também resulta a inibição da sinalização da apoptose e activação da proliferação. Além disso, a proteína BCR-ABL fosforila o transdutor de sinal e activador de transcrição (STAT) do qual resulta a regulação positiva de várias proteínas anti-apoptóticas, tais como a MCL-1 e BCL-xL, e a activação de ciclina D1 que activa o ciclo

celular. A BCR-ABL reduz também a adesão celular através de alteração das proteínas de adesão local como as *Focal Adhesion Kinase* (FAK) e *paxillin* (Figura 8).³²

A proteína BCR-ABL é encontrada quase exclusivamente na LLA-B comum/pré-B CD10⁺ e associa-se a um mau prognóstico.²⁶

A análise através da técnica de RT-PCR permite uma classificação correcta molecular e é informativa no que se refere à definição dos pontos de ruptura. A maioria dos casos apresenta o ponto de ruptura na m-BCR (p190), enquanto que em apenas 30% se localiza na M-BCR (p210), como mencionado.³⁰

Outra alteração genética frequente que define um subgrupo específico de LLA-B é a translocação entre o gene *MLL* na banda 11q23 e outro gene do elevado número de potenciais parceiros de fusão.³³

O gene *MLL* (*MLL/HRX/ALL1*), localizado na banda 11q23, está frequentemente alterado na leucemia do lactente (crianças com idade inferior a 1 ano). Este gene é constituído por 86 exões e codifica uma proteína nuclear com um peso molecular de aproximadamente 430kDa, que funciona como um regulador positivo da expressão genética no desenvolvimento embrionário inicial e na hematopoiese (Figura 9).³³

Foram identificadas mais de 40 translocações cromossómicas envolvendo o gene *MLL*, sendo as 5 mais comuns: a t(4;11)(q21;q23) – *MLL/AF4*, a t(9;11)(p22;q23) – *MLL/AF9*, a t(11;19)(q23;p13.3) – *MLL/ENL*, a t(10;11)(p12;q23) – *MLL-AF10* e a t(6;11)(q27;q23) – *MLL-AF6*.²⁶

A translocação mais comum é a t(4;11)(q21;q23), que dá origem ao gene de fusão *MLL/AF4*. Está especificamente associada à LLA em crianças (85% dos casos), ocorrendo apenas em 2% das crianças com mais de 1 ano de idade e observa-se em 3-8% dos adultos, que tendem a ser de idade mais avançada. Este grupo apresenta caracteristicamente, um

elevado número de leucócitos, organomegalias e envolvimento do SNC (Sistema Nervoso Central).²⁸⁻²⁹

Os casos de leucemia associados a alterações moleculares envolvendo o gene *MLL* são caracteristicamente CD10- , CD24- e CD15+, e apresentam mau prognóstico.²⁸ Todos os tipos de alterações envolvendo o gene *MLL*, para além do gene de fusão resultante da t(4;11), *MLL/AF4*, também o gene *MLL/ENL*, obtido através da t(11;19), e o *MLL/AF9* associado à t(9;11), estão associadas a um mau prognóstico em lactentes com LLA. Em crianças mais velhas este prognóstico reservado está apenas presente no caso do gene de fusão *MLL/AF4*.²⁹

Apesar dos produtos de fusão que envolvem o gene *MLL* não estarem ainda totalmente identificados, estão associados com a expressão anómala dos genes *HOX* (Figura 9), o que pode resultar num crescimento anómalo das células pluripotenciais hematopoiéticas.²⁹

As células da LLA com este tipo de alteração molecular apresentam elevada resistência aos corticóides e também à L-asparaginase. Contudo, estas células apresentam uma marcada sensibilidade aos análogos de nucleosídeos, citarabina e cladribina. Esta sensibilidade está relacionada com a elevada expressão do transportador nucleosídeo membranar, ENT1.²⁹

As crianças com LLA *BCR/ABL* positiva ou com alterações envolvendo o gene *MLL* apresentam mais frequentemente má resposta aos corticóides e têm níveis elevados de doença residual mínima após o tratamento de indução.²⁹

Além das alterações genéticas já referidas, existem duas translocações conhecidas envolvendo a região 19q13, a t(1;19)(q23;p13) e a sua rara variante t(17;19)(q21;p13). Envolvem a fusão do factor de transcrição E2A localizado no cromossoma 19 com o gene *PBX1*, no cromossoma 1. A translocação t(1;19) apresentam uma forte associação com a LLA pré-B que expressa imunoglobulinas de cadeia pesada μ citoplasmáticas e que é tipicamente CD9+, CD10+, CD19+, CD22+ e CD34-. Está relacionada com leucopenia ao diagnóstico e

surge mais frequentemente em indivíduos mais jovens, tendo uma incidência na infância e adultos de 2 a 3% e 4 a 5%, respectivamente.²⁸

No caso das LLA que cursam com o gene de fusão *E2A-PBX1*, o prognóstico melhora com abordagens terapêuticas mais agressivas.²⁸

A LLA pré-B com t(1;19) apresenta um prognóstico desfavorável em contraste com a LLA pró-B com t(1;19) que se associa a melhor prognóstico.²⁸ É mais comum em crianças e constitui aproximadamente 25% dos casos de LLA pré-B pediátrica.²⁶

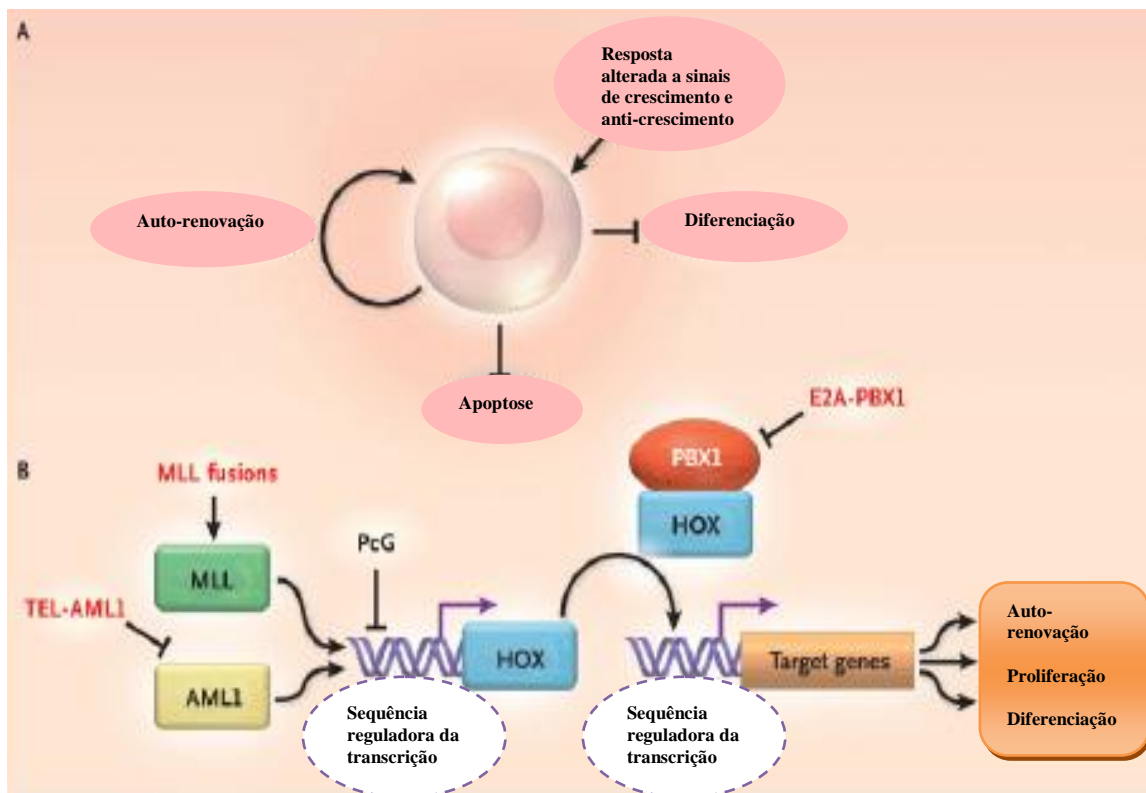


Figura 9. Transformação de células hematopoiéticas e patogênese da LLA.

O desenvolvimento de leucemia requer uma célula estaminal hematopoiética ou um dos seus progenitores comprometidos de forma a alterar os mecanismos normais de controlo homeostático que regulam a sinalização celular mediada por factores de crescimento, a diferenciação, a apoptose e a auto-renovação celulares (A). A via comum alvo de translocações que originam factores de transcrição quiméricos, como as proteínas de fusão que envolvem o gene *MLL*, *TEL-AML1* e *E2A-PBX1*, desregulam a cascata transcripcional mediada pelo gene *HOX* (B). As funções do complexo *AML1-CBFb*, directa ou indirectamente, regulam a transcrição de determinados membros da família de genes *HOX*. A proteína *MLL* é necessária para manter

esta transcrição, enquanto os dinucleótidos citosina-guanina (PcG) reprimem transcrição do gene *HOX*. As proteínas *HOX*, por sua vez, colaboram com co-fatores, incluindo a proteína *PBX1*, para induzir a transcrição de genes alvo a jusante, cujos produtos influenciam a auto-renovação, a proliferação e a diferenciação de células estaminais hematopoiéticas e seus progenitores comprometidos. Os locais da acção dos três factores de transcrição quiméricos ligados à transformação leucémica estão indicados a vermelho. (Adaptado de Pui CH *et al.*, 2004)

A amplificação intracromossómica no cromossoma 21 (iAMP21), anteriormente conhecida como amplificação do gene *RUNX1*, é especialmente frequente em crianças mais velhas e adolescentes com o imunofenótipo comum/pré-B¹² e associa-se a mau prognóstico²⁹.

A t(5;14)(q31;q32) justapõe o gene da interleucina 3 no cromossoma 5 e os segmentos *J_H* do locus *immunoglobulin heavy chain* (*IGH*) no cromossoma 14, da qual resulta o aumento da expressão de *IL3*, que é responsável pela eosinofilia observada.²⁸ Este subtipo envolve tipicamente crianças mais velhas e adultos jovens.¹²

Apesar das alterações cromossómicas serem a imagem de marca da patogénese da LLA, considera-se que estas podem agir em conjunto com outro tipo de alterações genéticas no processo de desenvolvimento da leucemia. Estudos recentes, demonstraram que a alteração de genes envolvidos no desenvolvimento das células B tem um importante papel na leucemogénese no caso da LLA em crianças.²⁶

O gene *PAX5* é o alvo mais frequente de mutações somáticas, estando alterado em aproximadamente 1/3 dos casos. Foram também identificadas deleções em outros genes envolvidos no desenvolvimento de células B tais como: *TCF3*, *EBF1* (*EBF*), *LEF1*, *IKZF1* (*Ikaros*) e *IKZF3* (*Aiolos*).²⁶

Os genes *CDKN2A* e *CDKN1B* encontram-se frequentemente afectados, e estão envolvidos no controlo da progressão do ciclo celular.²⁶ Estes genes codificam proteínas inibidoras das cinases dependentes de ciclina (CDKI) e têm um papel importante no controlo do ciclo celular, sendo que a alteração das suas funções será um elemento importante na biologia

da LLA. As CDKI p16^{INK4a}/p14^{ARF} e p15^{INK4b} estão localizadas no cromossoma 9p21 e esta região cromossômica pode ser frequentemente alvo de deleção tanto no caso da LLA-B como na LLA-T.³²

Os genes supressores tumorais, como o *RBI* e *p53*, têm também um papel importante na progressão do ciclo celular e estão frequentemente alterados na LLA do adulto.³²

Relativamente às alterações cromossômicas numéricas (Tabela 2), são mais frequentes a hiperdiploidia (51 a 65 cromossomas ou um índice de DNA superior ou igual a 1.16³⁴), a *near*-haploidia (24 a 29 cromossomas) e a hipodiploidia (31 a 39 cromossomas).²⁶

A hiperploídia verifica-se em 30 % das crianças com LLA e é caracterizada pelo ganho de cromossomas específicos. Associa-se a um bom prognóstico nas crianças²⁶, especialmente quando os cromossomas 4, 10 ou 17 estão envolvidos. Ocorre mais frequentemente em crianças com idades inferiores a 10 anos de idade com LLA-B comum/pré-B, sendo rara acima dos 10 anos e perante outros imunofenótipos. As células com hiperdiploidia têm maior susceptibilidade para a apoptose e tendência a acumulação de elevada quantidade de poliglutamatos de metotrexato, tendo por isso, elevada sensibilidade aos antimetabolitos e à L-asparaginase.²⁹

A *near*-haploidia e a hipodiploidia são alterações raras, compreendendo cada uma delas uma incidência inferior a 1% das crianças com LLA. Ambas se associam a um mau prognóstico²⁹ e estratificam os doentes como casos de risco elevado.²⁶

A frequência da hiperdiploidia diminui com a idade, não se verificando diferenças significativas na frequência da hipodiploidia.¹²

Tabela 2. Subtipos citogenéticos da LLA de precursores B.

Subgrupo citogenético	Frequência (%)	Anomalia citogenética	Gene envolvido	Funções afectadas	Características farmacológicas	Categoria prognóstica
LLA Hiperdiploidia	25 (P) 7 (A)	51-65 cromossomas	Desconhecido mas os cromossomas X, 4,6,10, 14, 17, 18 e 21 estão habitualmente envolvidos.	NA	Elevada sensibilidade ao MTX, MP	Favorável /Baixo risco (P) Desfavorável (A)
LLA Hipodiploidia	1 (P) 2 (A)	<46 cromossomas (tipicamente <i>near-haploidia</i> e baixa hipodiploidia)	NA	NA	NA	Desfavorável/ Alto risco
LLA Ph+	3 (P) 25 (A)	t(9;22) (q34;q11.2)	BCR/ABL (p190,p210)	Ciclo celular, apoptose, diferenciação	NA	Desfavorável/ Alto risco (P,A)
LLA com t(12;21)	22 (P) 2 (A)	t(12;21) (p13;q22)	TEL/AML1 (ETVX /RUNX1)	Supressão transcripcional	Elevada sensibilidade à asparaginase	Favorável/ Baixo risco (P)
LLA com t(1;19)	5 (P) 3 (A)	t(1;19) (q23;p13)	E2A(TCF3)/P BX1	Activação transcripcional	NA	Risco <i>Standard</i> (P) Desfavorável (A)
LLA com t(v;11q23) Rearranjos MLL	8(P) 10 (A)	t(4;11) (q21;q23) t(19;11) (p13;q23)	AF4/MLL ENL/MLL	Activação transcripcional	Elevada sensibilidade à citarabina	Desfavorável /Alto risco (P,A)
LLA com eosinofilia	< 1	t(5;14) (q31;132)	IL3/IGH	NA	NA	NA

Legenda :

A – % em adultos; LLA – Leucemia Linfoblástica Aguda; MP – Mercaptopurina; MTX – Metotrexato; NA – Não aplicável; P – % em casos pediátricos.

(Adaptada de Onciu, 2009; Radich e Sala, 2011)

4.5 ALTERAÇÕES EPIGENÉTICAS

O termo epigenética refere-se a modificações bioquímicas da cromatina, que não alteram a estrutura primária do ADN, mas que têm impacto na regulação da expressão genética, induzindo frequentemente supressão de genes.³⁵

Os dois mecanismos principais que promovem alterações epigenéticas são a metilação do ADN em bases de citosina num dinucleótidos CpG e as modificações das histonas. A hipermetilação das ilhas de CpG dentro de regiões promotoras de genes em associação com a desacetilação e outras modificações nas histonas, está associada à inactivação da transcrição e representa um importante mecanismo de silenciamento genético envolvido na patogénese da cancro humano (Figura 10).²⁰

Em geral, a acetilação das histonas (pelas histonas acetiltransferases - HAT) está associada com a remodelação do nucleossoma e activação transcripcional, enquanto a desacetilação (pelas desacetilase das histonas - HDAC) está associada com a condensação da cromatina e repressão transcripcional. Uma modificação das histonas, reconhecida recentemente, envolve a metilação de posições de aminoácidos seleccionados e esta etapa é controlada por várias histonas metiltransferases. Esta modificação parece ter múltiplos efeitos na função da cromatina, uma vez que pode ser um marcador de regiões de cromatina activa e inactiva.²⁰

As alterações epigenéticas têm recentemente assumido uma importância crescente em vários tipos de neoplasias, incluindo a LLA. Estas incluem a hipermetilação de genes supressores tumorais ou de genes que codificam micro-ARN, e a hipometilação de oncogenes.³⁶

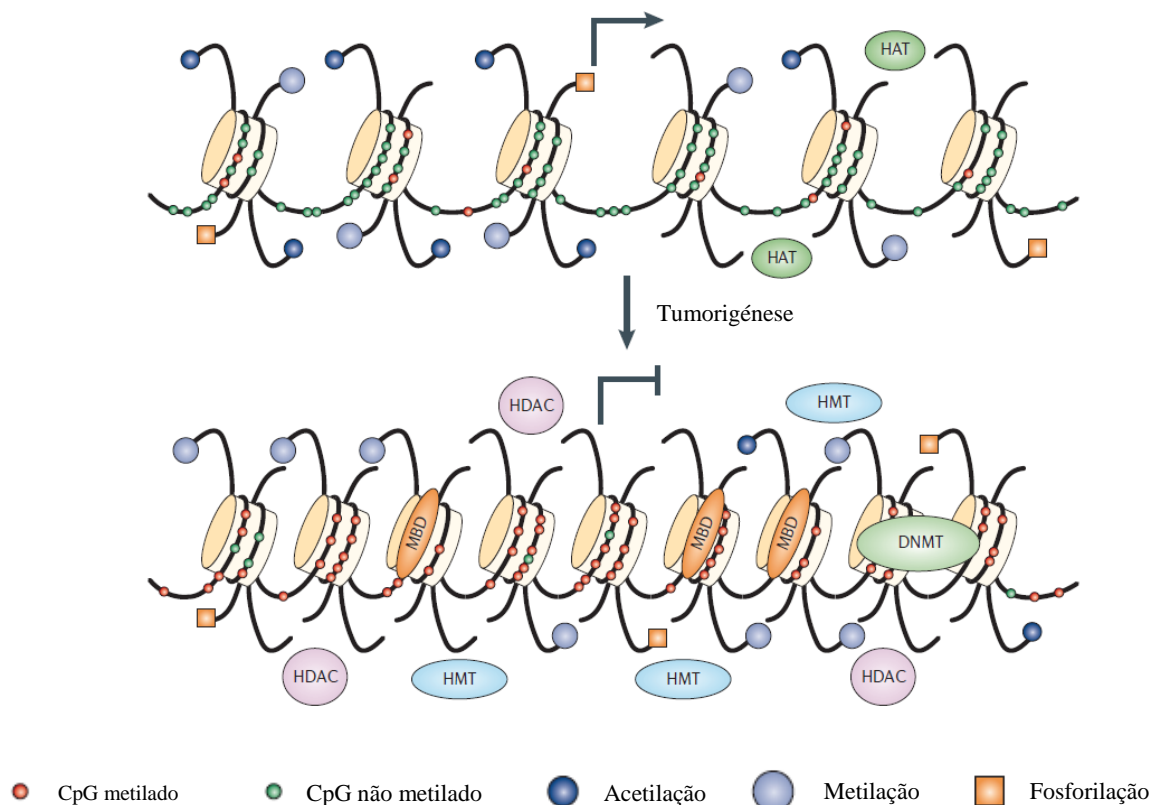


Figura 10. Perfil de metilação dos dinucleótidos CpG e de acetilação das histonas no genoma humano. A figura representa as diferenças entre o padrão de metilação e acetilação de uma célula normal e neoplásica. Os círculos a verde representam as ilhas CpG não metiladas e a vermelho as ilhas CpG metiladas. (Adaptado de Yoo C.B. e Jones P.A., 2006)

As modificações epigenéticas contribuem para a leucemogênese, mas também podem interagir com as alterações cromossômicas referidas.²⁰

A diferença fundamental entre as alterações genéticas e epigenéticas é a natureza irreversível das lesões genéticas, enquanto que as epigenéticas são potencialmente reversíveis, permitindo a intervenção terapêutica.³⁷

Deste modo, os agentes que promovem a hipometilação do ADN e a inibição das desacetilases das histonas induzem a re-expressão genética fisiológica ao reverterem esse tipo de alterações.³⁵

4.6 O PAPEL DOS MICROARN

Os miRs (ou microARN) são pequenas moléculas de ácido ribonucleico (ARN) não codificante de 19-25 nucleótidos, que regulam a expressão genética e afectam vários processos biológicos que abrangem o desenvolvimento, a diferenciação, a regulação do ciclo celular, a senescência e o metabolismo. A Tabela 3 apresenta os miRs mais frequentemente relacionados com a LLA e que poderão funcionar como biomarcadores de diagnóstico e/ou de prognóstico.³⁸⁻³⁹ Além disso, demonstrou-se que os miRs podem funcionar como oncogenes ou como supressores tumorais e, desta forma contribuir para a leucemogénese.⁴⁰

Tabela 3. miARNs mais frequentemente envolvidos na LLA.

miARN	Expressão	Biomarcador	
miR-128b	Elevada	D	
miR-128a , miR-128b	Elevada	D	Diferencia a LLA da LMA
miR-7, miR-198, miR-663	Elevada	P	Elevado risco de recidiva no SNC
miR-126, miR-345, miR-222, miR-551a	Baixa	P	Elevado risco de recidiva no SNC
miR-17-92 <i>cluster</i>	Elevada	D	Alterações do gene <i>MLL</i>
miR-16	Baixa	P	Melhor prognóstico na LLA na infância

Legenda:

D – Biomarcador diagnóstico; LLA – Leucemia Linfoblástica Aguda; LMA – Leucemia Mieloblástica Aguda; P – Biomarcador prognóstico; SNC – Sistema Nervoso Central.

(Adaptado de Fabri M., Croce C.M., 2011)

A tecnologia de *arrays* permitiu identificar um perfil miR característico da LMA e LLA, como representado na Figura 11.⁴⁰

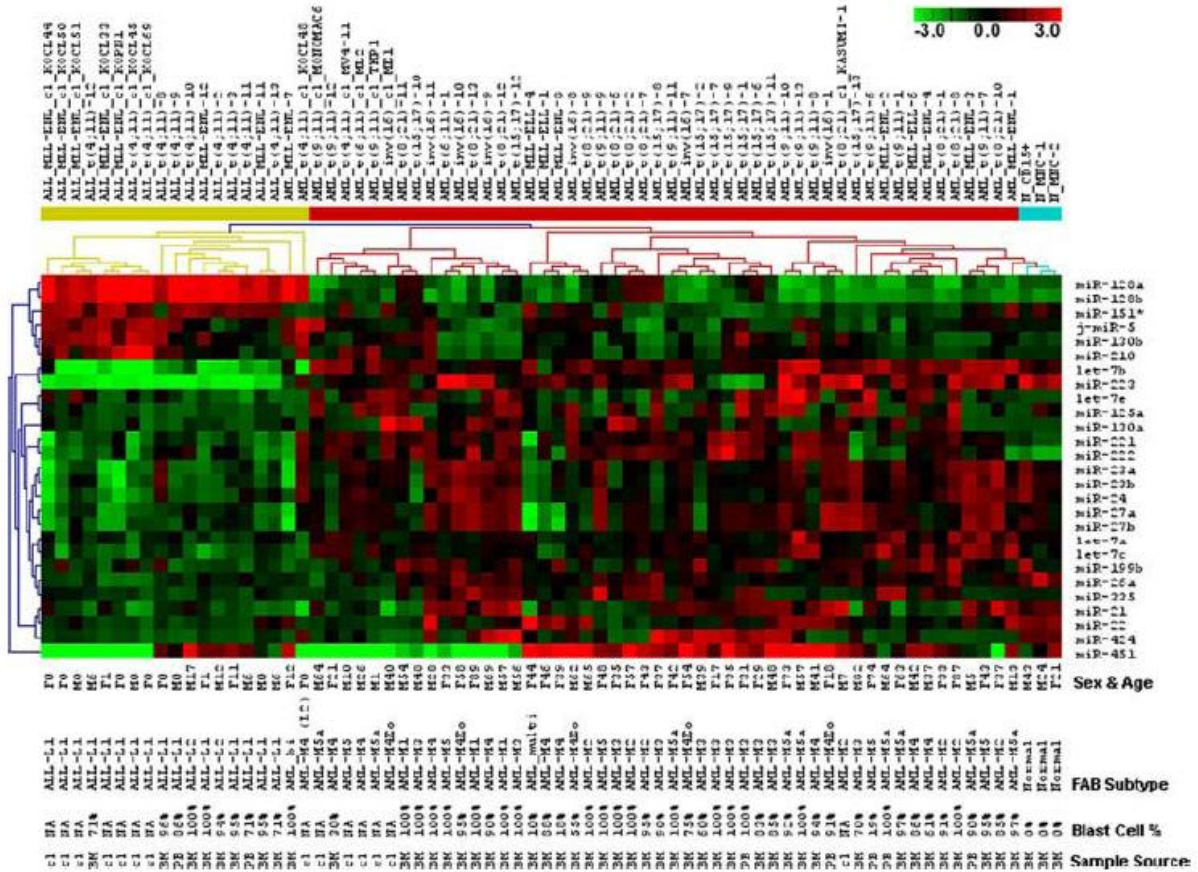


Figura 11 . Expressão de microARNs na LLA e na LMA. (Adaptado de Mi S. *et al.*, 2007)

5. APRESENTAÇÃO CLÍNICA

A apresentação clínica da LLA é variável, sendo que os sintomas podem surgir de forma insidiosa ou aguda, dependendo da extensão da doença. Raramente surge de forma assintomática ou é diagnosticada através de exames complementares de rotina ao sangue periférico.²⁸

Os sintomas mais comuns incluem febre, astenia, dor óssea e articular, e diátese hemorrágica.¹⁰ A artralgia e a dor óssea resultam da infiltração da medula óssea pelas células leucêmicas e, ocasionalmente, pode ser observada necrose (menos comum em adultos).⁴¹

Podem ser observadas palidez, petéquias e equimoses como consequência da trombocitopenia, da coagulação intravascular disseminada (CID), ou da combinação de ambas. Os doentes que desenvolvem CID tendem a ter níveis mais elevados de leucócitos ($77.9 \times 10^9/L$ vs. $9.4 \times 10^9/L$) e esplenomegália.⁴¹

Os doentes com blastemia elevada têm risco de desenvolverem síndrome de lise tumoral aguda (SLTA) podendo manifestar hiperuricemia, hipercalemia, hiperfosfatemia e hipocalcemia secundária. Este tipo de anomalias bioquímicas podem conduzir a um quadro de insuficiência renal oligúrica devido à precipitação tubular de cristais de urato e de fosfato de cálcio, a arritmias cardíacas fatais, a tetania hipocalcêmica e a convulsões.⁴¹

A hipercalemia pode provocar alterações neuromusculares (fraqueza muscular, câimbras, parestesias) e cardíacas (assistolia, taquicardia ventricular e fibrilhação ventricular), sendo que algumas podem colocar em risco a vida do doente.⁴¹

A hipocalcemia, uma das mais graves alterações metabólicas do SLTA, pode resultar em manifestações neurológicas (alucinações, convulsões, coma) e cardíacas (arritmia ventricular, bloqueio cardíaco) potencialmente fatais.⁴¹

A hipercalemia grave é rara, ainda que seja uma manifestação grave da LLA, encontrando-se apenas presente em menos de 5% dos doentes no momento do diagnóstico.⁴¹

Apesar dos blastos poderem infiltrar virtualmente qualquer órgão²⁸, as localizações extramedulares mais comuns incluem os gânglios linfáticos, o fígado, o baço e as meninges. Por outro lado, as menos envolvidas são os tecidos orbitários, os testículos, as amígdalas e as adenóides.¹⁰ Assim, as adenopatias e a hepatoesplenomegália constituem envolvimento extramedulares frequentes nas LLA-B. Por outro lado, o envolvimento do SNC e dos testículos está muitas vezes presente nas recidivas.²⁸ No entanto, ao momento do diagnóstico, 5 a 10% dos doentes adultos evidenciam envolvimento do SNC, que se pode manifestar por cefaleias generalizadas e edema da papila como resultado do aumento da pressão intracraniana.⁴¹⁻⁴²

Ocorrem por vezes alterações visuais devido à infiltração unilateral ou bilateral do nervo óptico. O envolvimento ocular directo, nomeadamente da órbita, retina, íris, córnea e conjuntiva está descrito. O envolvimento de outros pares de nervos cranianos ou a meningite leucémica podem também ocorrer.⁴¹

Em adultos, o envolvimento testicular no momento do diagnóstico é incomum (inferior a 1%). Contudo, é frequentemente observado na recidiva da doença, tipicamente anunciando uma recidiva sistémica dentro de alguns meses. Surge na forma de lesões indolores, envolvendo muitas vezes o lado endotelial do interstício de um ou de ambos os testículos, podendo também surgir um aumento do tamanho testicular e da sua consistência.⁴¹

A perfuração intestinal, a ruptura esplénica e o envolvimento da coluna vertebral sagrada podem surgir como resultado da infiltração leucémica. Foram também descritos casos de priapismo devido a fenómenos de leucostase nos corpos cavernosos e veia dorsal.⁴³⁻⁴⁵

Apesar da hiperleucocitose ser uma característica comum (10 a 30%) na LLA, particularmente na LLA-T e perante as alterações cromossómicas 11q23 e t(9;22), a leucostase sintomática é extremamente rara.

A artrite assimétrica envolvendo as grandes articulações devido à infiltração leucémica da membrana e líquido sinovial, a hemorragia no espaço sinovial e os distúrbios metabólicos e imunológicos secundários raramente fazem parte do quadro inaugural da LLA no adulto. Outras características incomuns são a infiltração directa da pele (leucemia cútis), o aumento das glândulas salivares e a compressão da medula espinhal epidural.⁴¹

As alterações laboratoriais mais comuns (superior a 90%) incluem a anemia, a trombocitopenia, a neutropenia, e a leucopenia ou leucocitose. A anemia está presente em 80% dos doentes e é habitualmente normocítica e normocrômica, e a contagem de reticulócitos é baixa. A contagem de leucócitos é elevada em aproximadamente 50 % dos casos e é superior a $50 \times 10^9/L$ em mais de 25 % e, neste caso, associa-se a pior prognóstico, com elevada taxa de recidivas.²⁸ A hiperleucocitose (superior a $100 \times 10^9/L$) está presente em 15% dos doentes pediátricos.¹⁰

Outra alteração laboratorial comum inclui a elevação do ácido úrico e dos níveis de desidrogenase do lactato (LDH), correlacionados com o *turnover* e a lise tumoral.^{10,28}

A hipereosinofilia, geralmente reactiva, pode estar presente no momento do diagnóstico e, ocasionalmente, este achado laboratorial poderá preceder o diagnóstico por vários meses. Vários doentes, principalmente do sexo masculino, com LLA-B e t(5;14)(q31;q32), podem apresentar a síndrome hipereosinofílica (hipereosinofilia, infiltração pulmonar, cardiomegália e insuficiência cardíaca congestiva). Os doentes que apresentam este subtipo genético de LLA não têm, muitas vezes, blastémia ou citopenias e têm uma baixa percentagem de blastos na medula óssea.⁴⁶

6. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico é realizado através da análise citomorfológica, citoquímica e imunofenotípica do aspirado de medula. Em casos difíceis, pode ser necessário recorrer à biópsia medular.⁷ O diagnóstico é estabelecido quando mais de 20% de linfoblastos estão presentes na medula.⁵

O envolvimento do SNC é diagnosticado através da presença de blastos no líquido cefalorraquidiano (LCR) (Tabela 4) ou se for detectada infiltração intracerebral em exames imagiológicos.⁷

Tabela 4. Envolvimento do SNC.

ENVOLVIMENTO DO SNC	
SNC 1	Ausência de linfoblastos no LCR
SNC 2	< 5 leucócitos/ μ L LCR com evidência de blastos
SNC 3	\geq 5 leucócitos/ μ L LCR com evidência de blastos e/ou sinais clínicos de leucemia SNC (por exemplo, paralisia dos nervos cranianos)

(Adaptado de Rabin,2011)

O diagnóstico inicial é complementado com a citometria de fluxo, que permite obter informação relacionada com a imunofenotipagem dos linfoblastos.⁷

Um abordagem combinada de técnicas de citogenética convencional e molecular é usada actualmente para a detecção de modificações genéticas, tais como translocações cromossómicas recorrentes não aleatórias ou as suas equivalentes moleculares.⁷ As técnicas genéticas/moleculares e/ou a citometria de fluxo são também utilizadas para avaliar a resposta à terapêutica e monitorizar a doença, através da determinação da doença residual mínima (DRM).⁷

Todos os casos confirmados de LLA devem ser submetidos a uma análise citogenética convencional e todos os casos de LLA-B devem ser investigados, recorrendo às técnicas de RT-PCR ou FISH, quanto à possibilidade da presença da translocação $t(9;22)/BCR-ABL$. A detecção deste subtipo é de especial importância uma vez que se associa a mau prognóstico com necessidade de tratamentos intensivos (como transplantação alogénica) e associação de inibidores da tirosina cinase (ITK) à quimioterapia clássica.³⁰

A técnica de FISH poderá também ser utilizada de forma a colocar em evidência, caso existam, alterações citogenéticas do gene *MLL*. Caso estejam presentes, deve ser realizada uma análise com RT-PCR, de forma a identificar as alterações específicas mais frequentes, como é o caso da $t(4;11)/MLL-AF4$.³⁰

Perante casos de LLA-B em crianças, a análise com RT-PCR ou FISH são obrigatórias para a detecção da $t(12;21)/TEL-AML1$ (*ETV6-RUNX1*), uma vez que esta alteração molecular não é detectável pela análise de citogenética convencional.³⁰

6.1 MORFOLOGIA

O sistema FAB foi a primeira classificação de LLA e é baseado nas características morfológicas das células leucémicas nos esfregaços de medula óssea analisadas por microscópica após coloração com *wright-giemsa*. Considera três grupos morfológicos: L1, L2 e L3 (Figura 12).¹⁰

O subtipo L1 é o mais comum, os blastos têm um tamanho pequeno-intermédio, citoplasma escasso, cromatina nuclear condensada, nucléolo indistinto ou ausente. O subtipo L2 é menos comum, os blastos são maiores, apresentam quantidade moderada de citoplasma basófilo, cromatina nuclear finamente dispersa e nucléolo proeminente. O subtipo L3 é muito raro, os blastos são grandes, com nucléolos proeminentes, citoplasma fortemente basófilo e vacúolos citoplasmáticos.¹⁰

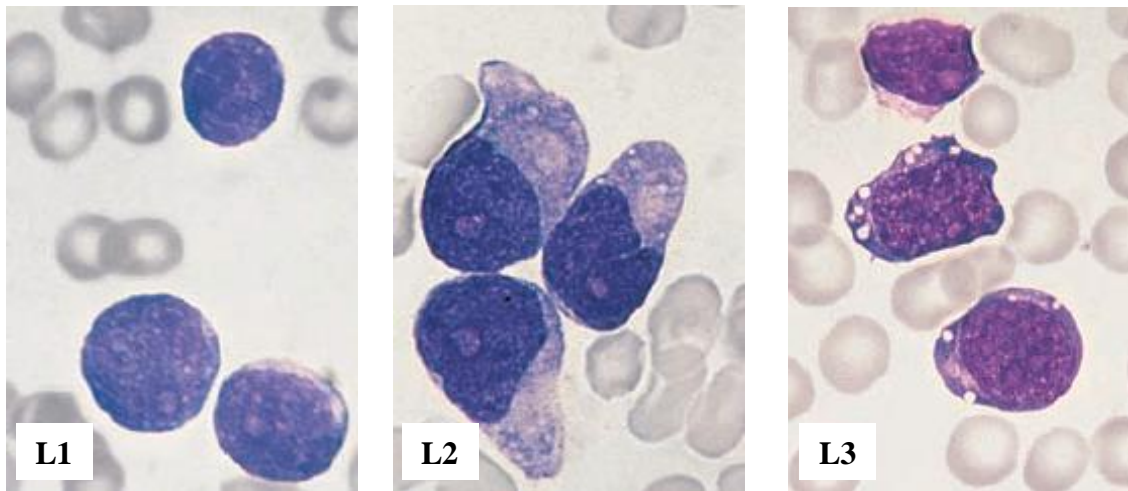


Figura 12. Classificação FAB da LLA. Estão representados os subtipos L1, L2 e L3. (Adaptado de Bain B.J., 2010)

Muitos dos casos com a morfologia tipo L3 são linfomas de Burkitt, um subtipo de linfoma de alto grau de células B maduras. Contudo, um pequeno subgrupo de neoplasias de precursores de células-B, frequentemente associado a hipodiploidia, pode também apresentar-se com morfologia do tipo L3.¹⁰

A aparência mais característica é a de uma neoplasia com padrão de crescimento difuso, por vezes com aspecto em “céu estrelado”, expandindo a área interfolicular com substituição subtotal dos órgãos linfóides. Os blastos são pequenos, com cromatina finamente granular e um pequeno nucléolo. Em casos raros, os blastos podem ter um nucléolo proeminente (como no subtipo L2). Ocasionalmente, podem ser evidenciados graus variáveis de necrose medular ou associação a fibrose medular.¹⁰

Em 70% dos casos de LLA verificou-se um aumento dos depósitos de reticulina e estes casos apresentam frequentemente o fenótipo das células B precursoras.²⁸

Têm sido descritas variantes morfológicas da LLA, mas nenhuma delas tem significado prognóstico.²⁸

6.2 CITOQUÍMICA

Ao contrário da LMA, nenhum teste citoquímico é específico da LLA. Assim, a coloração citoquímica tem sido utilizada com menor frequência no diagnóstico devido à disponibilidade da imunofenotipagem.¹⁰

As células leucémicas na LLA são uniformemente negativas para mieloperoxidase (MPO), Sudan Black-B, esterase inespecífica e esterase de cloroacetato. Por outro lado, os blastos na LLA são muitas vezes positivos para o PAS (Ácido periódico de *Schiff*) e podem também ser positivos para a fosfatase ácida, mais frequentemente na LLA-T.¹⁰

6.3 IMUNOFENOTIPAGEM

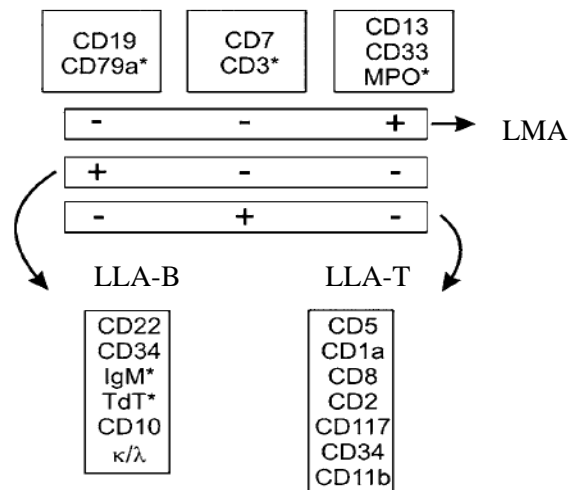
A imunofenotipagem, obtida através da citometria de fluxo, é essencial para fazer o diagnóstico e distinguir os subtipos, com implicações terapêuticas (Figura 13 e Tabela 5).⁴⁷

A LLA-B é caracterizada pela expressão de uma variedade de antígenos específicos das células B, os quais muitas vezes incluem o CD19, CD20, CD22, CD24 e CD79a. Uma elevada proporção de LLA-B também expressa CD10, um antígeno consistentemente presente nos progenitores normais de células B. Além disso, muitos dos casos de LLA-B demonstram uma fraca expressão de CD45 e um subtipo destas leucemias, mais comuns em crianças, pode ser negativa para o CD45. Outros antígenos muitas vezes expressos pelos blastos leucêmicos incluem o CD34 e o TdT.^{10,28}

A expressão de TdT não é específica da LLA e pode ser encontrada em alguns casos de LMA. Contudo, mais de 95% das LLA, L1 e L2, são positivas para TdT. Pelo contrário, as L3 são TdT- negativas.^{10,28}

Muitos casos de LLA-B podem mostrar expressão de um ou vários antígenos associados à linhagem mielóide, mais frequentemente o CD13 e CD33 e menos frequentemente o CD11b, CD15 e CD66c.^{10,28}

A expressão de antígenos mielóides nos linfoblastos leucêmicos pode estar correlacionada com subtipos genéticos específicos de LLA. Por exemplo, os casos de LLA com alterações no gene *MLL* podem expressar CD15, CD33 e CD65, e aqueles com o gene de fusão *ETV6-RUNX1* (também conhecidos como *TEL-AML1*) podem expressar CD13 e CD33.⁴⁷



Legenda:

LLA-B - Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem B; LLA-T - Leucemia Linfoblástica Aguda de linhagem T; LMA - Leucemia Mieloblástica Aguda; * - Intracelular .

Figura 13. Marcadores imunofenotípicos da LLA-B, LLA-T e LMA.

(Adaptado de Coustan-Smith E. e Campana D, 2010)

Tabela 5. Características imunofenotípicas da LLA-B.

<i>ESTÁDIO</i>	<i>IMUNOFENÓTIPO</i>
Pró-B	HLA-DR, TdT, cCD22, CD79a, CD19
Comum	HLA-DR, TdT, cCD22, CD79a, CD19, CD10, CD20 (variável)
Pré-B	HLA-DR, TdT (variável), cCD22, CD79a, CD19, CD10, CD20, μ citoplasmático

(Adaptado de Naeim F. , Rao P. N. , Grody W.W. , 2008)

7. DIAGNÓSTICO DIFERENCIAL

A LLA pode sobrepor-se morfológica e imunofenotipicamente com uma variedade de entidades benignas e malignas (hematológicas e não hematológicas)¹⁰, pelo que o diagnóstico diferencial é fundamental.¹⁰

7.1 PROLIFERAÇÕES BENIGNAS

A expansão de *precursores de células-B benignos (hematogones)* pode fazer parte do diagnóstico diferencial devido à semelhança morfológica e imunofenotípica com os seus homólogos neoplásicos. São primariamente encontrados na medula óssea mas também em pequeno número em locais extramedulares, como o sangue periférico, gânglios linfáticos e amígdalas. Morfológicamente, as hematogónias incluem células que se assemelham a linfoblastos do tipo L1 (na LLA) e a pequenos linfócitos imaturos ou maduros.¹⁰

O aumento do número de hematogónias tem-se verificado mais frequentemente em crianças, mas a sua ocorrência em adultos está também bem documentada. Além de serem encontradas em crianças saudáveis, estas células podem também estar presentes em um número elevado de crianças com uma variedade de condições malignas e benignas, e em adultos durante o período de regeneração da medula óssea pós-quimioterapia.²⁸

Distinguir a *linfocitose reactiva* da LLA é uma das mais importantes considerações no processo de diagnóstico diferencial. Entre estas situações salienta-se a mononucleose infecciosa, a infecção por citomegalovírus (CMV) e pela Bordetella Pertussis.²⁸

A mononucleose infecciosa pode apresentar-se com linfocitose demonstrando uma morfologia incomum. De igual modo, a infecção por CMV e Bordetella pertussis pode também apresentar-se com leucocitose marcada.²⁸ Contudo, na linfocitose associada às infecções

virais verifica-se um aumento da contagem de linfócitos maduros em detrimento dos blastos.⁴¹

A terapêutica com factores de crescimento pode também induzir um aumento dos blastos e de granulócitos imaturos em circulação e, ocasionalmente, causar linfocitose.²⁸

7.2 NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

Outras neoplasias hematológicas que cursam com a presença de elevado número de blastos na medula e/ou sangue periférico incluem a LMA, a leucemia aguda de linhagem mista, a leucemia aguda de células dendríticas plasmocitóides e, especialmente em adultos, o linfoma de células do manto (variante blastóide).¹⁰

A *LMA* pode apresentar-se como uma infiltração tecidular (designada sarcoma mielóide ou monoblástico) com ou sem associação a um processo leucémico e é muitas vezes considerada no diagnóstico diferencial da LLA, especialmente nos casos de blastos maiores com nucléolos proeminentes.¹⁰

As células leucémicas na LMA-M0 tal como na M7 podem apresentar-se como células pequenas, com escasso citoplasma, negatividade para MPO e diferenciação mínima.

Distinguir estes casos da LLA apenas através da morfologia e citoquímica é extremamente difícil, se não impossível. A demonstração da expressão de marcadores mielóides sem a expressão simultânea de um número significativo de marcadores linfóides é crucial para fazer o diagnóstico do subtipo FAB M0. A demonstração de marcadores megacariocíticos, como o factor VIII, CD41, CD61 e CD62b é útil no diagnóstico do subtipo M7.²⁸

A *leucemia aguda de linhagem mista* pode ser considerada no diagnóstico diferencial da LLA nos casos que expressam vários antígenos mielóides.¹⁰

A *leucemia aguda de células dendríticas plasmocitóides* é um tipo raro de leucemia e morfológicamente pode assemelhar-se a LLA do subtipo L2 ou pode mostrar citoplasma

amplo, com *pseudopodia* e vacúolos citoplasmáticos alinhados ao longo da célula dispostos como um “colar de pérolas”.¹⁰

O *linfoma de células do manto (variante blastóide)* raramente pode fazer parte do diagnóstico diferencial da LLA. O imunofenótipo característico deste linfoma deve permitir a fácil diferenciação.¹⁰

Apesar da maioria dos casos de síndrome mielodisplásica evoluírem para leucemia aguda de origem mielóide, a *transformação linfoblástica aguda de síndromes mielodisplásicas ou leucemia crónica* para LLA pode acontecer. De facto, existem relatos de transformações para LLA de doentes com anemia refractária, anemia refractária com sideroblastos em anel, anemia refractária com excesso de blastos ou com leucemia mielomonocítica crónica.²⁸

7.3 NEOPLASIAS NÃO HEMATOLÓGICAS

O *carcinoma de células de Merkel*, muitas vezes observado em adultos, pode mostrar sobreposição com o imunofenótipo da LLA-B, dado que se verificou a expressão de PAX-5 e TdT neste tumor. De forma notável, a expressão de PAX-5, embora em grande parte seja específica da linhagem B em neoplasias hematopoiéticas, pode ser vista numa variedade de outros tumores não hematopoiéticos, como nos carcinomas neuroendócrinos e numa variedade de outros subtipos de carcinomas.¹⁰

8. FACTORES DE PROGNÓSTICO

Várias características clínicas e biológicas têm sido identificadas como factores de prognóstico importantes (Tabela 6, Tabela 7), incluindo a idade, o valor de leucócitos, o imunofenótipo, as alterações cromossómicas recorrentes e a resposta ao tratamento inicial. Estes factores de prognóstico têm sido utilizados para estratificar o tratamento, uma vez que a presença de factores de prognóstico desfavoráveis orienta a abordagem do doente para tratamentos mais agressivos.³⁴

O prognóstico da LLA tem melhorado drasticamente ao longo das últimas décadas como resultado da adaptação da terapêutica ao risco de recidiva, da melhoria do tratamento de suporte e da optimização dos fármacos de quimioterapia existentes.¹⁰

Todos os doentes são estratificados e tratados de acordo com algoritmos que integram as características de apresentação (idade do doente, número de leucócitos, presença ou ausência de envolvimento do SNC ou testicular), características da leucemia (a linhagem, os subgrupos genéticos) e a resposta inicial à terapêutica (reavaliação precoce doença nas primeiras 1 a 2 semanas da terapêutica).¹⁰

Os factores mais importantes com repercussão no prognóstico são os subtipos genéticos, a contagem inicial de leucócitos, a idade ao diagnóstico e a resposta inicial ao tratamento são as mais importantes.⁶

A idade tem sido reconhecida como, provavelmente, o factor de prognóstico mais importante na LLA. Além das diferenças no prognóstico entre a LLA na infância e no adulto, a idade também afecta crucialmente o prognóstico entre adultos. Doentes com mais de 60 anos têm particularmente mau prognóstico. O agravamento do prognóstico nestes casos reflecte o aumento da probabilidade de co-morbilidades associadas. Mesmo em idosos saudáveis, a incapacidade de tolerar terapêuticas intensivas é considerada essencial na estratificação terapêutica.³⁶

Além disso, existe uma influência importante da idade no prognóstico de certos subtipos genéticos da LLA. Por exemplo, a LLA Ph positiva é geralmente associada a mau prognóstico em adolescentes, mas com resultados relativamente favoráveis em crianças de 1 a 9 anos de idade que têm leucopenia ao diagnóstico. Os adultos com este tipo de LLA têm um prognóstico reservado.⁴⁸

Entre os doentes com alterações do gene *MLL*, os lactentes (menos de 1 ano) têm pior prognóstico em comparação com crianças mais velhas.⁴⁸

Em geral, a idade é associada a um aumento das co-morbilidades e com características citogenéticas menos favoráveis e tem, como tal, um impacto negativo no prognóstico. A única exceção envolve os lactentes (menos de 1 ano) cujo prognóstico é muito mau.⁸

Historicamente, o género tem sido descrito como um factor independente de prognóstico, sendo que os doentes do sexo masculino têm piores resultados do que os do sexo feminino. Contudo, estes dados relacionam-se, principalmente, com a LLA na infância, possivelmente, devido ao impacto da recidiva testicular. Nos adultos não se confirmou.⁸

A contagem de leucócitos no momento do diagnóstico é outro factor de prognóstico importante.³⁶ A leucocitose ao diagnóstico (superior a 30, 50 ou 100,000/ μ L) está associada a um elevado risco de recidiva, particularmente no SNC, e ao risco de complicações durante a indução. A razão biológica para o comportamento altamente resistente da LLA-B com leucocitose permanece, contudo, pouco clara.⁴⁹

Actualmente, a morfologia não tem significado prognóstico. Nenhum algoritmo terapêutico actual usa a morfologia ou a citoquímica para prognóstico ou tratamento da LLA. Estes foram inteiramente substituídos por factores imunológicos, citogenéticos e moleculares.³⁶

Historicamente, o imunofenótipo tem sido considerado como um dos mais importantes factores de prognóstico e tem tido um grande impacto na estratégia terapêutica.³⁶

O envolvimento do SNC na LLA é considerado um factor da mau prognóstico. Todos os doentes recebem profilaxia de doença do SNC. Além disso, doentes em que tenha sido demonstrada doença no SNC na apresentação inicial, quer sintomáticos ou assintomáticos, recebem terapêutica que é direccionada ao SNC, além da habitual terapêutica sistémica agressiva. Desta forma, o impacto prognóstico adverso da doença no SNC no momento do diagnóstico é atenuado, pelo menos parcialmente, através de terapêutica efectiva dirigida ao SNC, sem a necessidade significativa de alterar a terapêutica pós-remissão.³⁶

Existem, contudo, factores adicionais com relevância específica em doentes idosos. A presença de hemorragia ou infecção no momento do diagnóstico foram associados a pior sobrevivência global.⁵⁰

As características citogenéticas e moleculares sobrepõem-se na classificação prognóstica na LLA, fornecendo não apenas informação prognóstica significativa, mas também permitindo o desenvolvimento de terapêuticas específicas.³⁶

As alterações genéticas favoráveis associadas com precursores B envolvem a hiperdiploidia e o gene de fusão *TEL-AML1* ou t(12;21). A hiperdiploidia está associada a maior sensibilidade dos blastos à quimioterapia e os doentes com a fusão *TEL-AML1* são altamente sensíveis à asparaginase por razões que ainda se mantêm pouco claras.^{34,51}

Outro aspecto relevante diz respeito à t(1;19) envolvendo o gene de fusão *E2A-PBX1*, que está associada a mau prognóstico com as doses convencionais de quimioterapia, porém com excelentes resultados quando utilizados esquemas agressivos (sobrevivência livre de eventos superior a 90%).^{34,51}

Os doentes com cromossomo Ph+ ou a t(4;11) (gene de fusão *MLL-AF4*) possuem doença de altíssimo risco. Existe, no entanto, uma marcante influência da idade. No caso do cromossoma Ph+, o prognóstico é péssimo em adolescentes e adultos jovens não tratados com

associação de quimioterapia e inibidores de tirosina cinase, mas relativamente melhor em crianças entre 1 e 9 anos de idade com leucopenia ao diagnóstico.⁵¹

A proteína de fusão *MLL-AF4* é indicativa de muito pior prognóstico em crianças com idade inferior a 1 ano, com taxas de sobrevivência livre de eventos a longo prazo de 10 a 30%. Crianças mais velhas (com idade igual ou superior a 12 meses) podem ter um prognóstico melhor do que os lactentes, mas os seus resultados parecem ser inferiores aos de doentes da mesma idade e sem este tipo de alterações. O prognóstico pode também variar com o gene envolvido nas alterações do gene *MLL*, verificando-se também alguma heterogeneidade clínica. Nos casos dos não lactentes, a t(4;11) (gene de fusão *MLL-AF4*, o rearranjo do gene *MLL* mais comum na LLA da infância) e a t(9;11) estão associadas a piores resultados do que os outros rearranjos 11q23.^{34,51}

A hipodiploidia é observada em aproximadamente 5 a 6% dos casos de LLA na infância e está associada a mau prognóstico.³⁴

Muitos estudos têm indicado que a rapidez da resposta à quimioterapia inicial é um preditor significativo do resultado a longo prazo. Os doentes que requerem 2 ou mais ciclos de quimioterapia de indução para alcançar a remissão morfológica completa têm pior prognóstico do que aqueles que conseguem a remissão completa dentro de um mês após o diagnóstico. A detecção morfológica da doença na medula óssea 7 a 14 dias após o início da quimioterapia correlaciona-se com maus resultados. Contudo, a intensificação da terapêutica pode diminuir o impacto deste factor de mau prognóstico.³⁴

Múltiplos estudos têm sugerido que os resultados na LLA na infância podem ser afectados pela capacidade de metabolização dos fármacos. Os polimorfismos na linhagem germinativa em doentes com LLA podem afectar a eficácia e a toxicidade dos agentes de quimioterapia. Assim, polimorfismos em genes como a tiopurina metiltransferase e timidilato

sintetase, envolvidas no metabolismo de citostáticos, têm sido associados a risco de recidiva.³⁴

Mais recentemente, a determinação de DRM na medula óssea durante os primeiros meses de terapêutica utilizando a citometria de fluxo ou técnicas moleculares (PCR) tem demonstrado ter elevado valor prognóstico.^{10,29} A detecção de DRM distingue precisamente os que respondem muito bem dos que respondem mal à terapêutica, independentemente do subtipo biológico de LLA e do mecanismo de resposta subjacente. Em vários protocolos, a DRM é utilizada para estratificar os doentes para a redução ou intensificação da terapêutica.²⁹

Tabela 6. Factores de prognóstico da LLA na infância.

Factor de Risco	Favorável	Desfavorável
Idade	1-10 anos	< 1 ou ≥ 10 anos
Género	Feminino	Masculino
Raça	Caucasiana	Negra
Contagem leucócitos	< 50,000/μl	≥ 50,000/μl
Imunofenótipo	Precursor B	Célula T
Genética	Hiperdiploidia ETV6-RUNX1/t(12;21)	BCR-ABL1/t(9;22) MLL-AF4 Hipodiploidia iAmp(21)
Envolvimento extramedular (SNC, Testicular)	Ausente	Presente
DRM após indução	<0.01%	≥ 1%

(Adaptado de Rabin K.R. e Poplack D.G., 2011 e Pui C.H.,2010)

Tabela 7. Factores de prognóstico na LLA no adulto.

Factor de Risco	Favorável	Desfavorável
Idade	< 35 anos	> 60 anos
Contagem leucócitos	< 30,000/ μ l	> 100,000/ μ l
Imunofenótipo	<i>Thymic T</i>	Pró-B (CD10-) Pré-B (CD10-/+)
Genética		t(9;22)/BCR-ABL t(4;11)/ALL1/AF4 Hipodiploidia <44
DRM após indução	<0.01%	>0.01%

(Adaptado de Gokbuget N. e Hoelzer D., 2009 e Stock W., 2010)

9. TRATAMENTO

O tratamento da LLA permanece entre as terapêuticas antineoplásicas mais complexas. Utilizam-se associações de fármacos com o objectivo de reconstituir a hematopoiese normal, prevenir a emergência de subclones resistentes, fornecer a profilaxia adequada dos locais de santuário, como o SNC e os testículos, e eliminar a doença residual mínima.⁴²

A maioria dos citostáticos convencionalmente utilizados no tratamento da LLA actuam directamente no ADN ou inibem a síntese dos ácidos nucleicos. Contudo, alguns fármacos incidem sobre outro tipo de alvos, bloqueando a síntese proteica através da hidrólise de aminoácidos essenciais para o crescimento das células leucémicas ou interferindo com estruturas do fuso mitótico (Figura 14).⁹

O tratamento divide-se em três fases, dentro das quais se distinguem: a indução, a consolidação, a manutenção e a profilaxia do SNC, que acompanha a indução e a consolidação.⁴²

Tradicionalmente, o objectivo da indução tem sido atingir a remissão morfológica (inferior a 5 % de blastos na medula óssea). Contudo, reconhece-se agora que alcançar uma DRM inferior a 0,01% blastos melhora substancialmente a oportunidade de cura a longo prazo.¹¹

O reconhecimento da LLA como uma doença heterogénea conduziu a um tratamento adaptado ao risco e de acordo com o fenótipo e o genótipo.⁵²

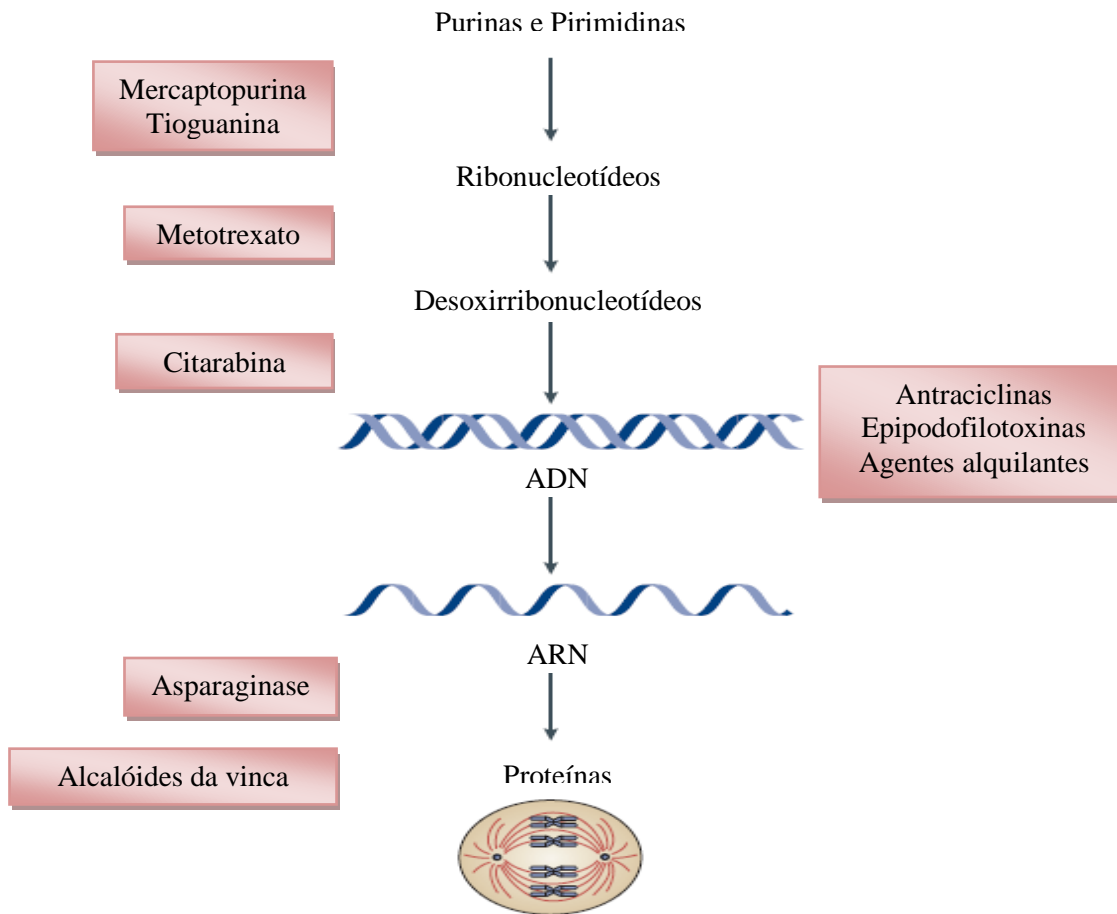


Figura 14 . Fases do ciclo celular alvo dos citostáticos convencionais utilizados na LLA. Os citostáticos podem actuar em diferentes fases da síntese do ADN e de proteínas.

As tiopurinas bloqueiam a síntese *de novo* das purinas e a conversão de inosina monofosfato em adenosina e guanina. Podem também incorporar-se no ADN e no ARN desencadeando a apoptose. O metotrexato inibe a dihidrofolato redutase, resultando na diminuição dos níveis intracelulares da coenzima tetrahydrofolato necessária para a biossíntese de timidilato e de purina, interferindo assim na síntese do ADN. Pode também bloquear a síntese *de novo* de purina através da inibição de outras enzimas dependentes do folato, como é o caso da timi-dilato sintetase. A citarabina inibe a ADN polimerase e pode também incorporar-se no ADN, interferindo no processo de alongamento da cadeia. As antraciclinas formam um complexo com o ADN e topoisomerase II conduzindo a fragmentação da dupla cadeia de ADN. As epipodofilotoxinas induzem fragmentação da dupla cadeia de ADN através da ligação a sequências específicas do ADN, que forma um complexo com a topoisomerase II. Os agentes alquilantes estabelecem uma ligação cruzada com o ADN, provocando a sua fragmentação. A asparaginase priva as células leucémicas da asparagina, que é necessária para a síntese proteica. Os alcalóides da vinca inibem a mitose por ligação à tubulina. (Adaptado de Pui CH. e Jeha S., 2007)

9.1 Tratamento de suporte

A terapêutica de suporte é primordial na LLA, porque as complicações precoces conduzem a morte precoce e interrupções do tratamento, comprometendo os resultados.^{47,53}

As infecções são a principal causa de morte precoce (2 a 20%, dependendo da idade), com contributo semelhante dos microrganismos fúngicos e bacterianos. A profilaxia antifúngica durante a terapêutica de indução com vincristina constitui um problema, porque os azóis podem aumentar a sua neurotoxicidade. Igualmente não existe nenhum esquema para a profilaxia bacteriana. Além disso, a administração simultânea de quimioterapia, antifúngicos e antibióticos pode aumentar a toxicidade, especialmente para o fígado e rins, e associar-se a falência no tratamento.⁵³

A hiperuricémia e hiperfosfatémia com hipocalcémia secundária ocorrem frequentemente, mesmo antes do início da quimioterapia, especialmente em doentes com elevada carga leucémica e nos doentes com LLA -T ou de células-B maduras. A rasburicase (urato oxidase recombinante), um potente agente uricolítico, diminui rapidamente os níveis séricos de ácido úrico, melhora a função renal e facilita a excreção de fósforo. Mesmo em doentes com lise tumoral maciça, o uso combinado de rasburicase (seguida pelo alopurinol), hidratação adequada e um aglutinante de fosfato pode prevenir a insuficiência renal aguda e evitar a necessidade de hemodiálise na maioria dos casos.⁴⁷

9.2 Tratamento da LLA na infância

Os resultados do tratamento da LLA na infância são uma das histórias de sucesso da oncologia clínica, verificando-se taxas de cura de aproximadamente 80% nos países desenvolvidos.⁷

Estes resultados são obtidos através da aplicação de esquemas intensivos de quimioterapia envolvendo múltiplos fármacos e pelo recurso, em subgrupos específicos, da radioterapia adicional e/ou transplante de células estaminais.⁷

Os esquemas de tratamento actuais consistem em pelo menos 4 fases: (1) período de indução, visando a remissão completa, durante cerca de 4 a 6 semanas com quimioterapia envolvendo múltiplos fármacos; (2) consolidação/intensificação e re-indução, de forma a erradicar blastos residuais, de acordo com critérios morfológicos; (3) tratamento profilático do SNC e (4) período de manutenção para estabilizar a remissão, suprimindo a re-emergência de clones resistentes a fármacos através da continua redução de células leucémicas residuais.⁷

9.2.1 Indução

As abordagens terapêuticas actuais na LLA da infância visam a indução da remissão completa precoce e o reestabelecimento da hematopoiese normal em aproximadamente 4 a 6 semanas.⁷

Na maioria dos grupos de estudo, este objectivo é atingido em 98% dos doentes através da aplicação de um sistema que envolve 3 fármacos (um glucocorticóide, um alcalóide da vinca, a vincristina e a L-asparaginase) aos quais pode ser adicionado um quarto fármaco, uma antraciclina, alvo ainda de debate e com benefício pouco claro.⁷

Os estudos realizados pelo *Children's Cancer Group* demonstraram que doentes com idades inferiores a 10 anos não beneficiam da adição de uma antraciclina, ao contrário das crianças mais velhas.²⁹

Nos protocolos do grupo *Berlin-Frankfurt-Muenster* (BFM) da LLA, preconiza-se uma pré-indução com 7 dias de monoterapia com prednisona oral (e uma dose intratecal de metotrexato no dia D1), que é particularmente útil na profilaxia da lise tumoral.⁷

Outra das escolhas controversas continua a ser a do glucocorticóide. A dexametasona parece ter um forte efeito antileucémico *in vitro*, um melhor controlo da leucemia no SNC e

menores taxas de recidiva. Contudo, associa-se a um aumento dos efeitos secundários, incluindo complicações infecciosas graves.⁷

Cerca de 2% dos casos não atingem remissão após a terapia de indução e poderão falecer na sequência de complicações relacionadas com o tratamento ou com a doença, ou podem ter uma doença refractária. Este último caso inclui doentes que só atingirão a remissão mais tardiamente ou que demonstram doença resistente. Como tal, devem ser consideradas precocemente abordagens terapêuticas alternativas.⁷

9.2.2 Intensificação/Consolidação

Comumente, os regimes usados incluem metotrexato em alta dose (combinado com ácido folínico) e 6-mercaptopurina diariamente e a combinação de alta dose de asparaginase administrada por um longo período associado à vincristina, à dexametasona ou a baixas doses de metotrexato.^{7,47}

O tratamento de consolidação/intensificação é necessário de forma a evitar recidivas precoces.⁷

9.2.3 Tratamento dirigido ao SNC

A terapêutica direccionada ao SNC tornou-se um pré-requisito para o sucesso do tratamento da LLA na infância.⁷

Antes da sua introdução em 1960, mais de metade das crianças com LLA apresentavam recidiva da doença no SNC. Esta taxa elevada foi reduzida para menos de 5% com a introdução da irradiação craneana, quimioterapia intratecal com metotrexato em monoterapia ou em combinação com outros fármacos (citarabina, hidrocortisona) e quimioterapia sistémica com fármacos com boa penetração no SNC (alta dose de metotrexato, dexametasona, alta dose de citarabina).⁷

Existem três modalidades de profilaxia do SNC: terapêutica intratecal, alta dose de terapêutica sistêmica que pode atravessar a barreira hemato-encefálica e radioterapia. Os principais fármacos para as duas primeiras modalidades são glicocorticóides, metotrexato e citarabina. A dexametasona foi mais eficaz na prevenção de leucemia do SNC do que a prednisona.⁵⁴

A intensidade da terapêutica direccionada ao SNC é ajustada de acordo com o risco de recidiva no SNC.⁷

Com excepção dos lactentes, a maioria dos protocolos clínicos que envolvem terapia sistêmica intensiva, ainda recomendam irradiação craniana preventiva (12 ou 18 Gy) para casos de alto risco e/ou aqueles com imunofenótipo de precursores de células T, ou na hiperleucocitose ao diagnóstico. Nos casos de SNC2 ou de punção lombar traumática é recomendado doses de terapêutica adicional de quimioterapia intratecal. Os casos SNC3 também recebem quimioterapia intratecal intensiva e são sujeitos a irradiação craniana (18 ou 24 Gy quando igual ou superior a 2 anos; crianças mais jovens devem receber doses mais reduzidas). Todos os outros casos de LLA -B, SNC1, de risco não elevado, devem receber quimioterapia intratecal preventiva.⁷

9.2.4 Manutenção

O padrão actual do tratamento de manutenção envolve 2 ou 3 anos de terapêutica diária com 6-mercaptopurina oral e semanal com metotrexato oral. A combinação de 6-mercaptopurina com metotrexato actua de forma sinérgica, porque o metotrexato inibe a síntese de novo de purina, conduzindo a uma alta disponibilidade intracelular e aumento da incorporação de tiopurinas fosforiladas no ADN e ARN. As suas doses são ajustadas de acordo com os valores absolutos de leucócitos ou neutrófilos e plaquetas.⁴⁷

A administração de pulsos intermédios de vincristina e um glucocorticóide tem sido globalmente adoptada, mas a sua necessidade nos esquemas actuais continua por determinar.⁴⁷

A redução da duração da terapia de manutenção para menos de 2 anos associou-se a um aumento da frequência de recidivas.⁷

9.3 Tratamento da LLA no adulto

9.3.1 Indução

A indução padrão da LLA do adulto compreende pelo menos um glucocorticóide (prednisona, prednisolona ou dexametasona), a vincristina e uma antraciclina ou a asparaginase por um período de 4 a 6 semanas^{11,47}. Esta combinação alcança taxas de remissão de 72 a 92%, com uma duração média da remissão de cerca de 18 meses.^{42,53}

A dexametasona tem a vantagem de induzir uma citotoxicidade mais potente, uma penetração superior no SNC, uma diminuição da taxa de recidiva no SNC e uma melhoria da sobrevivência global. Contudo, também conduz a um aumento do risco de infecção, necrose avascular e outras complicações.^{11,53}

A programação da dexametasona tem sido definida cuidadosamente, uma vez que altas doses prolongadas podem conduzir a complicações tardias e ao aumento da morbidade e mortalidade devido a infecções.⁵³

A dexametasona é muitas vezes substituída pela prednisona devido à sua melhor actividade antileucémica *in vitro* e à obtenção de níveis elevados do fármaco no LCR.⁴²

A antraciclina mais frequentemente utilizada é a daunorrubicina. Mantém-se incerto se a intensificação do tratamento com antraciclina é útil na LLA do adulto, em algum subgrupo ou em algum grupo etário, apesar de ser geralmente incluída na indução apenas para o sub-

grupo de doentes de alto risco.^{11,53} Os esquemas que não contêm uma antraciclina são menos mielossupressivos.²⁹

Nos esquemas baseados nos protocolos do grupo BFM, a ciclofosfamida é parte da fase 2 da indução em conjunto com a citarabina e a mercaptopurina.⁵³

A maioria dos estudos incluem actualmente a asparaginase no tratamento de indução.⁵³ Apesar da L-asparaginase ser um agente importante no tratamento da LLA pediátrica, o seu papel na LLA do adulto não se encontra bem definido.⁴²

Apesar da toxicidade induzida pela asparaginase não ser previsível e poder associar-se a falência no tratamento, é reconhecida como um fármaco extremamente importante para o tratamento da LLA devido ao seu mecanismo de acção único. Vários estudos têm demonstrado que a redução efectiva da asparagina está associada a melhores resultados. A optimização da terapia com asparaginase é, portanto, um objectivo importante para o tratamento da LLA no adulto.⁵³

Dados recentes de vários estudos prospectivos sugerem que a forma peguilada da asparaginase, onde a *Escherichia coli* é conjugada com o polietilenoglicol, melhora a sua eficácia. A sua semi-vida longa e a baixa imunogenicidade podem fazer com que esta forma de asparaginase venha a substituir a fonte nativa e venha a ser incluída em ensaios futuros de tratamento de indução na LLA do adulto.^{11,54}

Outro esquema comumente utilizado é o hiper-CVAD, concebido pelo grupo MD Anderson⁶, que consiste em ciclos de ciclofosfamida, vincristina, doxorubicina e dexametasona alternando com alta dose de metotrexato e citarabina num total de oito ciclos.¹¹

Muitos esquemas compreendem duas fases de indução. A indução I é a fase mais crítica e requer optimização do tratamento de suporte. Muitos esquemas centram-se na combinação de vincristina, prednisona e antraciclina, com ou sem asparaginase, e ciclofosfamida. A indução II consiste em ciclofosfamida, mercaptopurina e citarabina, independentemente da

presença de remissão completa, podendo ser utilizado um esquema mais intensivo nos casos refractários à fase de indução I.⁵⁴⁻⁵⁵

Os factores de crescimento hematopoiéticos, como o fator estimulador de colónias de granulócitos, durante a indução, aceleram a recuperação da mielossupressão e permitem uma administração atempada de regimes de tratamento com doses intensivas, melhorando a taxa de sucesso do tratamento da LLA.^{10,42}

9.3.2 Consolidação

A terapêutica de consolidação inclui alta dose de metotrexato intercalado com esquemas que incluem asparaginase e ciclofosfamida.⁵⁴

A administração intensiva de altas doses de metotrexato parece ser útil, mas as doses em adultos são provavelmente limitadas a 1.5 a 2 g/m² quando administrada em perfusão nas 24 horas.⁵³

Existe também a necessidade de intensificação da asparaginase, particularmente na consolidação, onde menor toxicidade pode ser esperada em comparação com a indução.⁵³

A característica mais importante da consolidação é provavelmente a administração de ciclos rotativos em curtos intervalos.⁵³

Contudo, após vários ciclos de consolidação, alguns doentes desenvolvem citopenias prolongadas, atrasando a quimioterapia subsequente. Como tal, o equilíbrio entre toxicidade da medula óssea e menor número de ciclos tóxicos pode ser importante.⁵³

9.3.3 Tratamento dirigido ao SNC

A profilaxia padrão para o SNC pode envolver radioterapia, quimioterapia sistémica, quimioterapia intratecal ou a combinação destes.⁴²

A combinação precoce de quimioterapia sistémica intensiva e quimioterapia intratecal pode reduzir a taxa de recidiva no SNC e pode proporcionar a oportunidade de omitir a irradiação craniana profilática.⁴²

A elevada dose de citarabina (1 a 7.5 mg/m²) e metotrexato (5 a 8g/m²) têm a capacidade de penetrar a barreira hematoencefálica e podem servir como profilaxia do SNC. Contudo, é difícil manter concentrações terapêuticas prolongadas no LCR usando apenas a quimioterapia sistémica. Além disso, a quimioterapia sistémica associa-se a toxicidade generalizada.⁴²

A inclusão de quimioterapia intratecal nos protocolos de profilaxia do SNC visa melhorar a eficácia da terapêutica sistémica, contornando as suas limitações. A quimioterapia intratecal permite o tratamento directo intra-LCR e concentrações do fármaco potencialmente sustentadas no LCR. O metotrexato, a citarabina, a citarabina lipossómica e a tiotepa são comumente utilizados na terapia intratecal.⁴²

Um fármaco relativamente novo é a citarabina lipossómica, que quando é administrada via intratecal, mantém níveis elevados no LCR pelo menos durante 14 dias, requerendo, assim, menor frequência de administrações.⁵⁴

A terapia intratecal tripla com metotrexato, citarabina e hidrocortisona é mais eficaz do que o metotrexato intratecal na prevenção da recidiva SNC.⁴⁷

O envolvimento do SNC na primeira recidiva ocorre em cerca de 30% dos adultos sem profilaxia e em apenas 5 a 15% dos que tiveram profilaxia. A recidiva com envolvimento do SNC associa-se a muito mau prognóstico, sendo a profilaxia obrigatória no tratamento da LLA.^{50,54}

Quando os doentes têm envolvimento do SNC no momento do diagnóstico, muitos protocolos tentam erradicar os blastos do SNC através de uma terapêutica intratecal mais intensiva (bi-semanal), habitualmente combinada com radioterapia, continuando, posteriormente, o protocolo habitual.⁵⁴

9.3.4 Manutenção

Os pilares da terapêutica de manutenção são a 6-mercaptopurina diária oral, metotrexato semanal, preferencialmente administrado endovenosamente, e pulsos de vincristina e prednisona mensal, durante 2 a 3 anos. A extensão da manutenção além dos 3 anos não é benéfica, nem a omissão ou encurtamento do tempo de tratamento.^{42,53}

Os adultos, em comparação com as crianças, demonstram muitas vezes baixa adesão à manutenção intensiva devido à toxicidade e, também por razões sociais. Mesmo nos esquemas de manutenção convencional, a sua adesão tende a ser problemática.⁵³

9.4 Tratamento do idoso

O tratamento da leucemia aguda no idoso é muitas vezes complexo, não apenas devido à maior frequência de co-morbilidades e ao risco de interações farmacológicas, resultado do uso habitual de múltiplos fármacos, mas também às diferenças fisiológicas relacionadas com a idade. As funções hepática e renal podem estar comprometidas ou menos flexíveis. A recuperação hematopoiética ocorre mais lentamente devido ao menor número de células estaminais hematopoiéticas.⁵⁰

Os fármacos específicos no tratamento da LLA estão associados a elevado risco de toxicidade nos idosos. Isto inclui polineuropatia e obstipação associadas com a vincristina; diabetes e hiperglicémia associadas com a aplicação de corticóides; toxicidade cardíaca das antraciclinas e toxicidade hepática induzida por vários fármacos, como a asparaginase, metotrexato ou análogos da purina.⁵⁰

A terapêutica de indução é a fase mais crítica, e cerca de 7 a 10% dos doentes idosos morrem antes do início de qualquer tratamento.⁵⁰

A causa da morte durante a indução é mais frequentemente a infecção. É portanto essencial fornecer um tratamento de suporte intensivo, sendo que a aplicação de G-CSF

(*Granulocyte Colony-Stimulating Factor*) durante a quimioterapia pode, pelo menos, atenuar a neutropenia.⁵⁰

A identificação da translocação *BCR-ABL* é crucial porque, mesmo em doentes muito idosos, o uso de inibidores da tirosina cinase oferece uma oportunidade realista de remissão completa com toxicidade limitada.⁵⁰

9.5 Tratamento na LLA-Ph+

Até recentemente, a LLA Ph+ era considerada a LLA com pior prognóstico. Utilizando apenas quimioterapia convencional no tratamento, a maioria dos doentes não sobrevivia um ano. O transplante alogénico melhorou a sobrevivência significativamente e tornou-se o *gold standard* do tratamento. No entanto, o advento dos inibidores da tirosina cinase revolucionaram completamente o tratamento, fazendo actualmente parte de um novo *gold standard*.⁵⁴

Os doentes costumam ter um prognóstico reservado, com possibilidade reduzida de cura na ausência do transplante de células estaminais. A combinação recente de inibidores da tirosina cinase com quimioterapia tem tido resultados promissores, contudo o impacto na sobrevivência a longo prazo livre de doença permanece pouco claro.¹³

A combinação de imatinib com quimioterapia é geralmente considerada tratamento de primeira linha e melhora as taxas de remissão completa em comparação com apenas quimioterapia.⁵⁶

Os benefícios a longo prazo do imatinib tem sido substancialmente prejudicados pela rápida emergência de resistência. Uma causa comum dessa resistência envolve mutações no domínio cinase da *BCR-ABL* que evita a ligação do imatinib. Este tipo de mutações associa-se a um mau prognóstico. Outro mecanismo de resistência ao imatinib inclui o aumento da expressão ou amplificação do *BCR-ABL* e alterações no efluxo/influxo do fármaco. As cinases da família SRC (SFks) podem ter um papel na resistência.⁵⁶

Uma segunda geração de inibidores da TK, incluindo dasatinib, nilotinib e bosutinib têm sido desenvolvidos. Contudo, um número limitado de mutações específicas (incluindo a T315I e F317L) são ainda insensíveis a estes novos agentes.²⁶

O dasatinib é um novo inibidor da BCR-ABL e SFKs e é o primeiro fármaco aprovado para casos de resistência ou intolerância ao imatinib na LLA Ph+. Este fármaco demonstrou ter uma potência 325 vezes maior contra o BCR-ABL comparado com o imatinib. Adicionalmente, o dasatinib é activo na maioria das mutações BCR-ABL clinicamente relevantes (contudo não actua na mutação T315I). A actividade anti-SFK do dasatinib pode ser clinicamente benéfica.⁵⁶ O dasatinib é claramente melhor para os casos que envolvem o SNC.⁵⁴

Os doentes que não realizam transplante alogénico necessitam de continuar a terapia com inibidores da tirosina cinase indefinidamente.⁵⁴

9.6 Transplante de células estaminais

O transplante de células estaminais em crianças com LLA em primeira remissão deve ser restringido a casos cuja doença está associada a características de mau prognóstico como a t(9;22), a ausência de resposta ou má resposta à terapêutica de indução.^{7,47}

Apesar do transplante não parecer melhorar os resultados na LLA com hipodiploidia ou na LLA com alterações do gene *MLL* no lactente, muitos especialistas continuam a recomendar a transplantação em doentes com má resposta inicial ao tratamento.¹¹

O tratamento da LLA-Ph+ tem-se tornado muito controverso porque o tratamento com quimioterapia combinada com imatinibe e as últimas gerações de ITK têm demonstrado excelentes resultados comparáveis ou superiores aos do transplante.¹¹

Nas crianças com LLA Ph+ não está recomendada a transplantação na primeira remissão, tendo em conta os resultados do tratamento inicial com a combinação de quimio-

terapia intensiva e ITK, excepto se má resposta ao tratamento de indução.⁴⁷ Assim, o transplante autólogo não é efectivo na LLA na infância e, por isso, não deve ser realizado.²⁹

As indicações de transplante na LLA do adulto são também controversas. Tradicionalmente, o transplante na primeira remissão completa foi considerada a melhor opção curativa na LLA nos adultos, estudos recentes têm revelado dados discordantes sobre o benefício relativo da quimioterapia *versus* transplante de células estaminais em doenças de alto risco e de risco *standard*.¹¹

O transplante alogénico claramente beneficia certos doentes pediátricos e adultos de muito alto risco, como aqueles com LLA Ph+ ou aqueles com uma má resposta inicial ao tratamento.⁵² O transplante é também considerado nos doentes de alto risco (idade >35 anos, linhagem B com leucócitos $\geq 100 \times 10^9/L$, linhagem T com leucócitos $\geq 30 \times 10^9/L$).⁴²

9.7 Tratamento das recidivas

A recidiva é definida pela recorrência de linfoblastos ou infiltrados leucémicos localizados em qualquer parte do organismo.⁷

A quimioterapia intensiva convencional e radioterapia pode curar até 1/3 das crianças com LLA recidivada, com percentagens variando entre 0 e 70% dependendo do padrão de factores de prognóstico no momento da recidiva. Nos doentes com recidiva sistémica precoce (dentro de 18 meses após ter atingido a primeira remissão completa), o transplante de células estaminais de dador HLA-compatível é considerado actualmente o tratamento de escolha. O transplante de dador não relacionado, devido ao elevado potencial de toxicidade, pode ser restrito a doentes de alto risco.⁷

A segunda remissão pode geralmente ser alcançada em 70% das recidivas precoces e em 95% das recidivas tardias utilizando quimioterapia convencional intensiva, mas a duração é muitas vezes efémero. O transplante de células estaminais não melhora necessariamente os

resultados comparado com a quimioterapia, e não é muitas vezes uma opção – por exemplo para doentes que não têm um dador compatível, aqueles cuja remissão não é sustentada, ou que têm infecção activa ou função orgânica comprometida.^{11,54}

Geralmente, o transplante é recomendado nas recidivas medulares precoces, enquanto que a quimioterapia é preferível nas recidivas tardias e qualquer recidiva extramedular isolada.¹¹

9.8 Novos agentes terapêuticos

Todas as células blásticas expressam uma variedade de antigénios específicos, tais como CD20, CD19, CD22, CD33, CD52 que podem servir como alvos para o tratamento com anticorpos monoclonais.⁴⁹ Neste sentido, a terapêutica com anticorpos monoclonais é uma opção atractiva a considerar no tratamento de indução.⁵⁴

Alguns dados encorajadores têm sido relatados com o uso do **Rituximab**, um anticorpo monoclonal para o CD20, no tratamento da LLA-B.⁵⁴

No caso do **Epratuzumab**, um anticorpo monoclonal para CD22, pensa-se que actua através de uma acção imunomoduladora, sendo um agente potencial também para a LLA-B.⁵⁴

O **Alentuzumab**, um anticorpo direccionado contra o CD52, é um anticorpo monoclonal com aplicação ampla na maioria dos casos de LLA-T e LLA-B.⁵⁴

No entanto, o anticorpo com maior potencial é provavelmente o **Blinatumomab**, que pertence a uma nova classe de *bi-specific T-cell engagers* (BiTEs). É um anticorpo monoclonal que combina dois locais de ligação: um local CD3 para as células T e um local CD19 para as células B alvo. O fármaco funciona através da ligação destes dois tipos de células e activação das células T para exercer actividade citotóxica nas células alvo.⁵⁴

10. EFEITOS SECUNDÁRIOS DA TERAPÊUTICA

Uma grande parte dos efeitos adversos da terapêutica resulta da combinação de vários fármacos, contudo alguns são específicos de determinado fármaco como: a neuropatia e a obstipação causadas pela vincristina; a mucosite causada pelo metotrexato; a diabetes, os distúrbios do comportamento, o *facies* cushingóide, a osteoporose e a necrose avascular do osso causados pelos glucocorticóides; a toxicidade hepática e os eventos trombóticos secundários à asparaginase.²⁹

A toxicidade aumenta com a idade do doente. As crianças com idades superiores a 10 anos têm uma alta incidência de efeitos secundários pelos glucocorticóides, como necrose avascular do osso, hiperglicémia e pancreatite, e complicações tromboembólicas causadas pela L-asparaginase.²⁹

A causa mais importante de morte são as infecções, sendo que 0,5 a 1,5% dos doentes morrem devido a infecções durante o tratamento de indução e 1 a 3% morrem por infecções enquanto estão em remissão completa.²⁹

Além disso, o tratamento sistémico associa-se a toxicidade generalizada. A citarabina em alta dose está associada a disfunção hepática, disfunção cerebelar, mucosite, diarreia, *rash* e febre. As doses elevadas de metotrexato estão associadas a disfunção renal, hepatite transitória, mucosite e, raramente, neurotoxicidade.⁴²

Numa proporção considerável de doentes com LLA, a asparaginase induz coagulopatia e aumento das transaminases hepáticas de impacto clínico ainda não clarificado e em menos casos, complicações graves como hepatopatias ou pancreatites.⁵³

Quase todos os efeitos secundários da quimioterapia que surgem em crianças são temporários.²⁹ As complicações a curto-prazo do uso de glucocorticóides incluem miopatia, mialgia, infecção, problemas comportamentais, hiperglicémia e supressão do eixo adrenal.

Embora estas complicações sejam transitórias, a osteonecrose causada pelos glucocorticóides pode resultar no colapso da articulação requerendo colocação de prótese.⁴⁷

Apesar do tratamento da LLA na criança ter uma elevada taxa de resposta, apresenta toxicidade com potencial de danificar ou interferir na função de vários órgãos. Pode verificar-se um risco elevado de neoplasias secundárias e morte precoce resultante de várias causas, nomeadamente patologia cardíaca.^{47,57}

As complicações cardíacas a longo prazo nos sobreviventes podem resultar da lesão provocada pelas antraciclina e outros fármacos com cardiotoxicidade.^{47,57}

Além deste tipo de complicações, verifica-se um aumento do risco de obesidade, de patologia endócrina e metabólica (défice da hormona de crescimento, resistência à insulina, baixa estatura, puberdade precoce e osteoporose), de fraqueza muscular, de défices neurosensoriais e défices neurocognitivos. Estas condições crónicas, isoladas ou combinadas, podem afectar a função cardíaca.^{47,57}

Infelizmente, com a melhoria global da sobrevivência, os efeitos secundários a longo prazo provocados pelo tratamento também se tornaram mais frequentes. Estes incluem efeitos cardíacos tardios (tratamento com antraciclina associada a cardiomiopatia), neuropsicológicos (associados ao tratamento com metotrexato), défices endócrinos, neoplasias secundárias, como LMC (associada ao tratamento com inibidores da topoisomerase II) e radioterapia associada ao desenvolvimento de tumores cerebrais.⁷

A ocorrência deste tipo de efeitos adversos depende de vários factores incluindo o estado de saúde do indivíduo e do tratamento específico que recebeu. Pelo que, é necessário que sejam alvo de uma avaliação regular por profissionais de saúde familiarizados com o tratamento da leucemia e com os possíveis riscos associados, e que possam reconhecer os sinais precoces destes efeitos tardios.⁷

Os doentes com síndrome de Down são particularmente sensíveis aos efeitos tóxicos do metotrexato e verifica-se uma elevada incidência de mucosite, hepatotoxicidade, infecções e morte relacionadas com este fármaco. Têm também maior risco de hiperglicémia após terapêutica com corticosteróide e de toxicidade cardíaca grave após antraciclina.⁵⁸

A irradiação craniana associa-se a efeitos secundários tais como, neoplasias secundárias; endocrinopatia ou alterações endócrinas que podem conduzir a obesidade, baixa estatura, puberdade precoce e osteoporose^{42,47}; disfunção neurocognitiva e neurotoxicidade.⁴²

Em geral, estas complicações são visíveis mais frequentemente em raparigas do que nos rapazes e em crianças mais jovens do que nas mais velhas. Os sobreviventes de LLA na infância que foram tratados há 20-40 anos enfrentam um risco de mortalidade considerável.⁴⁷

Os sobreviventes da leucemia infantil têm risco aumentado de desenvolvimento de insuficiência cardíaca, enfarte agudo do miocárdio, alterações das válvulas cardíacas e inflamação do epitélio cardíaco após os tratamentos. Têm também risco elevado de neoplasias secundárias e mortalidade precoce de várias causas, particularmente eventos cardíacos.⁵⁷

11. CONCLUSÃO

A LLA, o tipo mais comum de neoplasia nas crianças, é uma doença heterogênea em que as lesões genéticas resultam no desenvolvimento de múltiplos subtipos biológicos.²⁹ No entanto, a etiologia deste tipo de leucemia permanece desconhecida.⁵⁹

As translocações cromossômicas que ocorrem *in útero* durante a hematopoiese fetal, têm sido sugeridas como causa primária para a LLA pediátrica, enquanto os eventos genéticos pós-natal são sugeridos como contribuintes secundários.⁵⁹

Os sistemas de classificação FAB e da OMS continuam a depender fortemente da avaliação morfológica. A identificação do imunofenótipo dos blastos tornou-se uma parte importante do diagnóstico, mas a citogenética e os marcadores moleculares permitem a caracterização, classificação e a determinação do prognóstico da LLA.⁵⁹

A melhor compreensão da biologia da LLA levou a alterações na classificação patológica da doença, na emergência de novas opções terapêuticas e à instituição de terapêuticas adaptadas ao risco. De facto, novas terapêuticas têm emergido baseadas na definição de alterações citogenéticas e moleculares específicas.⁵⁹

A remissão completa é obtida em aproximadamente 98% das crianças e 85% dos adultos.¹¹

A sobrevivência tem melhorado nas últimas décadas devido ao reconhecimento da heterogeneidade da LLA, da utilização de terapêuticas adaptadas ao risco, e consequentemente, o desenvolvimento de protocolos que incluem a otimização de quimioterapia combinada.¹¹

12. BIBLIOGRAFIA

1. Pinkel D: Historical perspective, in Pui C-H (ed): Childhood Leukemias, Cambridge University Press, pp 3-20, 2006.
2. Patel MI, Ma Y, Mitchell BS, et al: Understanding disparities in leukemia: a national study. *Cancer Causes Control* 23:1831-7, 2012.
3. Borowitz M CJ: B lymphoblastic leukaemia/lymphoma with recurrent genetic abnormalities, in Swerdlow S, et al (eds): WHO Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissue. Lyon, IARC:171-175, 2008.
4. Borowitz M CJ: T lymphoblastic leukemia/lymphoma, in Swerdlow s, et al (eds): WHO Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissue. Lyon, IARC:176-178, 2008.
5. Borowitz M. CJ: B lymphoblastic leukemia/lymphoma, not otherwise specified, in Swerdlow s, et al (eds): WHO Classification of Tumors of the Hematopoietic and Lymphoid Tissue. Lyon, IARC:168-170, 2008.
6. Stock W: Adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program* 2010:21-9, 2010.
7. Stanulla M, Schrappe M: Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 46:52-63, 2009.
8. Graux C: Biology of acute lymphoblastic leukemia (ALL): clinical and therapeutic relevance. *Transfus Apher Sci* 44:183-9, 2011.
9. Pui CH, Jeha S: New therapeutic strategies for the treatment of acute lymphoblastic leukaemia. *Nat Rev Drug Discov* 6:149-65, 2007.
10. Onciu M: Acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 23:655-74, 2009.

11. Rabin KR, Poplack DG: Management strategies in acute lymphoblastic leukemia. *Oncology (Williston Park)* 25:328-35, 2011.
12. Ribera JM, Oriol A: Acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. *Hematol Oncol Clin North Am* 23:1033-42, vi, 2009.
13. Faderl S, O'Brien S, Pui CH, et al: Adult acute lymphoblastic leukemia: concepts and strategies. *Cancer* 116:1165-76, 2010.
14. Bain BJ: *Leukemia Diagnosis* (ed Fourth edition), Wiley-Blackwell, 2010.
15. Pui CH, Robison LL, Look AT: Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet* 371:1030-43, 2008.
16. Spector LG RJ, Robinson LL, et al. : Epidemiology and etiology. , in CH P (ed): *Childhood leukemias* (ed New York: Cambridge University Press), 2006, pp p. 48-66.
17. Richardson RB: Promotional etiology for common childhood acute lymphoblastic leukemia: the infective lymphoid recovery hypothesis. *Leuk Res* 35:1425-31, 2011.
18. Julie A. Ross KJJ, Logan G. Spector, and John H. Kersey: Epidemiology of Acute Childhood Leukemia, in Gregory H. Reaman FOS (ed): *Childhood Leukemia A Practical Handbook*, Springer, pp 3-26, 2011.
19. E.S. Jaffe NLH, H. Stein, E. Campo, S.A. Pileri, S.H. Swerdlow: Introduction and overview of the classification of the lymphoid neoplasms, who classification of tumors of haemopoietic and lymphoid tissues pp 157-166, 2008.
20. Galm O, Herman JG, Baylin SB: The fundamental role of epigenetics in hematopoietic malignancies. *Blood Rev* 20:1-13, 2006.
21. Ayala F, Dewar R, Kieran M, et al: Contribution of bone microenvironment to leukemogenesis and leukemia progression. *Leukemia* 23:2233-41, 2009.

22. Wiemels J: Chromosomal translocations in childhood leukemia: natural history, mechanisms, and epidemiology. *J Natl Cancer Inst Monogr*:87-90, 2008.
23. Wiemels J: Perspectives on the causes of childhood leukemia. *Chem Biol Interact* 196:59-67, 2012.
24. Greaves MF, Maia AT, Wiemels JL, et al: Leukemia in twins: lessons in natural history. *Blood* 102:2321-33, 2003.
25. Urayama KY, Ma X, Selvin S, et al: Early life exposure to infections and risk of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Int J Cancer* 128:1632-43, 2011.
26. Paolini S, Gazzola A, Sabattini E, et al: Pathobiology of acute lymphoblastic leukemia. *Semin Diagn Pathol* 28:124-34, 2011.
27. Sawinska M, Ladon D: Mechanism, detection and clinical significance of the reciprocal translocation t(12;21)(p12;q22) in the children suffering from acute lymphoblastic leukaemia. *Leuk Res* 28:35-42, 2004.
28. Han X, Bueso-Ramos CE: Advances in the pathological diagnosis and biology of acute lymphoblastic leukemia. *Ann Diagn Pathol* 9:239-57, 2005.
29. Pieters R, Carroll WL: Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 24:1-18, 2010.
30. Bacher U, Schnittger S, Haferlach C, et al: Molecular diagnostics in acute leukemias. *Clin Chem Lab Med* 47:1333-41, 2009.
31. Ravandi F, Kebriaei P: Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Hematol Oncol Clin North Am* 23:1043-63, vi, 2009.
32. Sala JPRO: The Biology of Adult Acute Lymphoblastic Leukemia, in Anjali S. Advani HML (ed): *Adult Acute Lymphocytic Leukemia : Biology and Treatment*, 2011.
33. Emerenciano M, Koifman S, Pombo-de-Oliveira MS: Acute leukemia in early childhood. *Braz J Med Biol Res* 40:749-60, 2007.

34. Vrooman LM, Silverman LB: Childhood acute lymphoblastic leukemia: update on prognostic factors. *Curr Opin Pediatr* 21:1-8, 2009.
35. Garcia-Manero G, Yang H, Kuang SQ, et al: Epigenetics of acute lymphocytic leukemia. *Semin Hematol* 46:24-32, 2009.
36. Rowe JM: Prognostic factors in adult acute lymphoblastic leukaemia. *Br J Haematol* 150:389-405, 2010.
37. Jain N, Rossi A, Garcia-Manero G: Epigenetic therapy of leukemia: An update. *Int J Biochem Cell Biol* 41:72-80, 2009.
38. Fabbri M, Croce CM: Role of microRNAs in lymphoid biology and disease. *Curr Opin Hematol* 18:266-72, 2011.
39. Agirre X, Martinez-Climent JA, Odero MD, et al: Epigenetic regulation of miRNA genes in acute leukemia. *Leukemia* 26:395-403, 2012.
40. Mi S, Lu J, Sun M, et al: MicroRNA expression signatures accurately discriminate acute lymphoblastic leukemia from acute myeloid leukemia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:19971-6, 2007.
41. Olga Frankfurt LP, and Martin S. Tallman: Acute Lymphoblastic Leukemia - Clinical Features and Making the Diagnosis, in Anjali S. Advani HML (ed): *Adult Acute Lymphocytic Leukemia : Biology and Treatment. Contemporary Hematology* (ed 2011), Humana Press, pp 9-24.
42. Fullmer A, O'Brien S, Kantarjian H, et al: Novel therapies for relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Curr Hematol Malig Rep* 4:148-56, 2009.
43. Choo-Kang LR, Jones DM, Fehr JJ, et al: Cerebral edema and priapism in an adolescent with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatr Emerg Care* 15:110-2, 1999.
44. Ferrara F, D'Ambrosio V, Di Noto R, et al: Spontaneous splenic rupture in a patient with acute lymphoblastic leukemia of Burkitt type. *Leuk Lymphoma* 29:613-6, 1998.

45. Storti S, Marra R, Pagano L, et al: Emergency abdominal surgery in patients with acute leukemia and lymphoma. *Ital J Surg Sci* 18:361-3, 1988.
46. Pui C-H: Acute lymphoblastic leukemia, in Pui C-H (ed): *Childhood Leukemias* (ed Second edition), cambridge university press, 2006, pp 439-72.
47. Pui CH: Recent research advances in childhood acute lymphoblastic leukemia. *J Formos Med Assoc* 109:777-87, 2010.
48. Pui CH, Relling MV, Downing JR: Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 350:1535-48, 2004.
49. Gokbuget N, Hoelzer D: Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*:133-41, 2006.
50. Gokbuget N: Acute lymphoblastic leukemia in older patients, *Hematology Education: the education program for the annual Congress of the European Hematology Association* pp 20-26.
51. Hamerschlak N: Leukemia: genetics and prognostic factors. *J Pediatr (Rio J)* 84:S52-7, 2008.
52. Pui CH, Evans WE: Treatment of acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med* 354:166-78, 2006.
53. Gokbuget N, Hoelzer D: Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia. *Semin Hematol* 46:64-75, 2009.
54. J.M. Rowe CG: Management of acute lymphoblastic leukemia in adults, *Hematology Education: the education program for the annual Congress of the European Hematology Association* 2011, pp 9-19.
55. Bassan R, Hoelzer D: Modern therapy of acute lymphoblastic leukemia. *J Clin Oncol* 29:532-43, 2011.

56. Stock W: Current treatment options for adult patients with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. *Leuk Lymphoma* 51:188-98, 2010.
57. Ness KK, Armenian SH, Kadan-Lottick N, et al: Adverse effects of treatment in childhood acute lymphoblastic leukemia: general overview and implications for long-term cardiac health. *Expert Rev Hematol* 4:185-97, 2011.
58. Bruwier A, Chantrain CF: Hematological disorders and leukemia in children with Down syndrome. *Eur J Pediatr* 171:1301-7, 2012.
59. Fullmer A, O'Brien S, Kantarjian H, et al: Emerging therapy for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Expert Opin Emerg Drugs* 15:1-11, 2010.
60. Jaffe ES, Harris NL, Stein H, et al: Classification of lymphoid neoplasms: the microscope as a tool for disease discovery. *Blood* 112:4384-99, 2008.
61. Zelent A, Greaves M, Enver T: Role of the TEL-AML1 fusion gene in the molecular pathogenesis of childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Oncogene* 23:4275-83, 2004.
62. Sullivan C, Peng C, Chen Y, et al: Targeted therapy of chronic myeloid leukemia. *Biochem Pharmacol* 80:584-91, 2010.
63. Elaine Coustan-Smith DC: Acute lymphoblastic leukemia, in Erber WN (ed): *Diagnostic Techniques in Hematological Malignancies*, Cambridge University Press, 2010, pp 127-45.
64. Faramarz Naeim PNR, Wayne W. Grody: *The Neoplasms of Precursor Lymphoblasts, Hematopathology Morphology, Immunophenotype, Cytogenetics and Molecular Approaches*, Elsevier, pp 257-77, 2008.

