



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS  
MÉDICAS

**ESTUDO DA RESPOSTA TERAPÊUTICA E PROGNÓSTICO  
DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA  
LINFÓIDE AGUDA COM FUSÕES GÊNICAS EM UM  
HOSPITAL DE REFERÊNCIA DO PARÁ**

Laudreísa da Costa Pantoja

BELÉM-PA  
2017

**LAUDREÍSA DA COSTA PANTOJA**

**ESTUDO DA RESPOSTA TERAPÊUTICA E PROGNÓSTICO  
DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA  
LINFÓIDE AGUDA COM FUSÕES GÊNICAS EM UM  
HOSPITAL DE REFERÊNCIA DO PARÁ**

**PPGOCM  
NPO/UFPA  
2017**



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ  
NÚCLEO DE PESQUISAS EM ONCOLOGIA  
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO JOÃO DE BARROS BARRETO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ONCOLOGIA E CIÊNCIAS  
MÉDICAS

**ESTUDO DA RESPOSTA TERAPÊUTICA E PROGNÓSTICO  
DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA  
LINFÓIDE AGUDA COM FUSÕES GÊNICAS EM UM  
HOSPITAL DE REFERÊNCIA DO PARÁ**

Laudreísa da Costa Pantoja

Dissertação de Mestrado em Oncologia e  
Ciências Médicas do Programa de Pós  
Graduação em Oncologia e Ciências  
Médicas da Universidade Federal do Pará.

Orientador: Prof. Dr. André Salim  
Khayat

BELÉM – PA  
2017

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**  
**Biblioteca da Unidade Hospitalar João de Barros Barreto (UHJBB/EBSERH/UFPA)**

Pantoja, Laudreísa da Costa, 1981-

Estudo da resposta terapêutica e prognóstico de pacientes com diagnóstico de leucemia linfóide aguda com fusões gênicas em um hospital de referência do Pará. / Laudreísa da Costa Pantoja; Orientador, Prof.º Dr.º André Salim Khayat. — 2017.

51 f. : il. ; color. : 30 cm.

Inclui bibliografias.

Dissertação (Mestrado) — Universidade Federal do Pará, Núcleo de Pesquisa em Oncologia, Programa de Pós-Graduação em Oncologia e Ciências Médicas, Belém, 2017.

1. Neoplasias. 2. Leucemia linfóide aguda. 3. Linfoma linfoblástico. I. Khayat, André Salim, *orient.* II. Título.

CDD - 23. ed. 616.99419098115

# FOLHA DE APROVAÇÃO

## ESTUDO DA RESPOSTA TERAPÊUTICA E PROGNÓSTICO DE PACIENTES COM DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA COM FUSÕES GÊNICAS EM UM HOSPITAL DE REFERÊNCIA DO PARÁ

Laudreísa da Costa Pantoja

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Oncologia e Ciências Médicas, área de concentração: Medicina I, do Núcleo de Pesquisas em Oncologia da Universidade Federal do Pará como requisito para a obtenção do título de Mestre em Oncologia e Ciências Médicas. Orientador: André Salin Khayat.

Aprovado em:     /     /2017

### BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Ney Pereira Carneiro dos Santos (NPO e ICB-UFPA)

---

Prof. Dra. Taíssa Thomaz Araújo (NPO – UFPA)

---

Prof. Dr. Rommel Mario Rodríguez Burbano (HOL e ICB-UFPA)

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me ter concedido saúde, oportunidade e a vocação para esta profissão.

Aos meus pais pelo imenso amor, dedicação, paciência, zelo e apoio nas horas mais difíceis. Eles que foram exemplo de força e incentivo para partir em busca de meu crescimento pessoal e profissional;

Ao meu marido Dilson Júnior, pelo apoio, respeito, tolerância, paciência, parceria e por suas palavras e atitudes que sempre me conferiram força e alegria nos momentos em que estas me faltaram;

Ao meu orientador, Dr. André Khayat, minha eterna gratidão pela oportunidade, disponibilidade e pelos seus ensinamentos que foram indispensáveis para o meu crescimento acadêmico e profissional;

Ao Núcleo de Pesquisas em Oncologia da UFPA, onde desenvolvi meu projeto e recebi apoio, atenção e carinho de toda equipe, sem a qual não seria possível atingir o objetivo.

Aos meus colegas de dissertação Fernando Mello e Michelle Abreu que ajudaram e apoiaram a realização desta pesquisa.

Ao Hospital Oncológico Infantil que permitiu a coleta das amostras e a execução desta pesquisa. Especialmente aos funcionários do arquivo de prontuários pela amabilidade e atenção dispensados.

A todos os pequenos pacientes que contribuíram de forma única para esta pesquisa; aos que se encontram curados; aos que continuam lutando; e aos que partiram nesta jornada difícil.

A minha amiga, sócia e irmã Alayde Vieira Wanderley que está sempre ao meu lado incentivando e ajudando nas minhas realizações profissionais e pessoais.

A todos os meus familiares quem sempre me apoiaram na minha carreira e por compreenderem as muitas ausências, em prol do meu estudo e trabalho.

O saber a gente aprende com os mestres e com os livros. A sabedoria, se aprende é com a vida e com os humildes.

(Cora Coralina)

## RESUMO

**Introdução:** A Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é a principal neoplasia que acomete crianças e adolescentes, correspondendo a 25% dos tipos de câncer nesta faixa etária. Trata-se de uma neoplasia do sistema hematopoiético e pode ser classificada por morfologia, imunofenotipagem, citogenética e biologia molecular. Apesar dos avanços no tratamento, até um quarto dos pacientes com LLA ainda apresentam recaída, tendo associação com alterações genéticas recorrentes. Nos últimos anos, esforços intensivos são dedicados para identificar alterações genéticas que contribuam para a leucemogênese, que influenciem a resposta ao tratamento e que possam ser aplicadas na clínica como novas ferramentas de prognóstico e/ou alvos terapêuticos. Neste sentido, este projeto objetiva avaliar a resposta terapêutica e o prognóstico de pacientes com diagnóstico de leucemia linfóide aguda portadoras das principais fusões gênicas que possuem importância de diagnóstico, prognóstico e no direcionamento de ações terapêuticas da LLA como a *TCF3-PBX1*, *MLL-AF4*, *BCR-ABL*, *TEL-AML1* e *SIL-TAL*, em pacientes pediátricos de um centro de referência do Estado do Pará. **Material e Métodos:** As amostras de medula óssea e sangue periférico foram extraídas de 55 pacientes de 0 a 18 anos, portadoras de LLA e realizada coleta de dados do prontuário. As amostras foram submetidas a técnica de RT-PCR para pesquisa das fusões gênicas. **Resultados:** Os pacientes com idade superior a 10 anos foram mais refratários ao tratamento inicial ( $p=0,017$ ). A leucometria inicial apresentou média de 92.235 leucócitos e 35,3% apresentavam leucometria maior 50.000, sendo classificados com alto risco ( $p=0,000$ ) e apresentaram outros fatores de mau prognóstico como faixa etária de pior prognóstico ( $p=0,004$ ) e classificação de Egil de LLA T ( $p=0,001$ ). A frequência de fusões foi de BCR-ABL 11%; MLL-AF4 3,6%; TEL-AML1 7,2%, E2A-PBX1 21,8% e SIL-TAL 5,4%. Os pacientes com fusão TEL-AML1 eram AR em sua maioria ( $p=0,026$ ), os com MLL-AF4 apresentaram OR=1.33 para óbito, e todos foram a óbito ( $p=0,019$ ), e os com SIL-TAL possuíam idade desfavorável ao diagnóstico, ( $p=0,017$ ) e leucometria inicial maior que 50.000 ( $p=0,039$ ). A refratariedade ao tratamento inicial foi de 9%, recidiva 18% e óbito 14,5%, não estando significativamente associada ao gênero, idade, contagem leucocitária ao diagnóstico, linhagem celular ou presença de fusões neste limitado número de pacientes, exceto pela fusão MLL-AF4 em lactentes que apresentou razão de chance para óbito de 1,33 ( $p=0,019$ ) e todos morreram. **Conclusão:** A população estudada possui pior prognóstico mesmo naqueles pacientes com características genéticas favoráveis como a fusão TEL-AML1. Nesta pesquisa a frequência das fusões foi elevada e associada a outros fatores prognósticos como idade maior que 10 anos e hiperleucocitose inicial contribuiu para um pior prognóstico e diminuição da resposta terapêutica. Além disso a fusão MLL-AF4 em lactentes isoladamente apresentou risco elevado para óbito. Os resultados do tratamento em crianças com LLA podem ser reflexo das condições de assistência à saúde, situação socioeconômica e outros fatores genéticos associados.

**Palavras-chaves:** Fusões genicas, LLA, leucemia na criança, prognostico de leucemia, resposta terapêutica de LLA.

## ABSTRACT

**Background:** Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) is the main neoplasia that affects children and adolescents, accounting for 25% of all types of cancer in the age group. It is a hematopoietic system neoplasia, and can be classified by several types of cell morphology, immunophenotyping, cytogenetic and molecular biology. Despite advances in treatment, up to a quarter of patients with ALL are still relapsed, and are associated with recurrent genetic conditions. In recent years, intensive efforts have been devoted to identifying the genetic factors that contribute to a leukemogenesis, influence a response to treatment and which are applied in the clinic as new prognostic tools and/or as new therapeutic targets. In this sense, this project aims to evaluate the therapeutic response and prognosis of patients with acute lymphoblastic leukemia carriers of the main genetic fusions that are believed to play an important role in the diagnosis, prognosis and targeting of therapeutic actions of ALL, such as a TCF3-PBX1, MLL-AF4, BCR-ABL, TEL-AML1 and SIL-TAL, in pediatric patients at a referral center in the State of Pará. **Material and Methods:** Bone marrow and peripheral blood samples were extracted from 55 patients from 0 to 18 years, with ALL, which were also submitted to data collection. Their samples were submitted to RT-PCR technique to investigate the main fusions found in leukemias. **Results:** Patients older than 10 years were more refractory to treatment than the other patients ( $p=0.017$ ). The initial leukometry presented a mean of 92.235 leukocytes and 35.3% presented leukometry greater than 50.000, being a higher risk factor ( $p=0.000$ ) and present other factors of poor prognosis as age group ( $p=0.004$ ) and Egil classification of ALL T ( $p=0.001$ ). The frequency of fusions was BCR-ABL -11%; MLL-AF4 = 3.6%; TEL-AML1 - 7.2%, E2A-PBX1 - 21.8% and SIL-TAL 5.4%. Patients with TEL-AML1 fusion were mostly HR ( $p=0.026$ , OR= 0.82 e IC= 0.68–0.99), those with MLL-AF4 presented a relative risk for death of 1.33, and all died ( $p=0.019$ ), those with SIL-TAL had an unfavorable age at diagnosis (greater than or equal to 10 years) ( $p=0.017$ ) and initial leukometry greater than 50.000 ( $p=0.039$ ). The refractoriness of the initial treatment was 9%, recurrence 18% and death 14.5%, not being significantly associated with gender, age, leukocyte count at diagnosis, cell line or presence of fusions in this limited number of patients, except for the MLL-AF4 fusion that presented a death chance ratio of 1.33 ( $p=0.019$ ) and all patients died. **Conclusion:** The population studied has a worse prognosis even in those patients with favorable genetic characteristics such as TEL-AML1 fusion. The frequency of fusions in this research was high, and associated with other prognostic factors such as age greater than 10 years and initial hyperleukocytosis contributed to a worse prognosis and decrease of the therapeutic response and in addition, MLL-AF4 fusion in infants alone presented a high risk for death. The outcomes in children with ALL may be a reflection of health care conditions, socioeconomic status, and other associated genetic factors.

**Keywords:** Genetic fusions, ALL, leukemia in the child, prognosis of leukemia, therapeutic response of ALL.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Distribuição do Câncer Infantil no Brasil	7
<b>Figura 2</b> - Etiologia multifatorial da LLA	9
<b>Figura 3</b> - Esquema de desenvolvimento das células B e T, com seus respectivos antígenos de acordo com os diferentes estágios de maturação celular	14
<b>Figura 4</b> - Sobrevida de pacientes de LLA nos últimos anos	18
<b>Figura 5</b> - Faixa Etária dos pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda do HOIOL	24
<b>Figura 6</b> - Distribuição percentual por gênero das crianças portadoras de LLA do HOIOL	25
<b>Figura 7</b> - Distribuição percentual por subtipos de LLA das crianças portadoras de LLA do HOIOL	25
<b>Figura 8</b> - Relação entre leucometria inicial e idade ao diagnóstico	26
<b>Figura 9</b> - Distribuição percentual de resposta inicial ao tratamento das crianças portadoras de LLA do HOIOL	28
<b>Figura 10</b> - Distribuição percentual de recidivas das crianças portadoras de LLA do HOIOL. Fonte: Ambulatório do HOIOL	29

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Classificação LLA B - OMS.	10
<b>Tabela 2</b> - Classificação de risco das crianças portadoras de LLA do HOIOL.	27
<b>Tabela 3</b> - Distribuição das fusões encontradas nas crianças portadoras de LLA do HOIOL	27
<b>Tabela 4</b> - Causa de óbitos nas crianças portadoras de LLA do HOIOL	29

## SUMÁRIO

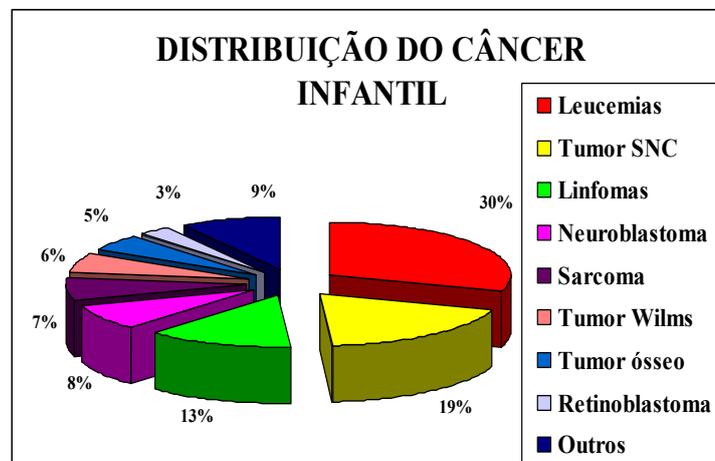
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	<b>9</b>
<b>1.1</b>	<b>Considerações gerais</b> .....	<b>9</b>
<b>1.2</b>	<b>Etiologia</b> .....	<b>10</b>
<b>1.3</b>	<b>Classificação OMS</b> .....	<b>11</b>
1.3.1	<i>BCR-ABL</i> .....	12
1.3.2	<i>MLL-AF4</i> .....	13
1.3.3	<i>TEL-AML1</i> .....	13
1.3.4	<i>E2A3-PBX1</i> .....	14
1.3.5	<i>SIL-TAL</i> .....	15
<b>1.4</b>	<b>Classificação de Egil</b> .....	<b>15</b>
<b>1.5</b>	<b>Diagnóstico e Prognóstico</b> .....	<b>16</b>
<b>1.6</b>	<b>Tratamento da LLA</b> .....	<b>19</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVO</b> .....	<b>23</b>
<b>2.1</b>	<b>Objetivo Geral</b> .....	<b>23</b>
<b>2.2</b>	<b>Objetivos Específicos</b> .....	<b>23</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODO</b> .....	<b>24</b>
<b>3.1</b>	<b>Aspectos Gerais</b> .....	<b>24</b>
<b>3.2</b>	<b>Amostra</b> .....	<b>24</b>
<b>3.3</b>	<b>Coleta de Dados</b> .....	<b>25</b>
<b>3.4</b>	<b>Desenho Experimental</b> .....	<b>25</b>
<b>3.5</b>	<b><i>RT-PCR</i></b> .....	<b>25</b>
<b>3.6</b>	<b>Leucometria e DHL</b> .....	<b>26</b>
<b>3.7</b>	<b>Resposta Terapêutica</b> .....	<b>26</b>
<b>3.8</b>	<b>Análise Estatística</b> .....	<b>27</b>
<b>4</b>	<b>Resultados</b> .....	<b>28</b>
<b>5</b>	<b>Discussão</b> .....	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO</b> .....	<b>38</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	<b>39</b>
	<b>APÊNDICE A – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS</b> .....	<b>49</b>
	<b>ANEXO A</b> .....	<b>50</b>

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Considerações gerais

O câncer corresponde a um grupo de várias doenças que têm em comum a proliferação descontrolada de células anormais e que pode ocorrer em qualquer local do organismo. Os tumores mais frequentes na infância e na adolescência (câncer infantojuvenil - 0 a 19 anos de idade) são as leucemias, os do sistema nervoso central e linfomas (Figura 1) (INCA, 2016). Cânceres nesta faixa etária são considerados eventos raros quando comparado ao câncer de adulto, pois correspondem de 1% a 2% de todas as neoplasias malignas no Brasil (INCA, 2014). Segundo o INCA (2016), este problema ainda representa a primeira causa de morte por doença em crianças e adolescentes de 1 a 19 anos (7% do total), para todas as regiões do Brasil, com estimativa de 12.600 casos novos para o ano de 2016 e de 2017.

A leucemia é o tipo mais comum de câncer em pacientes menores de 15 anos de idade em diversos países, correspondendo a 25% dos tipos de câncer nesta faixa etária (JATANIAH et al., 2015), havendo variações em regiões demográficas relacionadas à miscigenação populacional, indicadores sócio econômicos, etnias e fatores ambientais (REIS et al., 2011).



**Figura 1** - Distribuição do câncer infantil no Brasil.

Fonte: SOBOPE, (2012).

Dados de registros populacionais do INCA de 2010 revelam que a Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) é a principal neoplasia que acomete crianças e

adolescentes. Na região norte, no Estado do Pará, estimam-se 250 novos casos em 2012 (INCA, 2012), e mais especificamente na região metropolitana de Belém, a LLA representa 39% dos casos de câncer infantojuvenil sendo esta taxa elevada quando comparada ao restante do país (INCA, 2014). Segundo o INCA (2016) a estimativa de casos novos de câncer em crianças e adolescentes seria de 276 casos no Estado do Pará, porém no Hospital de referência onde foi realizada esta pesquisa houveram 410 casos suspeitos, sendo confirmados 175 casos de LLA no ano de 2016 (PRO SAUDE, 2016).

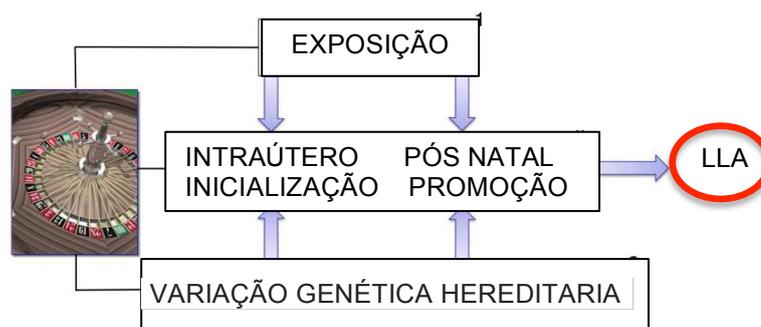
A LLA acomete geralmente a faixa etária de 1 a 4 anos (USCS, 2012), com predominância no sexo masculino (REIS et al, 2011) e na raça branca (ASTER, 2010). Ainda existe uma forte associação entre fator socioeconômico e LLA que foi descrita em vários estudos com interferência direta nos índices nas taxas de cura (POOLE et al, 2005).

## **1.2 Etiologia**

A LLA é uma neoplasia do sistema hematopoiético, definida como uma expansão clonal de uma célula anormal precursora de linfócitos (B e/ou T), desencadeando um bloqueio da diferenciação destas células, logo ocorre superprodução de formas mais jovens, os linfoblastos, sendo que os eventos que levam a transformação maligna são complexos e multifatoriais, com diversos fatores influenciando o surgimento desta doença (PIZZO e POPLACK, 2011). Este processo de formação de células jovens ainda é sustentado por mecanismos de resistência à destruição dos linfoblastos, como resistência à apoptose gerando perpetuação da doença oncológica e imortalização do blasto (PUI e EVANS, 2006).

O fator genético tem um papel importante na etiologia da LLA, tendo em vista a associação de anormalidades cromossômicas constitucionais em várias síndromes (Síndrome de Down, Síndrome de Bloom, Anemia de Fanconi) com aumento de risco de aparecimento de LLA (LINABERY e ROSS, 2008) além da ocorrência de leucemia familiar, da alta incidência de leucemia em gêmeos idênticos e da observação de anormalidades cariotípicas e moleculares na maioria das células leucêmicas de indivíduos com LLA (PUI; ROBISON; LOOK, 2008). Estudos recentes demonstram a detecção de polimorfismos em genes ligados à sinalização e

proliferação celular, que conferem aumento na suscetibilidade a desenvolver LLA, como *ARID5B*, *IKZF1*, *CEBPE* (PUI e EWANS, 2013). Fatores ambientais (radiação ionizante, Raio-X, agrotóxicos), fatores infecciosos (infecção viral) e imunodeficiências também estão implicados na etiopatogenia da LLA. Assim como em outros tipos de câncer, a LLA é provável que ocorra por interação entre fatores exógenos ou exposições endógenas (inflamação, estresse oxidativo...) no período intraútero e/ou pós natal, suscetibilidade genética (herdada) e o acaso (INABA; GREAVES; MULLIGHAN, 2013).



**Figura 2** – Etiologia multifatorial da LLA.  
**Fonte:** INABA (2013).

### 1.3 Classificação OMS

A Organização Mundial de Saúde em 2001 classificou a LLA em dois grandes grupos: leucemia linfoblástica aguda de precursor B, que corresponde a 80% dos casos, e leucemia linfoblástica aguda de precursor T que corresponde a 10-15% dos casos, utilizando dados de imunofenotipagem e em 2008, definiu duas alterações no diagnóstico e classificação das neoplasias de células precursoras B e T. A nomenclatura mudou de “leucemia linfoblástica de precursor B/linfoma” e “leucemia linfoblástica de precursor T/linfoma” para “Leucemia linfoblástica B/linfoma” e “Leucemia linfoblástica T/linfoma” (VARDIMAN et al., 2009).

A classificação atualmente também é baseada nas alterações genéticas, sendo categorizada em diferentes subtipos, de modo que a Leucemia linfoblástica B/linfoma é classificada em 8 subtipos diferentes que são definidas principalmente por anormalidades cromossômicas recorrentes e específicas (Tabela 1) (VARDIMAN et al, 2009). A leucemia linfoblástica T/linfoma apresenta anormalidades mais comuns a fusão gênica *SIL-TAL1* e expressão ectópica *HOX11L2* (BHOJWANI;

YANG; PUI, 2015), porém como o significado patogenético dessas anormalidades ainda não está claro, esse subtipo de leucemia não é subclassificado de acordo com a alteração genética (ZERBINI et al, 2011).

**Tabela 1** – Classificação LLA B - OMS.

Leucemia linfoblástica B/linfoma com t(9;22) (q34;q11.2)	<i>BCR-ABL 1</i>
Leucemia linfoblástica B/linfoma com t(v;11q23)	rearranjo <i>MLL</i>
Leucemia linfoblástica B/linfoma com t(12;21)(p13;q22)	<i>TEL-AML1 (ETV6RUNX1)</i>
Leucemia linfoblástica B/linfoma com hiperdiploidia	> 47-50 cromossomos
Leucemia linfoblástica B/linfoma com hipodiploidia	< 47 cromossomos
Leucemia linfoblástica B/linfoma com t(5;14)(q31;q32)	<i>IL3-IGH</i>
Leucemia linfoblástica B/linfoma com t(1;19)(q23;p13.3)	<i>E2A-PBX1(TCF3-PBX1)</i>
Leucemia linfoblástica B/linfoma sem outras especificações	Sem outras alterações

**Fonte:** VARDIMAN (2009).

As principais fusões gênicas encontradas, que se acredita ter um importante papel no diagnóstico, prognóstico e no direcionamento de ações terapêuticas, são: *BCR-ABL*, *MLL-AF4*, *TEL-AML1*, *E2A-PBX1* e *SIL-TAL*.

### 1.3.1 *BCR-ABL*

O gene *Breakpoint Cluster Region* (BCR) está presente no cromossomo 22 e apresenta 23 éxons. Embora sua função ainda não esteja clara, sabe-se que este gene codifica uma proteína com atividade de serina/treoninacina (NCBI, 2016) e parece ser um regulador negativo de *BCR-ABL* (WU et al., 1999).

O gene Abelson Tyrosinekinase (ABL) está inserido no cromossomo 9 e é constituído por 11 éxons. Esse gene codifica uma proteína citoplasmática e nuclear com atividade de tirosina cinase que tem influência em processos de diferenciação, divisão e adesão celular, além de resposta a estresse. A sua atividade é regulada pelo seu domínio SH3, e a deleção desse domínio transforma *ABL* em um oncogene (NCBI, 2016).

A translocação cromossômica envolvendo esses dois genes, t(9;22) (q34;q11), gera uma fusão genética conhecida como cromossomo Philadelphia (Ph) e está presente em 3% a 5% dos casos de LLA-B pediátrica (RIZZATTI e ZAGO, 2002). Nessa malignidade, a presença de *BCR-ABL* é associada a crianças com maior idade, alta contagem de leucócitos e infiltração leucêmica de SNC ao diagnóstico (CRIST et al, 1990). A translocação ativa múltiplas vias de sinalização, aumenta a proliferação celular e desregula a diferenciação e adesão (DUY, 2011).

Historicamente, essa anomalia vem sendo associada a um prognóstico extremamente ruim (ARICÓ et al, 2010). Porém, com o uso de inibidores de tirosina cinase, como o mesilato de imatinib (Gleevec) associado a poliquimioterapia é observado taxa de remissão superior a 90% e aumento da sobrevida livre de eventos, logo melhorando o prognóstico dos pacientes (INABA; GREAVES; MULLIGHAN, 2013).

### 1.3.2 *MLL-AF4*

O gene Mixed Lineage Leukemia (*MLL*), composto por 36 éxons, codifica um coativador transcricional que desempenha papel essencial na regulação da expressão gênica durante os estágios iniciais de desenvolvimento e hematopoese (NCBI, 2016).

O gene *AF4* está localizado no cromossomo 4 e é composto por 20 éxons. Pouco se sabe sobre as funções do gene *AF4*, porém em um estudo feito por Isnard et al (2000) o *knockout* desse gene em ratos sugeriu que sua função está na codificação de um fator de transcrição putativo, envolvido na ontogenia da linhagem linfóide.

A translocação t(4;11)(q21;q23), com a fusão *MLL-AF4* é conhecida por ser a mais prevalente translocação envolvendo *MLL* em LLAs-B de lactentes (SZCZEPANSKI, 2007), aparecendo em 50-70% neste grupo de pacientes (BIZARRO et al, 2007), e está associada a um mau prognóstico (HEEREMA et al, 1999). Um estudo *in vitro* mostrou que leucemias positivas para esta translocação apresentam maior resistência a morte celular induzida por estresse, o que pode contribuir para esse mau prognóstico (KERSEY; WANG; OBERTO, 1998).

### 1.3.3 *TEL-AML1*

O gene *TEL*, também conhecido como *ETs Variant6 (ETV6)*, está presente no cromossomo 12 e é composto por 8 éxons. Esse gene codifica um fator de transcrição da família ETS que contem dois domínios funcionais: o domínio N-terminal *pointed* (PNT) que está envolvido na interação proteína-proteína, e o domínio C-terminal de ligação ao DNA. Estudos sugerem que *TEL* é necessário a hematopoese e a manutenção do desenvolvimento de redes vasculares (NCBI, 2016).

O gene *AML1*, também conhecido como *Runt-related Transcription Factor1(RUNX1)*, está presente no cromossomo 21 e apresenta 9 éxons. A proteína codificada por *AML1* compõe a subunidade alpha de *Core Bindingfactor* (CBF), um fator de transcrição heterodimérico, que está envolvido no desenvolvimento hematopoiético normal (NCBI, 2016).

A translocação cromossômica envolvendo os genes *TEL* e *AML1*, t(12;21)(p13;q22), é a mais frequente em pacientes de LLA-B pediátrica, sendo observada em aproximadamente 25% dos casos e está relacionada com prognóstico favorável (STAMS, 2005). A proteína TEL-AML1 pode perturbar a expressão de genes regulados por *AML1*, transformando esse gene em um repressor transcricional (HIEBERT et al, 1996) e a perda do alelo normal do gene *TEL* frequentemente acompanha a fusão TEL-AML1 em casos de LLA, sugerindo que os efeitos leucemogênicos ocasionados por essa fusão ocorrem, em partes, devido à perda de função da proteína TEL normal (TAKEUSHI et al, 1997).

#### 1.3.4 *E2A3-PBX1*

A translocação t(1;19)(q23;p13.3) em leucemia linfóide aguda foi identificada citogeneticamente pela primeira vez em 1984 (CARROL et al, 1984). Tal anomalia é observada em diferentes tipos de LLA-B, é associada a um mau prognóstico (SCHULTZ et al, 2007) e está presente em 5% a 6% de todos os tipos de LLA, sendo que, entre crianças com LLA pré-B, representa 25% a 30% dos casos (Biondi, 1998).

O gene *Transcription factor3 (TCF3)*, também conhecido como *E2A*, apresenta 19 éxons (NCBI, 2016) e codifica duas proteínas, E12 e E47, que são fatores de transcrição do tipo *basic helix-loop-helix* (bHLH) (BURMEISTER, 2010). As proteínas E ativam a transcrição por ligação a sequências regulatórias E-box de genes alvos como heterodímeros ou homodímeros, e são inibidas por heterodimerização com proteínas *helix-loop-helix* inibidoras de ligação ao DNA. Além disso, as proteínas E desempenham importante papel na linfopoese, sendo necessárias para o desenvolvimento de linfócitos B e T (NCBI, 2016).

O gene *Pre-B-cell leukemia homeobox1 (PBX1)* apresenta 9 éxons (NCBI, 2016) e codifica uma família de proteínas caracterizadas pela inserção de três resíduos na primeira *helix* do homeodomínio (BERTOLINO et al, 1995). A proteína

PBX1 interage com homeodomínios de proteínas nucleares, como HOX, formando complexos transcricionais heterodiméricos (KNOEPFLER e KAMPS, 1995), que controlam a expressão de diversos genes envolvidos no desenvolvimento de células hematopoiéticas.

A proteína TCF3-PBX1 fusionada age como um ativador transcricional, capaz de gerar transformação celular (KAMPS et al, 1990). Essa ação se dá devido às proteínas HOX direcionarem TCF3-PBX1 a sítios do DNA normalmente reconhecidos pelos complexos HOX-PBX1. Com isso, a proteína fusionada pode interferir na diferenciação hematopoiética, devido perturbação de padrões de expressão gênica, normalmente regulados pelas proteínas HOX (LU e KAMPS, 1997).

#### 1.3.5 *SIL-TAL*

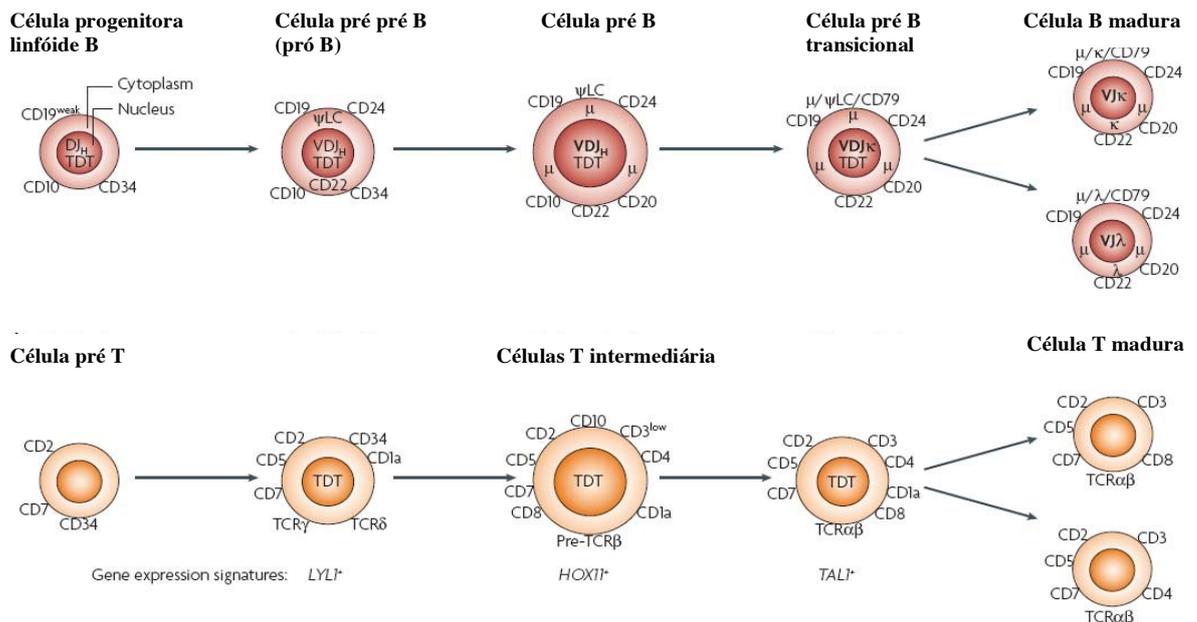
O gene *SCL Interruptinglocus (SIL)* está presente no cromossomo 1 e é composto por 17 éxons. Tal gene codifica uma proteína citoplasmática responsável pela regulação de *checkpoints* do fuso mitótico, uma via regulatória que monitora a segregação cromossômica durante a divisão celular, garantindo a distribuição apropriada de cromossomos às células filhas. Deleções cromossômicas que fusionam esse gene a um locus adjacente, geralmente ocorrem em 9% a 26% das leucemias de células T (NCBI, 2016).

O gene *TAL1 (T-cell acute leukemia)* está presente no cromossomo 1, aproximadamente 90 Kb *downstream* a *SIL* (BROWN et al, 1990), e é composto por 8 éxons, sendo os quatro primeiros, éxons alternativos (1a, 1b, 2a e 2b) (VAN DOGEN et al, 1999). Esse gene, em particular os éxons 4-6, codifica uma proteína, que corresponde a um fator de transcrição do tipo *basic helix-loop-helix* (bHLH). A proteína TAL1 pode heterodimerizar com outros fatores de transcrição e é essencial ao desenvolvimento de linhagens hematopoiéticas (BEGLEY e GREEN, 1999).

### 1.4 Classificação de EGIL

A classificação de EGIL, proposta em 1995 pelo Grupo Europeu para caracterização imunológica das leucemias se baseia no perfil imunofenotípico das células leucêmicas em concordância com aspectos morfológicos e tem como

objetivo estabelecer as diretrizes desta classificação baseado na expressão de marcadores, e uniformizar o diagnóstico dos vários tipos de doenças hematológicas nos diversos centros de diagnóstico (BENE et al, 1995). Estas expressões passam a prever, a partir dos fenótipos B ou T que as alterações biológicas associadas à resposta terapêutica, monitorização de doença residual mínima e estratificação em grupos de maior ou menor risco são bem mais importantes que critérios apenas morfológicos (GIL, 2011).



**Figura 3-** Esquema de desenvolvimento das células B e T, com seus respectivos antígenos de acordo com os diferentes estágios de maturação celular.

**Fonte:** PUI e JEHA, (2007).

As LLAs-B foram divididas em subgrupos, de acordo com os estágios de diferenciação normal dos progenitores B na medula óssea (FARIAS, 2004) e de acordo com os antígenos expressos (GORCZYCA, 2008), em pró-B, comum, pré-B e B-maduro e as LLAs-T dividem-se em três subgrupos, de acordo com os antígenos correspondentes aos níveis de diferenciação normais: pré-T, T intermediário e T maduro (FARIAS, 2004) (Figura 3).

### 1.5 Diagnóstico e Prognóstico

O diagnóstico de LLA é baseado na citomorfologia, imunofenotipagem, citogenética e caracterização molecular das células leucêmicas (PUI et al, 2008). A

partir das características dos blastos leucêmicos procede-se a classificação dos subtipos de LLA e a escolha da terapêutica adequada.

O diagnóstico morfológico é baseado na presença de 25% ou mais de células com característica morfológica de blastos leucêmicos, classificados em L1, L2 e L3 de acordo com a classificação French-American-British (FAB), onde L1 corresponde a células primitivas imaturas uniformes, pequenas, com citoplasma escasso e núcleo arredondado ou fendido, geralmente com um nucléolo; as células de L2 variam consideravelmente de tamanho e quantidade de citoplasma e possuem a proporção de núcleo/citoplasma raramente tão elevada como em L1 e os nucléolos são variados quanto a forma e frequência, porém geralmente contém muitos nucléolos; e as L3 são células primitivas imaturas com citoplasma azul intenso, contendo numerosos vacúolos perinucleares pequenos (VARDIMAN et al, 2008).

As técnicas de RT-PCR, FISH/MLPA e citometria de fluxo são utilizadas para identificar as translocações específicas de leucemia, anormalidades cromossômicas submicroscópicas, e o DNA celular, respectivamente (INABA, 2013).

Na LLA diversos fatores prognósticos de sobrevida são bem estabelecidos como a idade, pois pacientes que possuem idade entre 1 e 10 anos apresentam maior sobrevida; e contagem leucocitária ao diagnóstico, já que pacientes com mais que 50.000 leucócitos apresentam pior prognóstico, comprometendo a sobrevida, principalmente entre os pacientes com LLA B-derivada. Outras variáveis relacionadas com alterações genéticas nas células leucêmicas e a resposta inicial ao tratamento são de extrema importância, porém a melhoria do tratamento está amenizando a força prognóstica de muitas variáveis clínicas e biológicas que previamente eram relacionadas com a evolução do paciente (PUI et al, 2006).

Dentre os subtipos imunológicos de LLA B, o tipo comum (Calla) expressa CD10, o que causa um impacto favorável no prognóstico e a LLA T possui pior prognóstico devido a associação com fatores desfavoráveis como sexo masculino, leucometria inicial elevada e presenças de massa mediastinal e envolvimento de SNC ao diagnóstico (GIL, 2011).

A idade ao diagnóstico tem um forte significado prognóstico, refletindo diferentes biologias subjacentes de LLA em diferentes faixas etárias. Em crianças com 1 a 9 anos a ocorrência de melhor prognóstico é parcialmente explicado pela ocorrência mais frequente de características citogenéticas favoráveis em blastos

leucêmicos, incluindo hiperdiploidia e / ou trissomias cromossômicas favoráveis, ou o ETV6-RUNX1; t(12; 21), também conhecida como translocação TEL- AML1 (MÖRICKE, 2005).

Estudos retrospectivos demonstram que entre adolescentes de 15 a 20 anos de idade tratados com protocolos pediátricos, a taxa da sobrevida livre de eventos é maior quando comparada com pacientes do mesmo grupo etário tratados com protocolos de adultos (DE BONT et al, 2004).

O sexo masculino é mais acometido pela LLA e está associado a um pior prognóstico devido a este gênero estar ligado com a maior incidência de imunofenótipo T e index DNA desfavorável (hipodiploidia) (PUI; RELLING; DOWNING, 2004).

O nível de DHL (enzima desidrogenase láctica) em crianças com LLA é um marcador prognóstico isolado e sua dosagem precoce pode ser útil na identificação de grupo de pacientes com alto risco de recaída, segundo Pui et al (1985), tendo em vista que não é encontrado em grupo de pacientes com baixo e médio risco de recaída (HIÇSÖNMEZ; CAGLAR; RENDA, 1985). Segundo Rozovski (2015), o nível de DHL elevado no momento do diagnóstico em pacientes com leucemia mielóide aguda, foi um indicador prognóstico independente, provavelmente porque refletia o burden tumoral, bem como observado na LLA, principalmente associada a hiperleucocitose, que é fator de risco para recidiva (ZHENG et al, 2015).

Outro fator prognóstico importante na LLA é a pesquisa de Doença Residual Mínima (DRM), que quando detectável após o indução da remissão, está associada a alto risco de recorrência da leucemia (PUI, 2000).

As alterações genéticas observadas nas células leucêmicas têm relevante significado diagnóstico e prognóstico (ARMSTRONG et al, 2005), como na LLA-B, na qual é observado que, em relação as fusões e alterações numéricas, a hiperdiploidia (uma alteração cromossômica numérica, na qual as células apresentam 47-65 cromossomos) e a presença do gene de fusão *TEL-AML1*, apresentam prognóstico altamente favorável (FALCÃO et al, 2002; ARMSTRONG e LOOK, 2005). Cabe ressaltar que a hiperdiploidia é comum em LLA do tipo pré-B, sendo encontrada em aproximadamente 20% de pacientes pediátricos, logo possui prognóstico mais favorável que as demais leucemias (LEE et al, 1998).

Por outro lado, alterações como a hipodiploidia (anormalidade cromossômica numérica, na qual o número modal de cromossomos é de até 45), translocação t(4;11) e t(9;22) tem prognóstico reservado (FALCÃO et al, 2002; ARMSTRONG e LOOK, 2005). Os casos de hipodiploidia com menos de 44 cromossomos estão presentes em até 3% de LLAs infantis e são associados a um alto risco de baixa eficiência do tratamento (HARRISON et al, 2009).

No que concerne à idade dos pacientes, em associação com o tipo de fusão, entre os pacientes com a fusão *MLL-AF4*, os lactentes tem evolução clínica consideravelmente pior que as crianças maiores (PUI et al., 2004); já entre os pacientes com t(9;22), aqueles com idade entre 1 a 9 anos, têm melhor prognóstico que os adolescentes com a mesma doença (ARICÓ et al, 2000).

Os indivíduos com LLA-B apresentando t(1;19) são correlacionados com a presença de características de alto risco clínico, como elevada contagem celular, altos níveis de DHL e envolvimento do sistema nervoso central (VAN DONGEN et al, 1999).

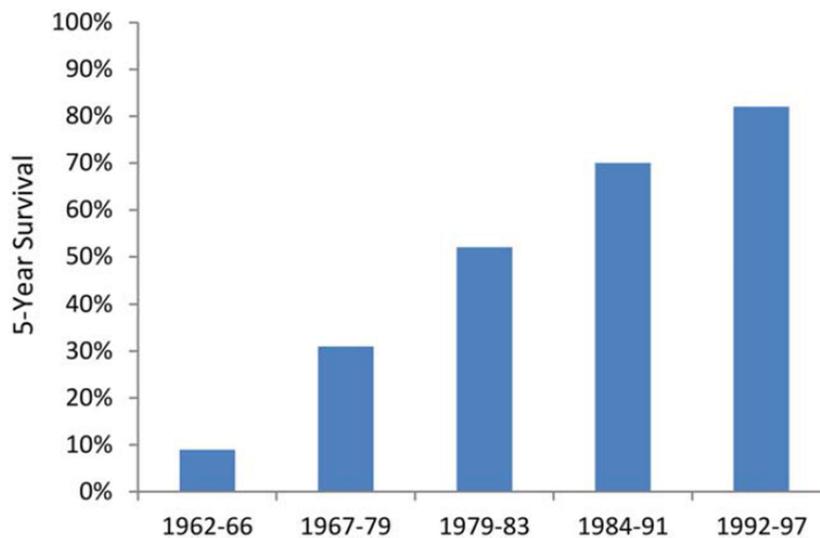
Em relação às leucemias de células T, as que apresentam t(11;19) com a fusão *MLL-ENL* e superexpressão do gene *HOX11*, tem bom prognóstico (FERRANO et al, 2006).

Em estudo realizado por Mello Júnior (2014), em pacientes de um hospital de referência do Estado do Pará (Brasil) foi observado a presença de fusão *SIL/TAL* em grande parte de pacientes com LLA atendidos em Belém, o que contribuiu para detectar um fator prognóstico de suma importância, além disto, pacientes que apresentaram a fusão *BCR/ABL* e que inicialmente foram classificados como de baixo risco para recaída, receberam terapêutica modificada baseado nesta informação, com conseqüente melhora clínica e resposta terapêutica adequada.

## **1.6 Tratamento da LLA**

O progresso no tratamento do câncer na infância e na adolescência foi extremamente significativo nas últimas décadas, sendo que hoje no Brasil, cerca de 70% das crianças e adolescentes acometidos de câncer podem ser curados (INCA, 2016), e em países desenvolvidos estima-se uma taxa de cura de até 90%, resultante da realização de diagnóstico precocemente e tratamento em centros

especializados, além do crescimento do conhecimento a respeito da gênese da LLA nos últimos 50 anos. Em decorrência destes fatores a maioria dos sobreviventes de câncer terá boa qualidade de vida após o tratamento adequado. (Figura 4) (ADAMSON, 2015).



**Figura 4** – Sobrevida de pacientes de LLA nos últimos anos.

**Fonte:** Adamson ( 2015).

As altas taxas de cura estão sendo atingidas a partir da utilização de medicações (poliquimioterapia) descobertas antes da década de 1980, porém com doses e combinações mais efetivas. Estas modificações são baseadas na identificação dos grupos de risco e estratificação da terapia por meio de alterações genéticas e moleculares detectáveis nas células blásticas, tais como fusões gênicas, e fatores prognósticos do paciente que direcionam para o tratamento mais adequado (STARY et al, 2014).

De maneira geral os regimes terapêuticos para LLA são realizados por grupos cooperativos multicêntricos de vários países, como exemplo protocolo do Grupo de Estudo para LLA Berlim-Frankfurt-Muenster (BFM), o protocolo do Grupo Brasileiro para Tratamento de Leucemia Linfóide Aguda na Infância (GBTLI), o protocolo da Associação Italiana de Hematologia e Oncologia Pediátrica para LLA (AIEOP), o protocolo St. Jude Children’s Research Hospital (SJCRH) entre outros.

O protocolo BFM divide os grupos em risco *standard* ou baixo, médio ou intermediário e alto risco baseado na resposta a prednisona, idade, contagem

leucocitária, imunofenotipagem e genética molecular. Para a classificação de risco *standard*, é necessária a presença de todos os seguintes critérios: idade > 1 ano e < 6 anos ao diagnóstico; < 20.000 leucócitos/ $\mu$ l ao diagnóstico; ausência de imunologia de células T; ausência de t(9;22) ou de recombinação BCR-ABL; ausência de t(4;11) ou de recombinação MLL-AF4; < 1.000 blastos/ $\mu$ l no sangue periférico no D8; e remissão completa no D33. Para a classificação de risco intermediário, é preciso haver a presença de todos os seguintes critérios: ausência de t(9;22) ou de recombinação BCR-ABL; ausência de t(4;11) ou de recombinação MLL-AF4; < 1.000 blastos/ $\mu$ l no sangue periférico no D8; e remissão completa no D33. Além disso, deve haver, pelo menos, um dos seguintes critérios: idade < 1 ano ou > 6 anos ao diagnóstico; contagem > 20.000 leucócitos/ $\mu$ l ao diagnóstico. Para a classificação de alto risco, cada um dos seguintes critérios, isoladamente, independentemente da idade e da contagem de leucócitos inicial, é necessário: contagem de blastos >1.000/ $\mu$ l no D8; ausência de remissão completa no D33; presença de t(9;22) ou de recombinação BCR-ABL; ou presença de t(4;11) ou de recombinação MLL-AF4 (ALL IC BFM 2002).

No seu último estudo que teve duração de 5 anos e 5060 pacientes, obteve uma sobrevida livre de eventos e global em 5 anos de 74% e 82% para todos os grupos de risco, sendo de 81% e 90% para o risco *standard*; 75% e 83% para o risco intermediário; e de 55% e 62% para o grupo de alto risco respectivamente (STARY, 2014).

O tratamento da LLA é realizado em fases, sendo que cada uma possui peculiaridades (indução, consolidação, reindução e manutenção), porém com um mesmo objetivo de levar e manter o paciente em remissão. A primeira fase ou fase de indução tem como objetivo levar à remissão clínica e medular, que é definida como ausência de sinais de leucemia no exame físico; laboratorialmente em sangue periférico e de medula óssea com menos de 5% de linfoblastos e avaliação da DRM negativa realizada através de técnicas imunológicas ou através da biologia molecular (FRONKOVA et al, 2008). Nesta fase e na fase de reindução são utilizados diversas drogas com mecanismos de ação diferentes como os Glicocorticóides (prednisona e/ou dexametasona), alcaloide da vinca (vincristina/vimblastina), antracíclicos (daunorrubicina e/ou doxorubicina), L asparaginase, agente alquilante (ciclofosfamida ou ifosfamida) e agentes antimetabólitos

(mecaptopurina, tioguanina e citarabina). Na consolidação são administrados fármacos antimetabólitos, geralmente Metotrexato (MTX) e 6-mercaptopurina (6-MP). A fase de Intensificação tardia ou tratamento da manutenção pode variar de acordo com a estratificação do paciente (NACHMAN et al, 1998).

Apesar do aumento nas taxas de cura, excedendo 80% nos Estados Unidos (PUI et al, 2009), até um quarto dos pacientes ainda apresentam recaída, o que acarreta um mau prognóstico (NGUYEN et al, 2008). A LLA é caracterizada por alterações genéticas recorrentes, como aneuploidias e rearranjos estruturais que estão associadas com alto risco de recaída. Com isso, nos últimos anos, esforços intensivos vêm sendo dedicados ao uso de perfis genômicos de alta resolução com finalidade de identificar alterações genéticas que contribuam para a leucemogênese, que influenciem a resposta ao tratamento e que possam ser aplicadas na clínica como novas ferramentas de prognóstico e alvos terapêuticos (MULLIGHAN, 2013).

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Avaliar a resposta terapêutica e o prognóstico de pacientes com diagnóstico de leucemia linfóide aguda portadoras das principais fusões gênicas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

Identificar as fusões *BCR-ABL*, *MLL-AF4*, *TEL-AML1*, *TCF3-PBX1* e *SIL-TAL* em pacientes infantojuvenis com LLA.

Correlacionar os resultados encontrados nestas análises e avaliar associação dos mesmos com características clinico-patológicas e prognósticas das LLA estudadas;

Investigar se há semelhanças ou diferenças na resposta terapêutica e prognóstico entre os pacientes infantojuvenis conforme a idade ao diagnóstico.

Analisar a respostas terapêutica inicial nos pacientes de LLA independente de uso prévio de corticosteroides.

### **3 MATERIAL E MÉTODO**

#### **3.1 Aspectos gerais**

Foi realizado um estudo observacional, descritivo, transversal, em pacientes pediátricos portadores de LLA atendidos no Hospital Oncológico Infantil Octávio Lobo na cidade de Belém do Pará no ano de 2016.

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa (CEP) em Seres Humanos do Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará (Anexo 1).

#### **3.2 Amostra**

A população de estudo é composta de pacientes de 0 a 18 anos, portadoras de LLA atendidos em um hospital de referência em oncologia na cidade de Belém, em 2016, com diagnóstico morfológico de LLA por aspirado de medula óssea através da classificação French-American-British (FAB) e/ou imunofenotipagem de sangue periférico ou de medula óssea com características de linhagem celular derivado de linfócitos precursores B ou T.

Foram excluídos do estudo paciente acima de 18 anos de idade; com diagnóstico de outras leucemias; e aqueles que abandonaram o tratamento ou foram transferidos para outro serviço de oncologia.

Foram avaliados 55 pacientes neste estudo e estes foram categorizados entre leucemias linfoblásticas de precursores B e T; pacientes infantis e juvenis categorizados em menores de 1 ano e maiores de 10 anos e pacientes de 1 a 10 anos, sexo masculino ou feminino, contagem leucocitária e valor de DHL inicial ao diagnóstico; resposta inicial ao tratamento através do DRM coletado no D33 (décimo terceiro dia da indução); e estudo das translocações mais comumente observadas em LLA em crianças e adolescentes.

Na etapa inicial da pesquisa foi realizada a coleta de dados dos sujeitos da pesquisa através de revisão de prontuários do HOIOL (exames admissionais) e coleta de material biológico (sangue periférico e/ou sangue de medula) no momento que o paciente realizou coleta para estratificação diagnóstica e avaliação de remissão, conforme protocolo da instituição.

### 3.3 Coleta de Dados

Foi realizada coleta de informações dos pacientes, em prontuários médicos de modo sigiloso para avaliar as seguintes variáveis através do preenchimento da ficha sistemática (APÊNDICE A):

- Idade;
- Sexo;
- Avaliação do primeiro hemograma ao diagnóstico realizado no serviço com contagem inicial de leucócitos;
- Avaliação do primeiro DHL realizado no serviço;
- Classificação de subtipos de LLA conforme aspectos imunológicos
- Tipo de protocolo quimioterápico usado: protocolo BFM (Berlim Frankfurt Munique) ou GBTLI (Grupo brasileiro de tratamento de leucemia infantil);
- Estratificação de risco para tratamento, de acordo com o protocolo empregado baseado na idade, leucometria ao diagnóstico e aspectos imunológicos: alto risco, risco intermediário ou médio risco e baixo risco;
- Resposta inicial ao tratamento quimioterápico: mielograma e imunofenotipagem do D33; e
- Causa de óbito, quando presente.

### 3.4 Desenho Experimental

Foram coletadas amostras de sangue periférico e medula óssea de 56 pacientes com LLA, com a finalidade de avaliar os fatores prognósticos e realizar a identificação molecular, por RT-PCR, de fusões gênicas clássicas (BCR-ABL, TEL-AML1, SIL-TAL, MLL-AF4, E2A-PBX1) e assim classificá-los entre os subtipos de LLA existentes.

### 3.5 RT-PCR

Foi realizada punção venosa e coleta de sangue com seringa contendo anticoagulante (EDTA) em pacientes com hiperleucocitose (presença de mais de 50.000 leucócitos em sangue periférico) ou punção medular com armazenamento de sangue de medula óssea em tubo contendo EDTA, este sangue foi submetido a ação de Ficoll Histopaque® (Sigma-Aldrich, USA), conforme protocolo do fabricante, para separação de linfócitos. Posteriormente foi submetido ao processamento com

RNAeasy Mini Kit (Qiagen, USA), conforme protocolo padrão, para extração de RNA total e conversão para cDNA com o uso do High Capacity cDNA Reverse Transcription Kit (Applied Biosystems, USA), conforme protocolo descrito no kit.

Para a análise de fusões, o c-DNA obtido foi utilizado para amplificação de alvos moleculares através de reação em cadeia da polimerase com o kit GoTaq® Colorless Master Mix (Promega, USA), conforme instruções do protocolo, utilizando-se de *primers* desenhados para reação multiplex de RT-PCR para as fusões objetivadas nesta pesquisa, semelhantes ao descrito por Galehdari *et al.* (2009), porém com modificações a fim de, possivelmente, melhorar os ensaios. Após a reação, os amplificados foram confrontados com um marcador de peso molecular por eletroforese em gel de agarose (1,5%), corado com Sybr safe DNA Gel Stain (Life Technologies, EUA) e visualizados em Safe Imager™ 2.0 Blue Light Transilluminator (Invitrogen / Life Technologies, USA). Para controle de reação, todos os pacientes tiveram, concomitantemente, a realização de um RT-PCR de um controle endógeno.

### **3.6 Leucometria e DHL**

Os dados referentes a Leucometria e o DHL iniciais dos pacientes submetidos a pesquisa foram coletado dos exames admissionais institucional, realizados por todos os pacientes com LLA atendidos nos anos de 2015 e 2016 e que estão sendo tratados no HOIOL, conforme protocolo da institucional; e foram transcritos para ficha sistemática desenvolvida com a finalidade de conter todas as informações necessárias para o desenvolvimento desta pesquisa.

### **3.7 Resposta terapêutica**

Foi avaliada a remissão dos pacientes em um ponto fundamentai de estratificação de pacientes em tratamento de LLA, conforme protocolo institucional:

- Avaliação da remissão no D33: neste momento é avaliada, a remissão completa através do mielograma e imunofenotipagem (doença residual mínima - DRM).

O paciente foi considerado em remissão quando mielograma normocelular com menos de 5% células imaturas e ausência de atividade imunológica em

imunofenotipagem de medula óssea ou refratário ao tratamento inicial se mielograma com mais de 5% de células imaturas e DRM positiva.

Para avaliação do desfecho foi considerada as variáveis resposta inicial ao tratamento (refratariedade), recidiva e óbito e quando o paciente apresentava pelo menos uma destas características era considerável como desfecho desfavorável, independente de sua fase de tratamento.

### **3.8 Análise estatística**

As informações provenientes da ficha sistemática foram armazenadas em um banco de dados onde as variáveis independentes foram ordenadas e suas frequências e distribuições foram analisadas.

Os resultados obtidos foram avaliados quanto a existência de associação dos mesmos com os dados clínico-patológicos dos casos de LLA, por teste qui-quadrado, através do programa estatístico SPSS v.17.0 (SPSS, Chicago, IL).

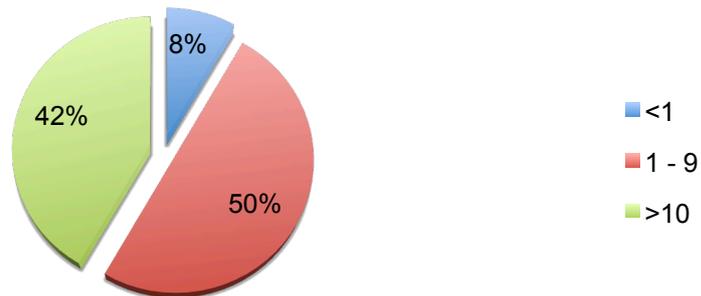
Para avaliação da significância estatística, testes quantitativos e qualitativos foram aplicados considerando o valor de  $p \leq 0,05$  e IC= 95%.

## 4 RESULTADOS

No serviço de oncologia pediátrica do HOIOL foram atendidos cerca de 98 pacientes com diagnóstico de LLA, no período de um ano, sendo que destes apenas 55 pacientes foram submetidos a pesquisa, devido a dificuldade de coleta de dados, pois eram provenientes de outra instituição.

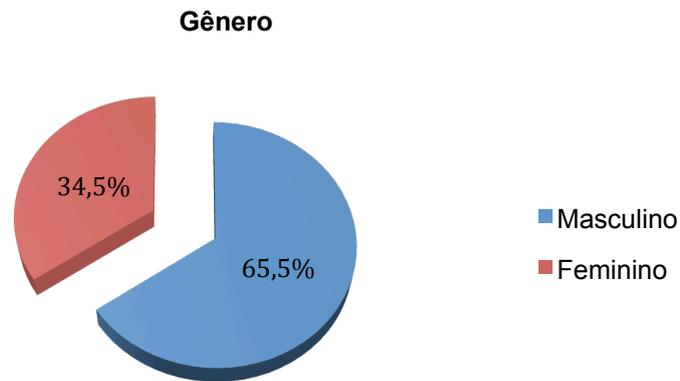
A idade média observada no estudo foi de 6 anos e 5 meses, com estratificação de grupo de risco para idade, conforme figura 5.

Faixa etária de paciente com LLA



**Figura 5** - Faixa Etária dos pacientes diagnosticados com leucemia linfoblástica aguda do HOIOL. **Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

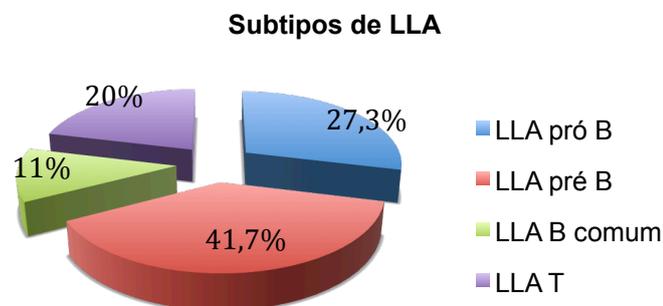
Foi observado o gênero masculino predominante em 65,5% dos casos em comparação como gênero feminino (34,5%) com proporção masculino/feminino de 1,9:1 (Figura 6). Os pacientes com idade superior a 10 anos foram mais refratários ao tratamento inicial em comparação com os demais pacientes ( $p=0,017$ ,  $OR= 1,25$  e  $IC= 0,97 - 1,61$ ).



**Figura 6** - Distribuição percentual por gênero das crianças portadoras de LLA do HOIOL.

**Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

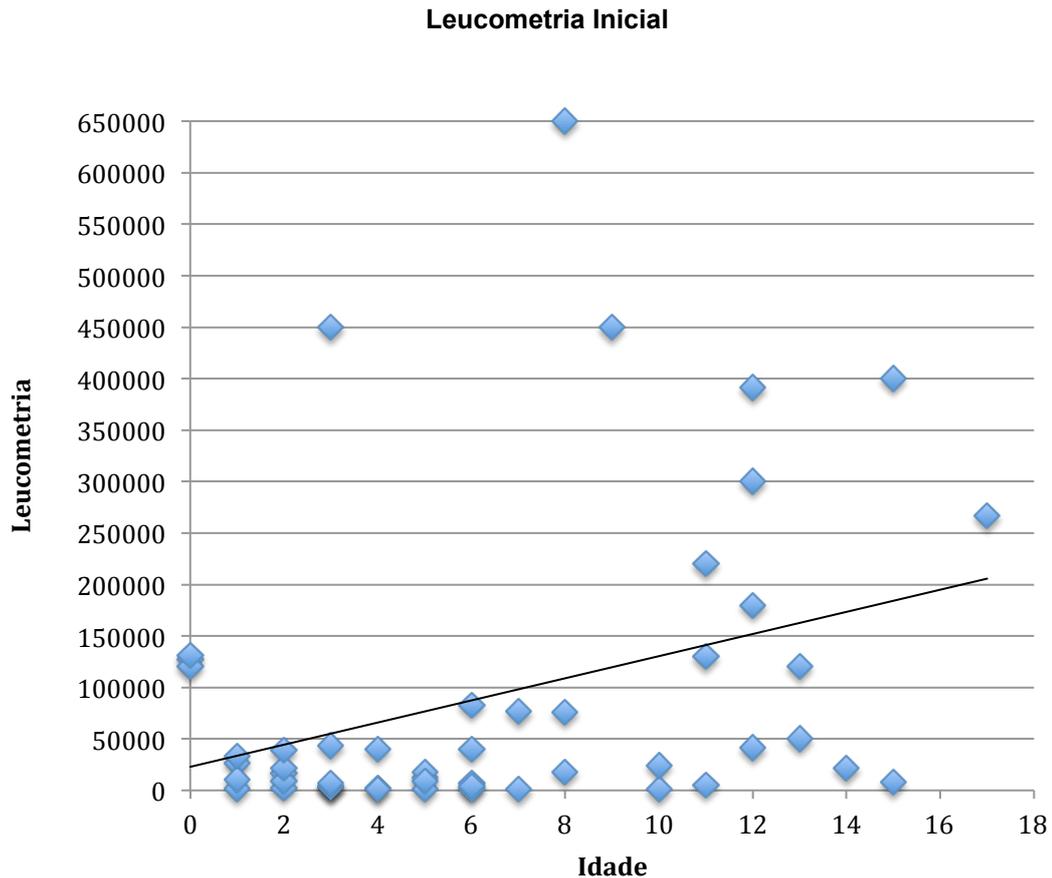
O subtipo de LLA mais encontrado foi o pré B correspondendo a 41,7%, seguida da LLA pró B com 27,3%, LLA B comum com 11% e LLA T com 20%. (Figura 7).



**Figura 7** - Distribuição percentual por subtipos de LLA das crianças portadoras de LLA do HOIOL.

**Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

A leucometria inicial foi avaliada em 51 dos pacientes estudados, conforme constava em prontuário de ambulatório, e a média encontrada foi de 92.235 leucócitos e 35,3% apresentavam leucometria maior 50.000. A maioria destes pacientes são pacientes classificados com alto risco para recaída ( $p=0,000$ ,  $OR=26,15$  e  $IC=3,09 - 221,01$ ) e apresentam outros fatores de mau prognóstico associados, como faixa etária de pior prognóstico ( $p=0,004$ ,  $OR=7$  e  $IC=1,93 - 25,85$ ) (Figura 7) e classificação de Egil de LLA T ( $p=0,001$ ,  $OR=15,5$  e  $IC=2,85 - 85,05$ ).



**Figura 8** – Relação entre leucometria inicial e idade ao diagnóstico.

**Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

Ao analisar o DHL inicial dos 55 pacientes desta pesquisa, foram registrados em prontuário de ambulatório apenas 22 e destes 21 possuíam valor acima do limite superior do laboratório de referência, variando de 380 a 14.195, sendo observado valores mais elevados principalmente nos pacientes com maior idade, porém não estatisticamente significativo.

A estratificação neste estudo demonstrou que 58,2% dos indivíduos foram considerados de alto risco (AR), 20% e 21,8% de médio e baixo risco (MR/BR) respectivamente (Tabela 2).

**Tabela 2** - Classificação de risco das crianças portadoras de LLA do HOIOL.

Risco	N	%
Alto risco	32	58,2
Médio risco	11	20
Baixo risco	12	21,8

**Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

Dos pacientes estudados, 49% apresentavam alguma das 5 fusões estudadas (*BCR-ABL*, *MLL-AF4*, *TEL-AML1*, *E2A-PBX1* e *SIL-TAL*), distribuídos conforme Tabela 2.

**Tabela 3** - Distribuição das fusões encontradas nas crianças portadoras de LLA do HOIOL.

Fusões	N	%
<i>E2A-PBX1</i>	12	21,8
<i>BCR-ABL</i>	6	11
<i>TEL-AML1</i>	4	7,2
<i>MLL-AF4</i>	2	3,6
<i>SIL-TAL</i>	3	5,4

**Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

Em relação as alterações citogenéticas, os pacientes com fusão *E2A-PBX1*, foram classificados como grupo alto risco (AR) independente da classificação molecular ( $p=0,055$ ,  $OR= 4,7$  e  $IC= ,93 - 24,4$ ) e nenhum paciente deste grupo apresentou recidiva ( $p=0,096$ ,  $OR = 0,73$  e  $IC= 0,61 - 0,87$ ).

Os pacientes com fusão *TEL-AML1* eram AR em sua maioria ( $p=0,026$ ,  $OR= 0,82$  e  $IC= 0,68 - 0,99$ ).

A fusão *MLL-AF4* apresentou uma razão de chance para óbito de 1,33, dentre os pacientes deste estudo, todos que apresentavam a fusão foram a óbito ( $p=0,019$  e  $IC= 0,89 - 1,98$ ). E neste grupo encontram-se os pacientes com pior desfecho independente da fase de tratamento ou outras características clínicas de prognóstico, ou seja, apresentaram refratariedade ao tratamento inicial e/ou recidiva e/ou óbito ( $p= 0,081$ ,  $OR 1,14$  e  $IC= 0,95 - 1,37$ ).

O grupo com fusão *BCR-ABL*, foi o grupo que apresentou maior recidiva ( $p=0,066$ ,  $OR= 6$  e  $IC= 0,61 - 0,87$ ).

Dentre as fusões encontradas a *SIL-TAL* foi observada em pacientes com LLA T que possuíam idade desfavorável ao diagnóstico, secundário ao grupo de

pacientes com idade maior que 10 anos ( $p=0,017$ ,  $OR=1,25$  e  $IC= 0,97 - 1,6$ ). Outra característica importante destes pacientes foi a leucometria inicial maior que 50.000 ( $p=0,039$ ,  $OR 1,2$  e  $IC= 0,97 - 1,47$ ).

Em relação a resposta inicial ao tratamento, avaliado no trigésimo terceiro dia de tratamento, apenas 5 pacientes apresentavam DRM positiva, ou seja, foram refratários a primeira fase de indução do tratamento (Figura 8). A presença de detecção de DRM durante a indução para avaliação da resposta inicial ao tratamento não foi significativamente associada ao gênero, contagem leucocitária ao diagnóstico, linhagem celular ou presença de fusões neste limitado número de pacientes.

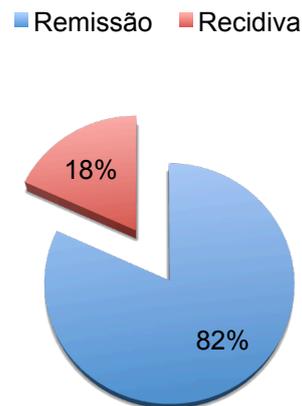


**Figura 9** - Distribuição percentual de resposta inicial ao tratamento das crianças portadoras de LLA do HOIOL.

**Fonte:** Protocolo de pesquisa (2016).

A porcentagem observada neste estudo de recidiva foi de 18%, correspondendo a 10 pacientes dos 55 pacientes avaliados (Figura 9) e destes apenas 4 possuíam fusões (3 BCR-ABL e 1 MLL-AF4), do total de pacientes que recidivaram, apenas 2 foram a óbito e um possuía fusão MLL-AF4.

### Recidiva de LLA



**Figura 10** - Distribuição percentual de recidivas das crianças portadoras de LLA do HOIOL.

**Fonte:** Protocolo de pesquisa, (2016).

Dentre os pacientes avaliados, apenas 14,5% foram a óbito e dentre as causas a mais comum está a progressão de doença, sendo que metade destes esta associado a abandono de tratamento (tabela 3).

**Tabela 4** – Causa de óbitos nas crianças portadoras de LLA do HOIOL.

<b>Obitos</b>	<b>N</b>	<b>%</b>
Progressão	7	87,5
Toxicidade	1	12,5

**Fonte:** Protocolo de pesquisa, (2016).

## 5 DISCUSSÃO

As leucemias são, mundialmente, as neoplasias malignas mais comuns na infância, correspondendo a aproximadamente 33% de todas as doenças malignas em menores de 14 anos. Incidem na população de 0 a 14 anos com uma frequência de 1/25.000 indivíduos/ano, e o risco de desenvolver a doença nos primeiros 10 anos é de 1/2.880 (PETRIDOU et al, 2002).

A idade média observada no estudo foi de 6 anos e 5 meses, corroborando com os achados de Gil (2011) e de Fadoo (2015), porém um pouco mais elevada em relação a maioria dos estudos (WANDERLEY, 2014; LEITE, 2007; INCA, 2009 e PIZZO, 2011). A idade é considerada como fator de importância prognóstica independente em crianças com LLA (PUI, 2008), sendo a idade ao diagnóstico inferior a 1 ano e superior ou igual a 10 anos tem sido considerado fator prognóstico clínico adverso (INABA, 2013), o que justifica neste estudo os pacientes com idade igual ou superior a 10 anos possuírem chance de 25% de refratariedade ao tratamento (OR=1,25). No grupo de pacientes menores de 1 ano, não foi observado este risco provavelmente devido ao número limitado de pacientes.

No presente estudo, a razão sexo masculino/feminino foi de 1,9, em estudos semelhantes realizados no Brasil por LEITE (2007), foi de 1,7 e no Pará realizado por WANDERLEY (2014) foi de 2,2, porém nos resultados do protocolo GBTLI-93 esta relação foi de 1,0 (BRANDALISE et al, 1993) e em estudo realizado na Bahia apresentou uma razão de 1,4 (BARRETO, 2001). Os resultados de largas séries internacionais apresentam também um discreto predomínio desta doença no sexo masculino (LI et al, 2006; VARDIMAN et al, 2009 e PAOLUCCI , et al. 2001).

A variável sexo como fator de relevância prognóstica é controversa e alguns grupos internacionais de tratamento não consideram essa variável na estratificação dos grupos de risco (PAOLUCCI G, et al. 2001, SILVERMAN, et al. 2001 e SMITH et al. 1996). Neste estudo, em relação ao prognóstico o gênero foi inconclusivo para desfecho ( $p=0,059$ ), discordando com os achado de PUI e RELLING (2004) e WANDERLEY (2014), que associaram o sexo masculino a um pior prognóstico devido a este gênero estar ligado com a maior incidência de imunofenótipo T e index DNA desfavorável (hipodiploidia).

Na população estudada, o subtipo de leucemia linfóide mais encontrada foi a LLA pré B seguida de pró B e B comum, discordando das observações de PUI (2012) que refere que a LLA pró B é a mais frequente com 65% dos casos seguido de LLA pré B com 25%. A frequência do fenótipo T nos pacientes com LLA da infância variou entre 7,4% a 16,4%, em outros estudos nacionais (SOBOPE, 2000; SILVA, 2002). A presença deste fenótipo no presente estudo foi de 20%, o que é um provável reflexo do número de pacientes com idade superior a 10 anos.

Em geral, a maioria dos pacientes pediátricos possui LLA B. Este fenótipo abrange uma ampla gama de pacientes de menor risco com LLA infantil. Por outro lado, aqueles com imunofenótipo de células T compreendem aproximadamente 10% a 15% de LLA pediátrica e historicamente têm sido associados a uma taxa de cura mais baixa (STACY, 2015). Porém, neste estudo mesmo estando diante de uma população com fenótipo majoritário derivado de células B (80%), 52,8% da população estudada foram classificados no grupo de alto risco devido a leucocitose ao diagnóstico e idade desfavorável.

A leucometria inicial elevada foi bem significativa neste estudo e Stacy (2015) afirma que a leucometria inicial maior que 50.000/  $\mu$ L está diretamente associado com alto risco de recidiva, corroborando com os resultados encontrados. Os dados brasileiros sobre a leucometria inicial em crianças com LLA mostram que 26% dos pacientes incluídos no estudo GBTLI-93 (SOBOPE, 2000) e 36,1% dos pacientes da Bahia apresentavam leucometria maior que 50.000/mm<sup>3</sup> (BARRETO, 2001), assim como o resultado deste estudo. Deve ser enfatizada a importância da leucometria para a estimativa global da sobrevivência de crianças e adolescentes com LLA. Leite (2007) observou em seu estudo que a leucometria foi o único fator de impacto prognóstico encontrado através de análise multivariada.

As translocações comuns em crianças com B-ALL incluem t(12; 21) [*ETV6-RUNX1*], ocorrendo em 25% dos pacientes, t(1; 19) [*TCF3-PBX1*] em 3% e translocações envolvendo o gene MLL com vários genes de fusão parceiros em 5%, segundo BHOJWANI (2015), porém os achados deste estudo são totalmente discordantes a estes dados. Outra alteração citogenética associada com grupo de alto risco inclui a fusão *BCR-ABL* da t(9;22) que ocorre em 3 % dos pacientes com LLA segundo STACY (2015), sendo que neste estudo foi encontrado uma frequência de 11% , discordante também da literatura. Isto pode ser explicado pela

faixa etária mais elevada, pois adolescentes e adultos possuem maior prevalência de características biológicas de alto risco de LLA, como BCR-ABL e rearranjo MLL, sendo que este último não foi observado nos adolescentes deste estudo, além disso este grupo de pacientes analisados possui baixa incidência de alterações citogenéticas favoráveis como *ETV6-RUNX 1* (SCHAFER, 2011), o que justificaria também a baixa incidência desta translocação neste estudo.

Os pacientes com fusão *TCF3-PBX1* apresentaram classificação de alto risco, dado corroborado por Jeha (2009) e Van Dongen et al., (1999). Apesar desta translocação estar associada a ocorrência de recidiva em SNC (BHOJWANI D., 2005), neste estudo não foi observada esta característica.

As LLAs infantojuvenis com *ETV6-RUNX1* exibem o fenótipo B precursor e a maioria destes pacientes apresentam idade entre 1 e 10 anos e fatores associados a um prognóstico favorável, logo geralmente não são estratificados em grupos de alto risco (FROST et al., 2004), discordando dos dados encontrados neste trabalho.

Com relação a fusão *MLL-AF4*, apesar do número limitado de pacientes (2), apresentou risco para óbito de 1,33. Esta translocação apresenta um pior prognóstico (KOTANI, 2010), sua frequência e o impacto prognóstico difere conforme a idade, sendo que 80% das crianças menores de um ano possuem o rearranjo (BHOJWANI, et al., 2015). Segundo Andersson (2015), a sobrevida livre de eventos de pacientes de LLA com esta fusão nos últimos estudos chega a alcançar 85%, porém em lactentes permanece desfavorável, em cerca de 28-36%, o que pode justificar o encontrado neste estudo, tendo em vista que um dos dois pacientes que possui *MLL-AF4* era lactente.

Aricó (2010) observou alta taxa de recidivada em pacientes infantojuvenis com LLA e fusão BCR-ABL, nesta investigação isto não foi observado, porém o mesmo desfecho, poderia ocorrer com um provável aumento do número amostral.

A monitorização do DRM durante o primeiro mês de terapia fornece informação de resposta ao tratamento inicial e demonstra ser um importante e independente indicador de prognóstico no tratamento de crianças e adolescentes com câncer, pois permite a monitorização da evolução, as perspectivas da remissão clínica e risco de recidivas segundo PUI (2012). Em estudo realizado por Delbuono et al. (2008) não foi significativa a presença de DRM na indução, associada ao

gênero, idade, contagem leucocitária ao diagnóstico, linhagem celular ou presença de fusões, corroborando em parte com os achados deste estudo, exceto pela idade.

Na literatura mundial, a média de recidivas ocorrem em cerca de 20%, dos pacientes pediátricos com LLA, estando em concordância com a casuística do referente estudo, que aponta 18% de casos de recidiva (PUI, 2008).

A porcentagem de óbitos neste estudo quando comparado a de países desenvolvidos encontra-se elevada, pois Stary (2014) apresentou 5% de óbitos em pacientes tratados com protocolo BFM 2002 em 130 centros de diversos lugares do mundo; porém quando comparado a outro país em desenvolvimento, a taxa de óbito encontra-se diminuída, pois Jastaniah et al. (2015) apresentou 50% de óbito em pacientes tratados na Arábia Saudita, estando a causa de morte diretamente relacionada ao abandono de tratamento e toxicidade infecciosa na indução e em momentos de intensificação do tratamento respectivamente, assim como observado nesta pesquisa.

## 6 CONCLUSÃO

Anormalidades citogenéticas de células leucêmicas são conhecidos por serem importantes fatores prognósticos independentes na leucemia linfoblástica aguda infantil (LLA).

Neste estudo a frequência das fusões na população estudada foi elevada o que pode ter contribuído para um pior prognóstico e diminuição da resposta terapêutica, além disso pode ocasionar um aumento progressivo na taxa de recaída e óbitos futuramente.

Sabe-se que existem vários achados clínicos relacionados ao prognóstico desfavorável em pacientes de LLA. Porém, neste estudo foram observados principalmente a idade igual ou maior que 10 anos ao diagnóstico e hiperleucocitose inicial como fator prognóstico isolado para refratariedade ao tratamento inicial e recidiva respectivamente e ambos como fator de mau prognóstico para recidiva associado a hiperleucocitose inicial, LLA T e fusão SIL-TAL.

A população estudada possui pior prognóstico mesmo naqueles pacientes com características genéticas favoráveis como a fusão TEL-AML1.

A taxa de recidiva e óbito, não foram significativamente associada ao gênero, idade, contagem leucocitária ao diagnóstico, linhagem celular ou presença de fusões, exceto pela fusão MLL-AF4 em lactentes.

Cabe ressaltar que os resultados do tratamento em crianças com LLA podem ser o reflexo das condições de assistência à saúde, situação socioeconômica e fatores genéticos associados. É importante que novos estudos sejam realizados no intuito de avaliar o impacto dessas variáveis no resultado do tratamento, pois crianças de países em desenvolvimento, como o Brasil quando expostas às condições ideais de tratamento, apresentam resultados semelhantes àqueles de países desenvolvidos.

## REFERÊNCIAS

ADAMSON, P.C. Improving the outcome for children with cancer: Development of targeted new agentes. **CA Cancer J Clin.**, v.65, n.3, p.212-220, 2015.

ALL IC-BFM 2002. A Randomized Trial of the I-BFM-SG for the Management of Childhood non-B Acute Lymphoblastic Leukemia. Final Version of Therapy Protocol. p. 1-266, May 3, 2002.

ANDERSSON, K.A et al. The landscape of somatic mutations in Infant *MLL* rearranged acute lymphoblastic leukemias. **Nat Genet.** v.47, n.4, p.330–337, apr., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4553269/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

ARICÓ, M. et al. Outcome of treatment in children with Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia. **N. Engl. J. Med.**, v.342, p.998-1006, 2000. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM200004063421402#t=article>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

\_\_\_\_\_. et al. Clinical outcome of children with newly diagnosed Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia treated between 1995 and 2005. **J. Clin. Oncol.**, v.28, n.31, p.4755–4761, nov., 2010. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/full/10.1200/JCO.2010.30.1325>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

ARMSTRONG, A.S.; LOOK, A.T. Molecular genetics of acute lymphoblastic leukemia. *J. Clin. Oncol.*; v.23, n. 26, p.6306-6315, sep., 2005.

ASTER, J. C. Doenças de Leucócitos, Linfonodos, Baço e Timo. In: KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N. Robbins e Cotran: **Bases Patológicas das Doenças**. 8.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010. p. 6-708.

BARRETO LHS. **Estudo de sobrevida em crianças portadoras de leucemia linfoblástica aguda**. Dissertação (Mestrado). Salvador: Universidade Federal da Bahia, 2001.

BEGLEY,C.G.; GREEN, A.R. The SCL gene: from case report to critical hematopoietic regulator. **Blood**, v.93, n.9, 2760–2770, may, 1999. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/93/9/2760.long?sso-checked=true>>. Acesso em 02 ago. 2016.

BENE, M.C. et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). **Leukemia**, v. 9, n.10, p.1783-1786, oct., 1995.

BERTOLINO, Eric et al. A novel homeobox protein which recognizes a TGT core and functionally interferes with a retinoidresponsive motif. **The Journal of biological chemistry**, v. 270, p.31178–31188, dec., 1995.

BHOJWANI, Deepa; YANG, Jun J.; PUI, ching-hon. Biology of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Pediatr. Clin. North Am.**, v.62, n.1, p. 47–60, feb., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4250840/>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

BIZARRO, S. et al. Molecular characterization of a rare MLL-AF4 (MLL-AFF1) fusion rearrangement in infant leukemia. **Cancer Genet Cytogenet**, v.178, n.1, p.61-4, 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17889710>>. Acesso em: 02 jul. 2016.

BRANDALISE S, ODONE V, PEREIRA W, ANDREA M, ZANICHELLI M, ARENAGA V. Treatment results of three consecutive Brazilian cooperative childhood LLA protocols:GBTLI-80, GBTLI-82 AND GBTLI-85. LLA Brazilian Group. **Leukemia**. v.7, p. s142-5, aug., 1993.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer (INCA). **Diagnóstico precoce do câncer na criança e no adolescente. Instituto Nacional de Câncer, Instituto Ronald McDonald**. São Paulo: Coordenação de Educação do INCA, 2009. p. 01-117.

BRASIL. Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva. **Diagnóstico precoce do câncer na criança e no adolescente**. 2. ed. rev. ampl., 2. reimp. Rio de Janeiro: INCA, 2014. Disponível em: <[http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/livro\\_2a\\_reimpressao.pdf](http://www1.inca.gov.br/inca/Arquivos/livro_2a_reimpressao.pdf)>. Acesso em: 02 jul. 2016.

\_\_\_\_\_. **Estimativa 2012/2013**: incidência de câncer no Brasil, 2012. Disponível em: <[http://www.inca.gov.br/rbc/n\\_57/v04/pdf/13\\_resenha\\_estimativa2012\\_incidencia\\_de\\_cancer\\_no\\_brasil.pdf](http://www.inca.gov.br/rbc/n_57/v04/pdf/13_resenha_estimativa2012_incidencia_de_cancer_no_brasil.pdf)>. Acesso em: 03 ago. 2016.

\_\_\_\_\_. **Estimativa 2014/2015**: incidência de câncer no Brasil, 2014. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2013/apresentacao-estimativa-2014.pdf>>. Acesso em: 03 ago. 2016.

\_\_\_\_\_. **Estimativa 2016**: incidência de câncer no Brasil, 2016. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2016/estimativa-2016-v11.pdf>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

\_\_\_\_\_. Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica (SOBOPE). **Protocolo de Tratamento da Leucemia Linfoblástica Aguda na Infância-GBTLI-LLA-1999**. Campinas (SP), 2000.

BROWN, L. et al. Site specific recombination of the TAL1 gene is a common occurrence in human T-cell leukemia. **EMBO J**, v.9, n.10, p.3343–3351, out. 1990. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC552072/>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

BURMEISTER, Thomas et al. Clinical features and prognostic implications of TCF3-PBX1 and ETV6-RUNX1 in adult acute lymphoblastic leukemia. Frankfurt, Germany:

**Haematologica**, v.95, p. 241-246, fev., 2010. Disponível em: <<http://www.haematologica.org/content/95/2/241>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

CARROLL, A.J. et al. Pre-B cell leukemia associated with chromosome translocation 1;19. **Blood**, v.63, n.3, p.721-4, mar. 1984. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6607758>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

COOPER, Stacy L.; BROWN, Patrick A. Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. **Pediatr. Clin. North Am.** v.62, n.1, p.61–73, fev., 2015. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4366417/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

CRIST, W. et al. Philadelphia chromosome positive childhood acute lymphoblastic leukemia: clinical and cytogenetic characteristics and treatment outcome. A Pediatric **Oncology Group Study. Blood**, v.76, n.3, p. 489–494, 1990. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/76/3/489.long?sso-checked=true>>. Acesso em 03 jul. 2016.

DE BONT, J.M. et al. Significant difference in outcome for adolescents with acute lymphoblastic leukemia treated on pediatric vs adult protocols in the Netherlands. **Leukemia**, v.18, n.12, p.2032-2035, 2004.

DELBUONO, et al. Detecção de doença residual mínima em crianças com leukemia linfoblástica aguda por citometria de fluxo. **Rev. bras. Hematol. Hemoter.**, v.30, n.4, p.281-286, 2008. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842008000400010&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-84842008000400010&script=sci_abstract&lng=pt)>. Acesso em: 05 ago. 2016.

DUY, C. et al. BCL6 enables Ph+ acute lymphoblastic leukaemia cells to survive BCR-ABL1 kinase inhibition. **Nature**, v.473, n.7347, p.384–388, may, 2011. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3597744/>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

FADOO, Z. et al., Clinical Features and Induction Outcome of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia in a Lower/Middle Income Population: A Multi-Institutional Report From Pakistan. **Pediatr. Blood Cancer**, v. 62, n.10, p.1700–1708, oct., 2015. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pbc.25583/abstract?systemMessage=WO L+Usage+report+download+page+will+be+unavailable+on+Friday+27th+January+2017+at+23%3A00+GMT%2F+18%3A00+EST%2F+07%3A00+SGT+%28Saturday+28th+Jan+for+SGT%29++for+up+to+2+hours+due+to+essential+server+maintenance.+Apologies+for+the+inconvenience.>>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

FALCÃO, R.P et al. Leucemia Linfóide Aguda em adultos e crianças: características morfológicas e imunofenotípicas. **Ser. Monogr. Esc. Bras. Hemat.**, v.9, p. 25-35, 2002.

FARIAS, Mariela Granero; CASTRO, Simone Martis de. Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. **Bras. Patol. Med. Lab.**, v. 40, n. 2., p. 91-8, 2004. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442004000200008&script=sci\\_abstract&lng=pt](http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1676-24442004000200008&script=sci_abstract&lng=pt)>. Acesso em: 05 ago. 2016.

FERRANDO, A.A. et al. **Cancer Cell.**, v.1, n.1, p.75-87, feb., 2002. Disponível em: < Gene expression signatures define novel oncogenic pathways in T cell acute lymphoblastic leukemia>. Acesso em: 04 ago. 2016.

FRONKOVA, E. et al. Minimal residual disease (MRD) analysis in the non-MRD-based ALL IC-BFM 2002 protocol for childhood ALL: is it possible to avoid MRD testing? **Leukemia**, v.22, n.5, p.989-997, 2008. Disponível em: <<http://www.nature.com/leu/journal/v22/n5/full/leu200822a.html>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

FROST, B. M. et al. Translocation t(12;21) is related to in vitro cellular drug sensitivity to doxorubicin and etoposide in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v.104, n.8, oct., 2004. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/104/8/2452.long?ssoc-checked=true>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

GIL, ERICA AIRES. **Investigação das alterações citogenéticas em pacientes pediátricos com leucemia linfóide**. 2011. 97f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Centro de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Rio Grande do Norte.

GORCZYCA, W. **Cytogenetics, FISH and molecular testing in hematologic malignancies**. New York, USA: Informa Healthcare, 2008. 319 p.

HARRISON, C.J. et al. Three distinct subgroups of hypodiploidy in acute lymphoblastic leukaemia. **Br. J. Haematol.**, v.125, n.5, p.552-559, jun., 2004. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2141.2004.04948.x/abstract;jsessionid=BCCD92BEB3AE7852CE035522CFC8654F.f03t01?systemMessage=WOL+Usage+report+download+page+will+be+unavailable+on+Friday+27th+January+2017+at+23%3A00+GMT%2F+18%3A00+EST%2F+07%3A00+SGT+%28Saturday+28th+Jan+for+SGT%29++for+up+to+2+hours+due+to+essential+server+maintenance.+Apologies+for+the+inconvenience>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

HEEREMA, N.A. et al. Cytogenetic studies of infant acute lymphoblastic leukemia: poor prognosis of infants with t(4;11) – a report of the Children's Cancer Group. **Leukemia**, v. 13, p.679–686, 1999. Disponível em: <[http://www.nature.com/leu/journal/v13/n5/pdf/2401413a.pdf?origin=publication\\_detail](http://www.nature.com/leu/journal/v13/n5/pdf/2401413a.pdf?origin=publication_detail)>. Acesso em: 03 jul. 2016.

HIÇSÖNMEZ, G.; CAGLAR, K.; RENDA, N. Prognostic value of the determination of serum lactic dehydrogenase and its isoenzymes in children with acute lymphoblastic leukaemia. **Scand J. Haematol.**, v.34, n.3, p.256-60, mar., 1985.

HIEBERT, S.W et al. The t(12;21) translocation converts AML-1B from an activator to a repressor of transcription. **Mol. Cell Biol.** v.16,n.4, p.1349-55, apr., 1996 .

INABA, Hiroto; GREAVES, Mel; MULLIGHAN, Charles, G. Acute lymphoblastic leukaemia. **Lancet**, v. 381, N. 9881, jun, 2013. Disponível em: <[www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3816716/pdf/nihms517584.pdf](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3816716/pdf/nihms517584.pdf)>. Acesso em: 02 jul. 2016.

INCA. Estimativa 2016: incidência de câncer no Brasil / Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva – Rio de Janeiro: INCA, 2015.

ISNARD, P. et al. Altered lymphoid development in mice deficient for the *mAF4* proto-oncogene. **Blood**, v.96, p.705–710, 2000. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/96/2/705?sso-checked=true>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

JASTANIAH, W. et al. Identifying causes of variability in outcomes in children with acute lymphoblastic leukemia treated in a resource-rich developing country. **Pediatr. Blood Cancer.**;v.62, n.6, p.945-50, jun., 2015. Disponível em: <<http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pbc.25374/abstract>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

JEHA, S. et al. Increased Risk for CNS Relapse in Pre-B Cell Leukemia with the *t(1;19)/TCF3-PBX1*. **Leukemia**, v.23, n.8, p.1406–1409, 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2731684/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

KAMPS, M.P e tal. A new homeobox gene contributes the DNA binding domain of the *t(1;19)* translocation protein in pre-B ALL. **Cell**, v.60, n.4, 547-55, fev., 1990. Disponível em: <[http://www.cell.com/cell/abstract/0092-8674\(90\)90658-2?\\_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F0092867490906582%3Fshowall%3Dtrue](http://www.cell.com/cell/abstract/0092-8674(90)90658-2?_returnURL=http%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2F0092867490906582%3Fshowall%3Dtrue)>. Acesso em: 04 jul. 2016.

KERSEY, J.H.; WANG, D.; OBERTO, M. Resistance of *t(4;11)* (*MLL-AF4* fusion gene) leukemias to stress-induced cell death: possible mechanism for extensive extramedullary accumulation of cells and poor prognosis. **Leukemia**, v.12, 1561–1564, 1998. Disponível em: <[http://www.nature.com/leu/journal/v12/n10/pdf/2401148a.pdf?origin=publication\\_detail](http://www.nature.com/leu/journal/v12/n10/pdf/2401148a.pdf?origin=publication_detail)>. Acesso em: 03 jul. 2016.

KNOEPFLER, P.S, KAMPS M.P. The pentapeptide motif of HOX proteins is required for cooperative DNA binding with PBX1, physically contacts PBX1, and enhances DNA binding by PBX1. **Mol. Cell. Biol.**, v.15, n.10, p.5811–5819, 1995. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC230833/>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

KOTANI, A. et al. A novel mutation in the *miR-128b* gene reduces miRNA processing and leads to glucocorticoid resistance of *MLL-AF4* acute lymphocytic leukemia cells. **Cell Cycle**, v.9, n.6, p.1037–1042, mar., 2010. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3096720/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

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

LEITE, E.P. et al. Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com Leucemia Linfóide Aguda . **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant., Recife**, v.7, n.4, p.413-421, out./dez., 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1519-38292007000400009](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1519-38292007000400009)>.

Acesso em: 05 ago. 2016.

LI, C.R. et al. Improved outcome of acute lymphoblastic leukaemia treated by delayed intensification in Hong Kong children: HKALL 97 study. **Hong Kong Med. J.** v.12, n.1, p.33-39, 2006. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/16495587/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

LINABERY, A. M; ROSS, J. A. Childhood and adolescent cancer survival in the US by race and ethnicity- diagnostic period 1975-1999. **Cancer**, v.113, n.9, p.2575-96, Nov., 2008.

LU, Q; KAMPS, M.P. Heterodimerization of Hox proteins with Pbx1 and oncoprotein E2a-Pbx1 generates unique DNABinding specificities at nucleotides predicted to contact the N-terminal arm of the Hox homeodomain – demonstration of Hox-dependent targeting of E2a-Pbx1 in vivo. **Oncogene**, v.14, n.1, p.75–83, jan., 1997. Disponível em: < <http://www.nature.com/onc/journal/v14/n1/abs/1200799a.html>>. Acesso em: 04 jul. 2016.

MELLO JUNIOR, F.A.R. **Análise molecular de fusões gênicas associadas à leucemia linfóide aguda em pacientes pediátricos no estado do Pará**, 2014. 70 f. Dissertação (Mestrado em Genética e Biologia Molecular). Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Pará, Belém, 2014.

MÖRICKE, A. et al. Prognostic impact of age in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia: data from the trials ALL-BFM 86, 90, and 95. **Klin Padiatr.**, v.217, n.6, p.310-20, nov/dec., 2005.

MULLIGHAN, Charles G. New Strategies in Acute Lymphoblastic Leukemia: Translating Advances in Genomics into Clinical Practice. **Clin. Cancer Res.**, v.17, n.3, p.396-400, fev., 2013. Disponível em: < <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/17/3/396.long>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

NACHMAN, J.B. et al Augmented post-induction therapy for children with high-risk acute lymphoblastic leukemia and a slow response to initial therapy. **N. Engl. J. Med** v.338, p.1663- 1671, jun., 1998. Disponível em: < <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJM199806043382304#t=article>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6929>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/5087>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/4297>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/613>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/25>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/2120>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/861>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NATIONAL Center for Biotechnology Information (NCBI). Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/6491>>. Acesso em: 20 mar. 2016.

NGUYEN, K. et al. Factors influencing survival after relapse from acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group study. **Leukemia**, v.22, n.2, p.2142–50, dec., 2008. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2872117/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

PAOLUCCI, G et al. Treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. Long-term results of the AIEOP-ALL 87 study. **Haematology**, v.86, n.5, p.478-84, may, 2001. Disponível em: <<http://www.haematologica.org/content/86/5/478.long>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

PETRIDOU, E.; TRICHOPOULOS, D. Leukemias. In: ADAMI, H. O.; HUNTER, D.; TRICHOPOULOS, D. **Textbook of cancer epidemiology**. New York (NY): Oxford, 2002. p. 556–572.

PFAFFL, Michal W. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. **Nucleic Acids Res.**, v.29, n.9, e45, May, 2001. Disponível em: < <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC55695/>>. Acesso em 03 jul. 2016.

PRO SAÚDE ASSOCIAÇÃO BENEFICIENTE DE ASSISTÊNCIA SOCIAL E HOSPITALAR. **Perfl Epidemiológico do Hospital Oncológico Infantil Octávio Lobo. Relatório bienio 2015/2016**. Belém, 2017. 42p.

PUI, CH.; CAMPANA, D. New definition of remission in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, v.14, n.5, p.783-5, 2000.

\_\_\_\_\_; RELLING, M.V.; DOWNING, J.R. Acute lymphoblastic leukemia. **N Engl J Med** v. 350 p. 1535-1548, 2004.

\_\_\_\_\_. et al. Socioeconomic status and childhood Leukemia: A review. **Int. J. Epidemiol.**, v. 35, n.2, p.370–384, 2005.

PUI, C.H. et al. Serum lactic dehydrogenase level has prognostic value in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v.66, n.4, p.778-82, oct., 1985. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/66/4/778.long?sso-checked=true>>. Acesso em: 03 ago. 2016.

PUI, C.; EVANS, W.E. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. **N. Engl. J. Med.** v.354, n.2, p.166-78, jan., 2006. Disponível em: <<http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMra052603>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

\_\_\_\_\_. EVANS, W. E. Treatment of acute lymphoblastic leukemia. **N Engl J Med**, v. 354, n.2, p. 166-78, Jan., 2006.

\_\_\_\_\_. EVANS, W. A 50-Year Journey to Cure Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. **Seminars in Hematology**, v. 50, n.3, p.185-196, Jul., 2013.

PUI, CH. et al. Long-term results of St Jude Total Therapy Studies 11, 12, 13A, 13B, and 14 for childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, v.24, n.2, p.371–82, fev., 2009. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2820159/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

\_\_\_\_\_. ROBISON, L.L.; LOOK, A.T. Acute lymphoblastic leukaemia. **Lancet**. 2008; v. 371, n.9617, p.1030–43, Mar., 2008.

\_\_\_\_\_. Et al. Treatment Outcomes in Black and White Children With Cancer: Results From the SEER Database and St Jude Children’s Research Hospital, 1992 Through 2007. **J Clin Oncol**, v.30, n.16, p.2005-2012, jun., 2012. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3383176/>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

PIZZO, Philip A.; POPLACK, David G. **Principles and practice of pediatric oncology**. 6.ed. Philadelphia: LWW, 2011. p. 518-527.

POOLE, J. C; ANDREWS, L. G; TOLLEFSBOL, T. O. Activity, function, and gene regulation of the catalytic subunit of telomerase (*hTERT*). **Gene**, v.269, n.1-2, p.1-12, Mayo, 2001.

REIS, R.S., et al. Childhood leukemia incidence in Brazil according to different geographical regions. **Pediatric. Blood Cancer**, v. 56, p. 58-64, 2011.

RIZZATTI, E.G.; ZAGO, M.A. Aplicações da biologia molecular às leucemias agudas. **Ser. Monog Esc. Bras. Hemat.**, n. 9, p. 1-14, 2002.

ROZOVSKI, U. et al. Incidence of and risk factors for acute myeloid leukemia involvement of the central nervous system. **Leuk Lymphoma**, v.56, n.5, p.1392–1397, may, 2015.

SCHAFER, E.S; HUNGER, S.P. Optimal therapy for acute lymphoblastic leukemia in adolescents and young adults. **Nat. Rev. Clin. Oncol.** v.8, n.7, p.417–24, may, 2011. Disponível em: <<http://www.nature.com/nrclinonc/journal/v8/n7/full/nrclinonc.2011.77.html>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

SCHULTZ, K.R. et al. Risk and response-based classification of childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a combined analysis of prognostic markers from the Pediatric Oncology Group (POG) and Children’s Cancer Group (CCG).

**Blood**, v.109, n.3, p.926–935, fev., 2007. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1785141/>>. Acesso em: 04 jul. 2016.  
SILVA, M.L. et al. Cytogenetic analysis of 100 consecutives newly diagnosed cases of ALL in Rio de Janeiro Brazilian children. **Cancer Genet Cytogenet**, v.137, n.2, p.85-90, sep., 2002. Disponível em: <[http://www.cancerjournal.org/article/S0165-4608\(02\)00535-6/abstract](http://www.cancerjournal.org/article/S0165-4608(02)00535-6/abstract)>. Acesso em: 05 ago. 2016.

SILVERMAN, L.B. et al. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91- 01. **Blood**, v.97, n.5, p.1211-8, mar, 2001. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/97/5/1211.long>>. Acesso em: 05 ago. 2016.  
STAMS W.A. et al. Expression levels of TEL, AML1, and the fusion products TEL-AML1 and AML1-TEL versus drug sensitivity and clinical outcome in t(12;21)-positive pediatric acute lymphoblastic leukemia. **Clin. Cancer Res**. v.11, n.8, p.2974-80, apr., 2005.

STARY J. ET AL. Intensive Chemotherapy for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Results of the Randomized Intercontinental Trial ALL IC-BFM 2002. **Journal Of Clinical Oncology**, v.32, n.3., jan., 2014. Disponível em: <<http://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2013.48.6522>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

SZCZEPANSKI, T. Why and how to quantify minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia? **Leukemia**, v.21, n.4, p.622-626, 2007. Disponível em: <[https://www.researchgate.net/publication/6503245\\_Why\\_and\\_how\\_to\\_quantify\\_minimal\\_residual\\_disease\\_in\\_acute\\_lymphoblastic\\_leukemia\\_Leukemia](https://www.researchgate.net/publication/6503245_Why_and_how_to_quantify_minimal_residual_disease_in_acute_lymphoblastic_leukemia_Leukemia)>. Acesso em: 03 jul. 2016.

TAKEUCHI, S. et al. TEL is one of the targets for deletion on 12p in many cases of childhood Blineage acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, v.11, n.8, p.1220–3, aug., 1997. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9264373>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

UNITED STATES OF AMERICA. Center for Disease Control and Prevention. **United States Cancer Statistics: 1997-2007- Incidence and mortality web-based report**. Atlanta(GA), 2012. Disponível em: <<http://www.cdc.gov/uscs>>. Acesso em: 17 abr. 2016.

VAN DONGEN, J.J. et al. Standardized RT-PCR analysis of fusion gene transcripts from chromosome aberrations in acute leukemia for detection of minimal residual disease. Report of the BIOMED-1 Concerted Action: investigation of minimal residual disease in acute leukemia. **Leukemia**, v.13, n.12, p.1901-28, dec., 1999. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10602411>>. Acesso em: 05 jul. 2016.

VARDIMAN, J.W. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. **Blood** 114: 937-951, 2009. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/114/5/937.long?sso-checked=true>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

VARDIMAN, J.W. et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. **Blood**, v.114, n.5, p.937-951, jul., 2009. Disponível em: <<http://www.bloodjournal.org/content/114/5/937.long?sso-checked=true>>. Acesso em: 05 ago. 2016.

WANDERLEY, A. V. **Identificação de marcadores farmacogenéticos e ancestralidade genômica de pacientes pediátricos portadores de leucemia linfoblástica aguda em uma população da Amazônia**. 2014. 72 f. (Dissertação de Mestrado em Oncologia) -Núcleo de Pesquisa em Oncologia. Universidade Federal do Pará, Belém.

ZERBINI, Maria Claudia Nogueira et al. Classificação da Organização Mundial da Saúde para os tumores dos tecidos hematopoético e linfóide, 4ª. edição, 2008 - principais modificações introduzidas em relação à 3ª. edição, 2001. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.57, n.1, p.66-73, 2011. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/ramb/v57n1/v57n1a19.pdf>>. Acesso em: 03 jul. 2016.

ZHENG, YL. et al. Telomerase enzymatic component *hTERT* shortens long telomeres in human cells. **Cell Cycle**, v.13, n.11, p.1765-76, apr., 2014.

## APÊNDICE A – PROTOCOLO DE COLETA DE DADOS

FICHA SISTEMÁTICA PARA COLETA DE DADOS DO PRONTUÁRIO

FICHA Nº : \_\_\_\_\_

NÚMERO DE REGISTRO HOSPITALAR: \_\_\_\_\_

1. Idade: \_\_\_\_\_

2. Sexo: M ( ) F ( )

3. Raça/cor: Branco (..) Negro ( ) Indígena ( ) Parda (..)  
Amarelo (..) Não informado (..)

4. Procedência: \_\_\_\_\_

5. Naturalidade: \_\_\_\_\_

6. História prévia de quimioterapia S (..) N(..)

7. Leucometria inicial: \_\_\_\_\_

8. DHL: \_\_\_\_\_

9. Classificação LLA : Morfologia (..) Imunofenotipagem (..)  
Ambas (..)

10. Esquema de Quimioterapia utilizado BFM 95/2002 ( ) GBTLI 99 (..)

11. Risco de Estratificação BFM Alto ( ) Intermediário ( ) Baixo (..).....  
GBTLI Alto (..) Baixo(..)

12. Resposta ao tratamento inicial (D33): DRM (...) positivo (...) negativo

13. Status atual: Remissão (..) Recidiva (..) Refratariedade (..) Abandono (..)  
Óbito (...)

13. Fase de Recidiva : ..... Sem Recidiva ( )

14. Óbito Presente ( ) Ausente ( )

15. Causa de Óbito: Toxicidade ( ) Progressão de Doença ( ) Outros ( )

## ANEXO A

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARÁ - ICS/



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** IDENTIFICAÇÃO GENÉTICA E ANCESTRALIDADE GÊNOMICA DE PACIENTES PEDIÁTRICOS PORTADORES DE LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA EM UMA REGIÃO DA AMAZÔNIA

**Pesquisador:** alayde vieira wanderley

**Área Temática:** Área 1. Genética Humana.

**Versão:** 1

**CAAE:** 00905812.1.0000.0018

**Instituição Proponente:** Instituto de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Pará - ICS/ UFPA

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 119.649

**Data da Relatoria:** 10/10/2012

#### Apresentação do Projeto:

A pesquisa Identificação genética e ancestralidade genômica de pacientes pediátricos portadores de Leucemia linfóide aguda LLA é um estudo observacional, descritivo, transversal, realizado no Hospital Hophir Loyola em pacientes cadastrado no setor de oncologia infantil no período de 2006 a 2013.

#### Objetivo da Pesquisa:

Verificar se há diferenças no perfil genético das células leucêmicas dos pacientes pediátricos portadores de LLA provenientes da região amazônica em relação ao subestruturamento populacional

#### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos da pesquisa não causarão prejuízos aos sujeitos visto que serão utilizados os protuários em uma primeira etapa para coleta de informações e em uma segunda etapa a coleta de material será em lâminas de mielograma do paciente armazenados no HOL para análise de DNA e ancestralidade.

#### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O projeto encontra-se em adequação

#### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

A pesquisa encontra-se em adequação às exigências legais com apresentação de todos os

**Endereço:** Rua Augusto Corrêa nº 01-Sí do ICS 13 - 2º and.  
**Bairro:** Campus Universitário do Guamá **CEP:** 66.075-110  
**UF:** PA **Município:** BELEM  
**Telefone:** (91)3201-7735 **Fax:** (91)3201-8028 **E-mail:** cepccs@ufpa.br

INSTITUTO DE CIÊNCIAS DA  
SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO PARÁ - ICS/



documentos requeridos

**Recomendações:**

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Aprovado sem pendências

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

BELEM, 10 de Outubro de 2012

---

**Assinador por:**

**Wallace Raimundo Araujo dos Santos**  
(Coordenador)

**Endereço:** Rua Augusto Corrêa nº 01-Sí do ICS 13 - 2º and.  
**Bairro:** Campus Universitário do Guamá **CEP:** 66.075-110  
**UF:** PA **Município:** BELEM  
**Telefone:** (91)3201-7735 **Fax:** (91)3201-8028 **E-mail:** cepocs@ufpa.br