

Diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas

Primeira submissão em 18/11/02
Última submissão em 14/08/03
Aceito para publicação em 02/10/03
Publicado em 20/04/04

In vitro diagnosis of acute lymphoid leukemias

Mariela Granero Farias¹; Simone Martins de Castro²

unitermos	resumo
Leucemia linfóide aguda	A leucemia linfóide aguda (LLA) é a forma mais comum de câncer na infância, compreendendo 70% dos casos; em adultos a incidência é de apenas 20%. A abordagem inicial do diagnóstico consiste no exame citomorfológico do sangue periférico e da medula óssea. O estudo imunofenotípico eleva para 99% o percentual de casos corretamente classificados, permitindo identificar a linhagem celular (T ou B) e os diferentes estágios de maturação da célula. Aproximadamente 20% dos casos são de origem de célula T; 75%, precursores de célula B; e 5%, de célula B madura. As técnicas citogenéticas têm contribuído de maneira fundamental para a compreensão da biologia molecular e do tratamento da LLA. As anormalidades cromossômicas, quando associadas ao painel de imunofenotipagem, constituem o parâmetro mais importante para a classificação das leucemias, e, juntamente com outros fatores clínicos e laboratoriais, possibilitam a estratificação dos pacientes em diferentes grupos de risco, tendo importância fundamental para determinar o prognóstico e estabelecer o tratamento adequado. O objetivo deste trabalho é fazer uma revisão bibliográfica dos métodos laboratoriais através dos critérios morfológicos, citoquímicos, imunológicos, citogenéticos e de genética molecular, que são úteis para a classificação e o diagnóstico das leucemias linfóides agudas.
Cromossomo	
Translocação	
Imunofenotipagem	
Prognóstico	
Diagnóstico	

abstract

Acute lymphoid leukemia (ALL) is the commonest type of cancer in childhood, representing 70% of cases. In adults its incidence is 20% only. The initial diagnosis approach consists of a peripheral blood and bone marrow cytomorphological examination. The rate of correctly classified cases is increased up to 99% through immunophenotypic study, which allows to identify the cell line (T or B) and the different stages of cell maturation. Nearly 20% derive from T cells, 75% from B-cell precursors and 5% from mature B-cells. The cytogenetic techniques have markedly contributed to the better understanding of molecular biology and ALL treatment. Chromosomal abnormalities, associated with the immunophenotyping panel, are the most important parameter for leukemia classification. Together with clinical and in vitro factors, this parameter allows the patients stratification in different risk groups, which is of great importance for establishing a prognosis and a suitable treatment. The aim of this study was to perform a bibliographic review of the laboratory methods by morphological, cytochemical, immune, cytogenetic and molecular genetic patterns, which are useful tools for acute lymphoid leukemia classification and diagnosis.

key words

Acute lymphoid leukemia
Chromosome
Translocation
Immunophenotyping
Prognosis
Diagnosis

1. Farmacêutica-bioquímica com especialização em Análises Clínicas pela Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul (PUCRS).

2. Farmacêutica-bioquímica; professora-mestra da disciplina de Análises Hematológicas da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

Introdução

A leucemia linfóide aguda (LLA) é uma doença maligna derivada das células linfóides indiferenciadas (linfoblastos) que estão presentes em grande número na medula óssea, no timo e nos gânglios linfáticos^(36,57). Acumula-se grande quantidade de linfoblastos em diferentes etapas da maturação, pois os mesmos mantêm capacidade de multiplicação, mas não de diferenciação até formas maduras e normais^(36,57).

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

O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas baseiam-se, em grande parte, na análise morfológica e citoquímica das células neoplásicas. A falta de reprodutibilidade desses critérios e a dificuldade para classificar alguns pacientes têm levado à busca de outros parâmetros. Assim, na atualidade, o diagnóstico e a classificação das leucemias agudas apóiam-se, em grande parte, nos estudos imunofenotípicos por citometria de fluxo, permitindo avançar na identificação de determinados subgrupos dificilmente classificáveis do ponto de vista morfológico⁽⁴²⁾. Nos últimos anos, houve também muitos avanços no campo da biologia molecular, ajudando a compreender melhor a doença e definindo com mais rigor os grupos de risco.

O diagnóstico e a classificação das leucemias agudas são um argumento de contínua evolução, visto que permitem a

identificação do tipo celular envolvido na leucemogênese, o que é essencial, pois orienta a terapêutica e determina, até certo ponto, o prognóstico⁽¹⁰⁾.

Diagnóstico laboratorial

Hemograma

O hemograma pode revelar anemias normocítica e normocrômica e trombocitopenia^(25,31,46). A contagem de leucócitos está ocasionalmente muito alta, mas freqüentemente normal ou diminuída^(25,46). Os blastos são raros ou ausentes em pacientes leucopênicos, mas em casos de leucocitose podem ser numerosos, chegando a constituir maioria⁽⁴⁶⁾.

Mielograma

O diagnóstico da LLA fundamenta-se na demonstração de mais de 25% de linfoblastos na medula óssea^(17,34,40). A medula encontra-se hiper celular com substituição dos espaços adiposos e elementos medulares normais por células leucêmicas, com precursores mielóides e eritróides residuais de aspecto normal e megacariócitos diminuídos ou ausentes⁽³⁴⁾.

Morfologia

O grupo French American British (FAB) classificou as LLAs em três subtipos morfológicos – L1, L2 e L3 – com base no diâmetro celular, na forma do núcleo, no número e na protuberância dos nucléolos e na quantidade e no aspecto relativos do citoplasma, conforme mostram a **Tabela 1**^(17,23,31,34,36,40,46,52,57) e a **Figura**⁽⁴¹⁾.

Tabela 1 Classificação morfológica (FAB) da leucemia linfóide aguda

Aspecto morfológico	L1	L2	L3
Diâmetro celular	Predominância de células pequenas, homogêneas	Grandes, heterogêneas	Grandes, homogêneas
Cromatina nuclear	Fina ou aglomerada	Fina	Fina
Forma do núcleo	Regular, pode apresentar fenda ou indentação	Irregular, podendo apresentar fenda ou indentação	Regular, redondo ou oval
Núcléolos	Indistintos ou não-visíveis	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes	Um ou mais por célula, grandes, proeminentes
Quantidade de citoplasma	Escassa	Moderadamente abundante	Moderadamente abundante
Basofilia citoplasmática	Ligeira	Ligeira	Evidente
Vacúolos citoplasmáticos	Variáveis	Variáveis	Evidente

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

Fonte: Lee et al.⁽³⁴⁾.

Citoquímica

As reações citoquímicas podem auxiliar na diferenciação entre LLA e leucemia mielóide aguda (LMA). As reações mieloperoxidase e *sudan black* são úteis para estabelecer e confirmar o diagnóstico de LMA, uma vez que os linfoblastos são uniformemente negativos^(34, 57). Os linfoblastos T revelam atividade paranuclear na esterase inespecífica logo que realizada em pH ácido (6), tendo uma atividade maior de 75% na fosfatase ácida⁽⁵²⁾. Na periódica ácida de Schiff (PAS), os linfoblastos da LLA freqüentemente demonstram uma evidente coloração e forma de anéis concêntricos de

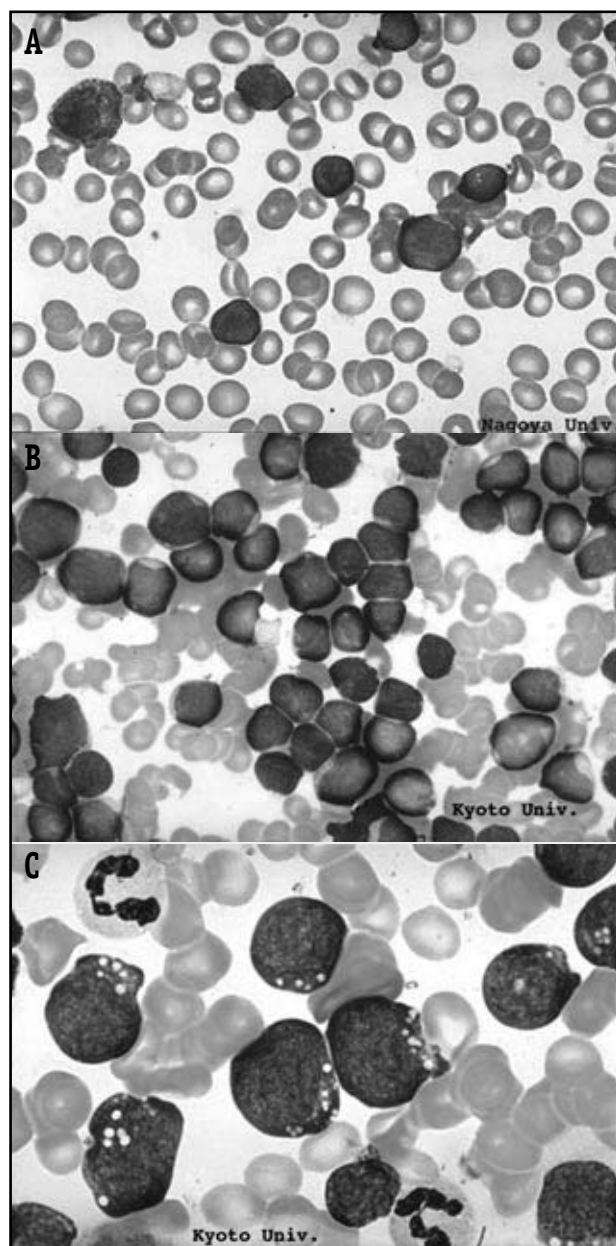


Figura – Distensão de medula óssea na leucemia linfóide aguda, coloração May-Giemsa, 1.000x: **A:** LLA L1: leucemia linfóide aguda tipo L1; **B:** LLA L2: leucemia linfóide aguda tipo L2; **C:** LLA L3: leucemia linfóide aguda tipo L3 (Fonte: Naoe T et al.⁽⁴¹⁾)

grânulos grosseiros ou blocos maciços. Uma reação PAS negativa é mais freqüente na LLA de linhagem T que na linhagem B^(34, 36). Os mieloblastos podem ser positivos ou negativos para o PAS; quando positivos, não apresentam o aspecto granular observado nos linfoblastos⁽³⁴⁾.

Imunofenotipagem

Diversos autores têm proposto uma classificação imunológica das LLAs de acordo com a expressão de antígenos específicos, podendo, inicialmente, essas leucemias ser classificadas de linhagem T ou B, de acordo com as características imunofenóticas dos linfoblastos (**Tabela 2**), sendo possível detectar com bastante precisão, além da linhagem celular, o nível de diferenciação em que se encontra o processo leucêmico⁽¹⁰⁾.

LLA de linhagem B

As leucemias de linhagem B foram divididas de acordo com os estágios de diferenciação normal dos progenitores B na medula óssea, classificando-se em: pró-B, comum, pré-B e B-maduro. A LLA do tipo pró-B representa 5% dos casos pediátricos e 10% dos casos de LLA em adultos^(17, 37). As células expressam: HLA-DR, Terminal Desoxinucleotidil Transferase (TdT), CD34, CD19 e CD22(c)⁽³¹⁾. A LLA do tipo comum (Calla) expressa CD10, o que causa um impacto favorável no prognóstico^(2, 15), CD22(c), CD19 e/ou CD20⁽³¹⁾. Representa 75% dos casos da LLA infantil e 50% dos casos em adultos. A leucemia pré-B expressa cadeia μ citoplasmática, em adição a CD19, CD20 e CD10⁽³¹⁾, representando, aproximadamente, 15% das crianças com LLA e 10% dos casos em adultos⁽¹⁷⁾. Finalmente, a LLA do tipo B maduro, presente em 2% a 5% de crianças e adultos, apresenta um fenótipo incomum, caracterizando-se pela expressão de cadeias leves de imunoglobulina na superfície de membrana (SmIg)⁽¹⁷⁾. Os blastos apresentam as mesmas características morfológicas (FAB L3) e translocações cromossômicas associadas à célula maligna do linfoma de Burkitt^(23, 28, 31, 34). Este tipo de leucemia apresenta prognóstico desfavorável, pois há elevada incidência de envolvimento no sistema nervoso central (SNC), resposta deficiente à terapia e sobrevida abreviada⁽³⁴⁾.

LLA de linhagem T

As LLAs de linhagem T dividem-se em três subgrupos, de acordo com os antígenos de diferenciação correspondentes aos níveis de diferenciação intratímica normal: LLA pré-T, T-intermediário e maduro. Na LLA pré-T, as células expressam CD3 no citoplasma, mas não na superfície celular, expressando caracteristicamente CD7, CD2, CD5 e TdT⁽³¹⁾.

Tabela 2 Perfil imunofenotípico das leucemias linfóides

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

TdT = Terminal desoxinucleotidil transferase; CD22(c) = CD22 intracitoplasmático; c μ = cadeia μ citoplasmática; SmIg = imunoglobulina de superfície; +: expressão do antígeno; +/-: expressão variável, freqüentemente positiva; -: ausência de expressão do antígeno; -/+: expressão variável, freqüentemente negativa. Adaptação de Souza et al.⁽⁶²⁾.

Na LLA do tipo T intermediário, as células passam a expressar fortemente CD3c, CD2, CD1a e podem co-expressar CD4 e CD8⁽³¹⁾. A LLA do terceiro grupo corresponde aos tímocitos medulares, expressando CD2, CD5, CD7, CD3, sendo duplamente positiva para CD4 e CD8^(8, 10, 31). O fenótipo T está presente em 25% dos adultos e 15% das crianças com LLA⁽²⁸⁾, e ocorre com grande freqüência em indivíduos do sexo masculino, estando associado a elevada leucometria por ocasião do diagnóstico, massa mediastínica e envolvimento no SNC^(3, 10, 28, 34, 54).

Anormalidades cromossômicas

A análise cromossômica das doenças hematológicas malignas é eficiente não só para um diagnóstico mais refinado, mas também para a compreensão dos mecanismos envolvidos na malignidade e para encontrar genes de importância biológica (Tabela 3). O estudo das alterações cromossômicas das células neoplásicas é de grande utilidade para diagnóstico, classificação, orientação terapêutica e prognóstico das leucemias. As anormalidades cariotípicas estão confinadas aos clones malignos, desaparecem durante a remissão hematológica e reaparecem com a recidiva, algumas vezes demonstrando evidência de novas alterações supostas ao clone anormal original⁽³⁴⁾.

Anormalidades numéricas

Hiperdiploidia – As células leucêmicas podem ser hiperdiploides, apresentando 47-50 cromossomos, ou hiperdiploides, com mais de 50 cromossomos e índice de DNA (ID) > 1,16^(4, 17, 18, 21, 22, 24, 34, 40, 43). A hiperdiploidia (ID > 1,6) é comum na LLA do tipo pró-B^(34, 40), sendo encontrada em cerca de 20% das crianças e, em 5% a 12% dos adultos^(28, 34).

Hipodiploidia – Apresenta número modal de 45 cromossomos ou menos e índice de DNA < 1,16^(18, 21, 24, 34). Números quase haploides (24 a 36 cromossomos) são uma variante relativamente rara observada tanto em crianças quanto em adultos com LLA associada a um pior prognóstico^(17, 34).

Anormalidades cromossômicas estruturais

Pseudodiploidia – Apresenta número de cromossomos normais, porém com alterações estruturais^(18, 22). Múltiplas linhagens celulares leucêmicas estão presentes em até 25% dos pacientes por ocasião do diagnóstico⁽¹⁰⁾. É um grupo caracterizado por alta contagem de leucócitos periféricos⁽¹⁸⁾.

Translocação t(9;22)(q34;q11)

Na t(9; 22), conhecida como cromossomo Philadelphia (Ph), a fusão gênica BCR-ABL^(7, 8) codifica uma

Tabela 3 Anormalidades cromossômicas estruturais não-randomizadas na LLA

Anormalidade cromossômica	Genes envolvidos	Proteína	Função	Imunofenótipo	FAB
t(9;22)(q34;q11)	BCR/ABL	p190, p210, p230	Atividade tirosinaquinase ciclina-dependente	LLA pré-B	L1/L2
t(4;11)(q21;q23)	AF4/MLL	Fusão de proteínas MLL com conservação da seqüência 5'-N-terminal incluindo AT-Hoox e DNA metiltransferase	Regulação da transcrição	LLA pré-B e expressão simultânea de marcadores mielóides	L1/L2
t(1;19)(q23;p13)	E2A/PBX1	Fusão de proteínas com preservação do domínio de ativação E2A	Fator de transcrição	LLA pré-B	L1/L2
t(12;21)(p12;q22)	TEL/AML1	Tirosinaquinase	Regulação da transcrição e fosforilação	LLA pré-B	L1/L2
t(8;14)(q24;q32)	MYC/IgH	Proteína HLH	Fator de transcrição	LLA B	L3
t(1;14)(p32;q11)	TCR/TAL1		Fator de transcrição	LLA T	
Del 9p(21-22)	p16 ^{INK4A} / p15 ^{INK4B}	p16 e p15	Inibidor quinase-dependente	LLA B ou T	L1/L2

Adaptação de Faderl et al.⁽¹⁸⁾.

proteína quimérica com atividade tirosinaquinase muito elevada, resultando em proliferação celular e leucemogênese^(4, 12, 13, 18, 21, 22, 25, 28, 35, 43, 46, 48, 50). O cromossomo Ph está presente em 30% dos pacientes adultos com LLA e em 3% a 5% dos casos pediátricos^(17, 18, 28, 46). Quase todos os casos de LLA Ph+ estão associados ao imunofenótipo de linfócitos pré-B^(7, 14, 18, 28, 33, 35, 40, 46).

Anormalidade do braço curto do cromossomo 9 – mutação 9p21-22

Os genes p15 (MTS2, CDKN2B, p15INK4B) e p16 (MTS1, CDKN2, p16INK4A) são supressores de tumor localizados na região 9p21. Estes genes apresentam alta frequência de deleções homocigotas, sendo assim inativados numa variedade de linhagens celulares de tumores humanos. Esses genes codificam proteínas inibidoras de ciclinaquinases-dependentes CDK4 e CDK6, tendo papel crucial no ciclo de progressão celular^(9, 11, 18, 29, 38, 41, 58). A mutação 9p21 está presente em 7% a 13% das crianças com LLA e é associada à linhagem T^(18,29).

Anormalidade envolvendo 11q23 – t(4;11)(q21;23)

A translocação 11q23 resulta em rearranjo MLL-AF4^(18, 27, 30, 33, 43, 56). O gene MLL foi identificado em leucemias de linhagem mista ou leucemias bifenotípicas^(18, 20, 40, 45, 48). O

evento da transformação envolve a *stem cell*, ou a célula progenitora pluripotente, com capacidade para se diferenciar tanto na linhagem linfóide quanto na mielóide. O fenótipo é CD10(-), precursor de células-B, ou pré-B com co-expressão de antígenos mielóides, principalmente o CD15^(17, 28, 37, 45). Essa translocação ocorre em 60% das LLAs em lactentes menores de 1 ano, 2% em crianças e 3% a 6% em adultos^(18, 28).

Anormalidade envolvendo 19p13 – t(1;19)(q23,p13)

A t(1;19)(q23;p13) causa a fusão dos genes E2A do cromossomo 19 com o PBX1 no cromossomo 1, levando à formação do gene híbrido E2A/PBX1, expressando uma proteína oncogênica^(4, 17, 18, 22, 28, 38, 43). O gene E2A codifica fatores de transcrição essenciais para a linfopoese normal e a regulação do desenvolvimento da célula B⁽¹⁸⁾. A translocação t(1;19) é vista em diferentes tipos de LLA de linhagem B, e está presente em 5% a 6% de todos os casos de LLA, representando cerca de 25%-30% das crianças com LLA de linfócito pré-B e menos de 5% dos casos de LLA em adultos^(5, 18, 50).

Anormalidades envolvendo o gene receptor de célula T (TCR)

Translocações envolvendo os cromossomos 1 e 14, como t(1;14)(p33;q11) e t(1;14)(p32;q11), ocorrem em aproximadamente 3% dos casos de LLA infantil de linhagem

T⁽⁵⁵⁾. Essa translocação resulta em desregulação da expressão normal do fator de transcrição TAL-1, o qual codifica uma proteína que contribui para a leucemogênese^(1, 55).

Translocação t(8;14)(q24;q32)

A banda 8q24 contém o protooncogene c-myc, o qual, na t(8;14), é translocado para o locus IgH no cromossomo 11q32, formando MYC-IGH, o que resulta em desregulação da expressão do gene MYC^(4, 17, 18, 25, 28, 43, 48, 50). A t(8;14) consiste no rearranjo cromossômico de neoplasias de célula-B madura, representando de 2% a 5% de todas as LLAs em crianças ou adultos, equivale à fase leucêmica do linfoma de Burkitt e apresenta morfologia típica L3^(18,28).

Anormalidade no braço curto do cromossomo 12 t(12;21)(p13;q22)

O rearranjo TEL-AML1 resultante da translocação entre o cromossomo 12 e o 21 confere, excepcionalmente, um bom prognóstico em crianças com LLA^(6, 38, 50). Está associado ao imunofenótipo precursor de células-B^(16, 21, 28, 33, 47, 53) e é a alteração genética mais freqüente em LLA pediátrica, ocorrendo em 20%-30% dessa faixa etária e em 3% dos adultos⁽⁶⁾.

Anormalidades no braço longo do cromossomo 6

O gene receptor de estrógeno (ER), localizado no 6q-25,1, apresenta atividade supressiva no crescimento ou metástase em muitas linhagens celulares diferentes. A LLA pediátrica apresenta baixa ou ausência da expressão do gene ER. A deleção 6q é associada à LLA de linhagem T⁽⁵¹⁾, ocorrendo em 4%-6% das crianças com LLA e sendo menos freqüente em adultos⁽¹⁸⁾.

Discussão

A finalidade primordial das classificações usadas até agora é separar as leucemias linfóides das mielóides, principalmente quando os blastos são muito indiferenciados⁽¹⁰⁾.

A classificação franco-americana-britânica (FAB) permite um diagnóstico rápido, mas cuidados devem ser tomados na sua interpretação, pois os linfoblastos L2 são facilmente confundidos com mieloblastos M0 e M1 indiferenciados da LMA. Outro problema é que aproximadamente 10% dos pacientes com LLA têm uma população morfológicamente heterogênea de blastos: alguns L1 e outros L2. O uso de um tipo celular predominante para a classificação não leva em consideração essa diversidade⁽³⁴⁾.

A identificação de propriedades citoquímicas das células blásticas tem sido uma informação complementar,

pois a detecção das enzimas mieloperoxidase e esterase inespecífica permanece um fator discriminativo importante entre LLA e LMA⁽³⁾. Esses corantes citoquímicos possibilitam a diferenciação entre os blastos M0 e os blastos L2⁽³³⁾.

A avaliação acurada da linhagem e do grau de diferenciação celular só será possível com estudos mais aprofundados. Dessa forma, quando os critérios morfológicos são suplementados por informações imunofenotípicas, a classificação das leucemias agudas aumenta cerca de 70% a 99%^(3, 46), sendo possíveis a diferenciação da LMA, a detecção de linhagem B ou T, a definição de subtipos linfóide e a diferenciação de leucemia aguda bifenotípica^(3, 52).

Sabe-se que a leucemia origina-se de uma célula progenitora hematopoiética com uma alteração genética específica, influenciando no crescimento celular e levando à transformação maligna, tornando de grande utilidade a classificação genética da LLA⁽⁵⁰⁾.

Durante muito tempo, utilizou-se a citogenética clássica para a identificação de anormalidades cromossômicas⁽²²⁾. Porém há casos em que os resultados obtidos não são confiáveis, seja porque as metafases não representam as células tumorais por estarem presentes em número insuficiente ou mesmo inexistentes para a análise⁽³²⁾, ou porque as alterações submicroscópicas não são identificadas por esse método^(6, 21, 22, 50). Devido a aperfeiçoamentos ocorridos nas técnicas citogenéticas e ao surgimento de técnicas como hibridação *in situ* por fluorescência (Fish), reação em cadeia de polimerase (PCR) e *southern blot* tornaram-se possíveis a localização precisa dos pontos de ruptura, distinguindo quebras que parecem idênticas mas na verdade envolvem diferentes genes e implicações terapêuticas, e a detecção de alterações submicroscópicas importantes na avaliação de risco^(33, 50).

Um exemplo de alteração submicroscópica é a fusão TEL/AML1 resultante da translocação t(12;21) não identificada pela citogenética clássica. Recentemente identificada, esta anormalidade na LLA de linhagem B em crianças é associada a excelente prognóstico, e sua identificação pode permitir uma estratificação, minimizando a intensidade do tratamento e a toxicidade nos pacientes de baixo risco^(33, 50).

Outra aplicação importante é a determinação da freqüência de rearranjos que inclui o cromossomo Ph nas leucemias BCR-ABL+, localizando vários pontos de quebra no gene BCR do cromossomo 22 e resultando na formação de proteínas quiméricas com peso molecular variável (p190, p210, p230) e diferentes funções. A variedade dos pontos de quebra no gene BCR e o fato de a p190BCR-ABL ser associada à LLA, enquanto a p210 BCR-ABL o é

à LMC, permitem uma distinção entre a LLA em recidiva (m-bcr, p190BCR-ABL) e a LMC na fase blástica linfóide (M-bcr, p210BCR-ABL)^(4, 12, 13, 18, 22, 33, 35, 40, 43, 50).

Métodos moleculares são mais rápidos, sensíveis e específicos que a cariotipagem na detecção de anormalidades genéticas. Rápidos, pois obtém-se o resultado dentro de poucas horas; sensíveis porque, através de técnicas como a PCR, é possível detectar uma célula leucêmica entre 10⁵ e 10⁶ células normais⁽²¹⁾; e específicos, pois está sendo pesquisado um determinado rearranjo, portanto só ele será identificado⁽⁴⁵⁾. Já as desvantagens resumem-se ao fato de não ser possível a identificação de outras alterações eventualmente presentes⁽⁴⁵⁾ ou de algumas translocações apresentarem sítios variáveis, como é o caso da 11q23, levando a resultados falsos positivos⁽²²⁾. Assim, o desenvolvimento dessas técnicas tem permitido muitos avanços, os quais têm levado à descoberta

de novos genes e anormalidades. Esses genes implicados na leucemogênese incluem oncogênese, genes supressores de tumor, genes que atuam como fatores reguladores da transcrição, genes que são envolvidos na regulação da apoptose e diferenciação celular. O estudo desses genes aumenta o entendimento na trajetória crucial da transformação leucêmica⁽¹⁸⁾, contribuindo, assim, para a melhoria do diagnóstico e do entendimento na biologia molecular da LLA⁽⁴⁵⁾.

Embora a LLA deva sempre ser considerada uma doença grave, a identificação de vários fatores prognósticos permite a estratificação dos pacientes em grupos de risco, o que possibilita uma abordagem terapêutica diferenciada. Os grupos de maior risco são tratados com terapias mais intensas, cada vez mais eficazes, enquanto os grupos de baixo risco apresentam melhor sobrevida, podendo ser poupados dos efeitos deletérios da terapêutica^(19, 44, 53).

Referências

1. APLAN, P. A. Acute lymphoblastic leukemia in the adult. Mechanisms of leukemogenesis: chromosomal translocations. *Hematology*, p. 77-82, 1999.
2. BENE, M. et al. CD10 in acute leukemias. *Haematologica*, v. 82, p. 205-10, 1997.
3. BENE, M. C. et al. Impact of immunophenotyping on management of acute leukemias. *Haematologica*, v. 11, n. 84, p. 1024-34, Nov. 1999.
4. BERGER, R. Cytogenetics in adult acute lymphoblastic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol*, v. 5, p. 68-86, Mar. 1998.
5. BIONDI, A.; MASER, G. Molecular pathogenesis of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, v. 83, p. 651-9, 1998.
6. BOLUFER, P. et al. Rapid quantitative detection of TEL-AML1 fusion transcripts in pediatric acute lymphoblastic leukemia by real-time reverse transcription polymerase chain reaction using fluorescently labeled probes. *Haematologica*, v. 87, p. 23-32, Jan. 1 2002.
7. BRUMPT, C. et al. The incidence of clonal T-cell receptor rearrangements in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia varies with age and genotype. *Blood*, v. 6, n. 96, p. 2254-61, Set. 15 2000.
8. CAREY, J. L.; HANSON, C. A. Flow cytometric analysis of leukemia and lymphoma. In: KEREN, D. et al. *Flow Cytometry and Clinical Diagnosis*, p. 197-243, 1994.
9. CARTER, T. L. et al. Hemizygous p16^{INK4A} deletion in pediatric acute lymphoblastic leukemia predicts independent risk of relapse. *Blood*, v. 2, n. 97, p. 572-4, Jan. 15 2001.
10. CAVALCANTI JR., G. B. et al. Importância da aplicação de anticorpos monoclonais no diagnóstico laboratorial das leucemias linfóides agudas. *Rev Bras Anal Clin*, v. 29, n. 3, p. 159-67, 1997.
11. CAYUELA, J. M. et al. Disruption of the multiple tumor suppressor gene MTS1/p16^{INK4A}/CDK2 by illegitimate V (D) J recombinase activity in T-cell acute lymphoblastic leukemias. *Blood*, v. 9, n. 90, p. 3720-26, Nov. 1 1997.
12. CIRINNÀ, M. et al. Bcl-2 Expression restores the leukemogenic potential of a BCR/ABL mutant defective in transformation. *Blood*, v. 12, n. 96, p. 3915-21, Dec. 1 2000.
13. CLINE, M. J. The Molecular basis of leukemia. *N Engl J Med*, v. 5, n. 330, p. 328-36, Feb. 3 1994.
14. COBALEDA, C. et al. A primitive hematopoietic cell is the target for the leukemic transformation in human Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 3, n. 95, p. 1007-13, Feb. 1 2000.
15. CONSOLINI, R. et al. Clinical relevance of CD10 expression in childhood ALL. *Haematologica*, n. 83, p. 967-73, 1998.
16. EGUCHI-ISHIMAE, M. et al. Breakage and fusion of the TEL (ETV6) gene in immature B lymphocytes induced by apoptogenic signals. *Blood*, v. 3, n. 97, p. 737-43, Feb. 1 2001.
17. FALCÃO, R. P. et al. Leucemia linfóide aguda em adultos e crianças: características morfológicas e imunofenotípicas. *Ser Monogr Esc Bras Hematol*, v. 9, p. 25-35, 2002.
18. FADERL, S. et al. Clinical significance of cytogenetic abnormalities in adult acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 111, n. 91, p. 3995-4019, Jun 1998.
19. FELIX, C. A. et al. Pediatric acute lymphoblastic leukemia: challenges and controversies in 2000. *Hematology*, p. 285-302, 2000.
20. FELIX, C. A.; LANGE, B. J. Leukemia in infants. *Oncologist*, v. 3, n. 4, p. 225-40, Jun 1999.
21. FRIEDMANN, A. M.; WEINSTEIN, H. J. The role of prognostic features in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Oncologist*, v. 4, n. 5, p. 321-8, Aug 2000.
22. HARBOT, J. Cytogenetics in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Rev Clin Exp Hematol*, v. 5, p. 25-43, Mar 1998.
23. HARMENING, D. M. *Clinical hematology and fundamentals of hemostasis*. 2. ed. Philadelphia: F.A. Davis Company, 1992.
24. HEEREMA, N. A. et al. Hypodiploidy with less than 45 chromosomes confers adverse risk in childhood acute lymphoblastic leukemia: a report from the Child's Cancer Group. *Blood*, v. 12, n. 94, p. 4036-45, Dec. 15 1999.

25. HEISTERKAMP, N. et al. Reduced oncogenicity of p 190 Bcr/Abl F-actin-binding domain mutants. *Blood*, v. 6, n. 96, p. 2226-32, Set 15 2000.
26. HOFFBRAND, A. V.; PETIT, J. E. *Essencial Hematology*. 3. ed. London: Blackwell Science, 1998.
27. HUNGER, S. P.; CLEARY, M. L. What significance should we attribute to the detection of MLL fusion transcripts? *Blood*, v. 3, n. 92, p. 709-11, Aug 1 1998.
28. JENNINGS, D. C.; FOON, K. A. Recent advances in flow cytometry: application to the diagnosis of hematologic malignancy. *Blood*, v. 158, n. 90, p. 2863-92, Oct 1997.
29. KEES, U. R. et al. Homozigous deletion of the p16/MTS1 gene in pediatric acute lymphoblastic leukemia is associated with unfavorable clinical outcome. *Blood*, v. 11, n. 89, p. 416-6, Jun 1 1997.
30. KÖNIG, M. et al. A highly specific end sensitive fluorescence *in situ* hybridization assay for the detection of t(4;11)(q21;q23) and concurrent submicroscopic deletions in acute leukaemias. *British Journal of Hematology*, n. 116, p. 758-64, 2002.
31. KOTILO, P. N. Flow citometric analysis in diagnostic hematology. In: RODAK, B. F. *Diagnostic Hematology*. Saunders Company, 1995.
32. LARRAMENDY, M. L. et al. DNA copy number changes in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Haematologica*, v. 83, p. 890-5, 1998.
33. LARSON, R. A. et al. Acute lymphoblastic leukemia in adults. *Hematology*, p. 44-62, 1999.
34. LEE, R. G. et al. *Wintrobe Hematologia Clínica*. 1. ed. São Paulo: Manole, 1998.
35. LI, S. et al. The P190, P210, and P230 forms of the BCR/ABL oncogene induce a similar chronic myeloide leukemia-like syndrome in mice but have different lymphoid leukemogenic activity. *J Exp Med*, v. 9, n. 189, p. 1399-412, May 3 1999.
36. LORENZI, T. *Manual de Hematologia*. Rio de Janeiro: MEDSI, 1999.
37. LUDWING, W. D. et al. Immunophenotypic and genotypic features, clinical characteristics, and treatment outcome of adult pro-B acute lymphoblastic leukemia: results of the German Multicenter Trials GMALL 03/87 and 04/89. *Blood*, v. 6, n. 92, p. 1898-909, Set 15 1998.
38. MALONEY, K. W. et al. Acquisition of p16^{INK4A} and p15^{INK4B} gene abnormalities between initial diagnosis and relapse in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 7, n. 93, p. 2380-5, Apr 1 1999.
39. MARIN, C. et al. Multiplex-polimerase chain reaction assay for the detection of prognostically significant translocations in acute lymphoblastic leukemia. *Hematologica*, v. 86, p. 1254-60, 2001.
40. MAUER, A. M. Acute Lymphocytic Leukemia. In: WILLIAM, W. J. *Hematology*. 5. ed. McGraw-Hill, Publishing Company 1995. p. 1004-101.
41. NAOE, T. et al. Nagoya University School of Medicine Department of Medicine The Branch Hospital Takuji Ichihashi. *Atlas of Hematology*, 1996. Disponível em <http://blood.med.nagoya-u.ac.jp/atlas/doc/>.
42. OKUDA, T. et al. Frequent deletion of p16^{INK4a}/MTS1 and p15^{INK4b}/MTS2 in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 9, n. 85, p. 2321-30, May 1 1995.
43. ÓRFÃO, A. *Imunofenotipaje de leucemias agudas por citometria de fluxo*. Servicio de Citometria, Universidad de Salamanca.
44. PUI, C. H. Childhood leukemias. *N Engl J Med*, v. 332, n. 24, p. 1618-30, Jun. 15 1995.
45. PUI CHING-HON; EVANS, W. E. Acute lymphoblastic leukemia. *N Engl J Med*, v. 9, n. 339, p. 605-15, Aug. 27 1998.
46. RIZZATTI, E. G.; ZAGO, M. A. Aplicações da biologia molecular às leucemias agudas. *Ser Monog Esc Bras Hemat*, n. 9, p. 1-14, 2002.
47. ANDRIOLO, A. *Diagnóstico laboratorial em pediatria*. São Paulo: Sarvier, 2000.
48. ROWLEY, J. D. The role of chromosome translocations in leukemogenesis. *Seminars in Hematology*, v. 4, n. 36, p. 59-72, Oct 7 1999.
49. ROWLEY, J. D. The critical role of chromosome translocations in human leukemias. *Annu Rev Genet*, v. 32, p. 495-519, 1998.
50. SAINATI, L. et al. Centralized cytogenetic analysis of pediatric acute leukemia: results of an italian collaborative experience. *Haematologica*, v. 82, p. 654-9, 1997.
51. SALLAN, S. E. et al. Acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, p. 103-13, 1999.
52. SCHNEIDER, N. R. et al. New recurring cytogenetic abnormalities and association of blast cell karyotypes with prognosis in childhood T-cell acute lymphoblastic leukemia: a pediatric oncology group report of 343 cases. *Blood*, v. 7, n. 96, p. 2543-9, Oct 1 2000.
53. SOUZA, J. M.; COELHO, C. J. Leucemias e Leucoses. In: XXV Congresso Brasileiro de Análises Clínicas, 1998, Porto Alegre.
54. STOCK, W. Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia: risk-adapted strategies. *Hematology*, p. 87-96, 1999.
55. TRIGG, M. E. et al. Early testicular biopsy in males with acute lymphoblastic leukemia: lack of impact on subsequent event-free survival. *J Pediatr Hematol Oncol*, v. 22, n. 1, p. 27-33, Jan/Feb 2000.
56. UCKUN, F. M. et al. Biology and treatment of childhood T-lineage acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, v. 3, n. 91, p. 735-46, Feb 1 1998.
57. UCKUN, F. M. et al. Clinical significance of MLL-AF4 fusion transcript expression in the absence of cytogenetically detectable t(4;11)(q21;q23) chromosomal translocation. *Blood*, v. 3, n. 92, p. 810-21, Aug 1 1998.
58. VERRASTRO, T. *Hematologia e hemoterapia: fundamentos de morfologia, fisiologia, patologia e clínica*. São Paulo: Atheneu, 1996.
59. WANG, J. C. et al. Hypermethylation of the p15^{INK4B} and p16^{INK4A} in agnogenic myeloid metaplasia (AMM) and AMM in leukaemic transformation. *British Journal of Hematology*, v. 116, p. 582-6, 2002.

Endereço para correspondência

Simone Martins de Castro
 Disciplina de Análises Hematológicas
 Faculdade de Farmácia - UFRGS
 Av. Ipiranga 2.752
 CEP 90610-000 - Porto Alegre-RS
 Tel.: (051) 3316-5257
 e-mail: mgranero@uol.com.br